

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Urologie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. L. Hertle

Evaluierung eines semi-quantitativen
immunchromatographischen Teststreifens für das
prostataspezifische Antigen im Vollblut

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des doctor medicinae

Der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Hetzel, Stefan
aus Greven
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. G. Knichwitz

Tag der mündlichen Prüfung: 09.05.2005

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung und Problemstellung	2
2.1	<i>Anatomie der Prostata</i>	5
2.2	<i>Histologische Veränderung der Prostata</i>	8
2.2.1	Benigne Prostatahyperplasie (BPH)	8
2.2.2	Prostatische intraepitheliale Neoplasie (PIN)	8
2.2.3	Prostatakarzinom (PCa)	8
2.3	<i>Prostata-spezifisches Antigen (PSA)</i>	10
2.3.1	Physiologische Funktion des PSA	15
2.3.2	Gesamt-PSA Bereich <4,0 ng/ml	18
2.3.3	Gesamt-PSA-Bereich 4-10 ng/ml	18
2.3.4	Gesamt-PSA-Bereich > 10 ng/ml	19
2.3.5	Freies PSA (fPSA)	19
2.4	<i>Stanzbiopsie der Prostata</i>	20
2.4.1.1	Digitale rektale Untersuchung (DRU)	20
2.4.1.2	PSA-Erhöhung	20
2.4.1.3	High-grade Pin in der Vorbiopsie	21
2.4.2	Biopsieprotokolle	21
2.4.3	Biopsien der Übergangszone (TZ)	23
3	Patientenkollektiv und Methoden	25
3.1	<i>Patientenkollektiv</i>	25
3.2	<i>PSA Testverfahren</i>	27
3.2.1	Semi-quantitativer Teststreifen (Medpro Ltd., Northampton, UK; Lot No. 14030), unter dem Namen "Uralen" im Vertrieb der Firma Hoyer-Madaus	27
3.2.2	Quantitativer naßchemischer PSA Test (Access Hybritech, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA; Lot No. 902671)	28
4	Ergebnisse	29
5	Diskussion	33
6	Schlußfolgerung	37
7	Abkürzungsverzeichnis	38
8	Lebenslauf	41
9	Danksagung	42
10	Literaturverzeichnis	45

1 Zusammenfassung

Fragestellung: Wie gut stimmen Serumkonzentrationen des prostataspezifischen Antigens, die mit einem immunchromatographischen Teststreifensystem gemessen werden, mit den auf konventionellem Wege naßchemisch gemessenen Konzentrationen überein und wie gelingt unerfahrenen Probanden die selbständige Blutentnahme, die Handhabung der Teststreifen und die Interpretation des Meßergebnisses?

Probanden und Methode: Mit Hilfe von 301 Männern (156 Probanden und 145 zugewiesene Patienten, mittleres Alter 57 Jahre und 64 Jahre) wurde die Leistungsfähigkeit und Bedienbarkeit der Teststreifen zur semiquantitativen Messung des prostataspezifischen Antigens untersucht. Die Ergebnisse wurden relativ zum Grenzwert von 4 ng/ml, bestimmt mit einem naßchemischen Verfahren (Access Hybritech, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) evaluiert. Für die zugewiesenen Patienten wurde die Blutentnahme und die Teststreifenuntersuchung durch Laborpersonal durchgeführt, die freiwilligen Probanden wurden gebeten die Untersuchung selbstständig an Hand der Bedienungsanleitung der Teststreifen durchzuführen. Die Ablesung jedes Teststreifens erfolgte sowohl durch den Probanden oder Patienten, als auch durch Laborpersonal.

Ergebnisse: 24% der Probanden benötigten Hilfe bei der Testdurchführung. Die Gesamtübereinstimmung zwischen Access PSA (Spannweite 0,1–29,7 ng/ml) und den Teststreifenergebnissen ($>$ oder $<$ 4 ng/ml) war 76% (bei Ablesung durch die Probanden/ Patienten) und 79% (bei Ablesung durch Laborpersonal). Innerhalb der verschiedenen PSA Konzentrationsbereiche 0,1–3 und 3,1–5 und 5,1–10 ng/ml lag die Übereinstimmung bei Ablesung durch die Probanden/Patienten bei 89%, 40% und 56%. Im PSA Konzentrationsbereich von 2,1–10 ng/ml, dem Bereich mit der größten Bedeutung für Prostatakarzinom-Screening-Untersuchungen, lag die Übereinstimmung mit 53%, bei einer Sensitivität von 50% und einer Spezifität von 67%, nur geringfügig über der Ratewahrscheinlichkeit. In der Gruppe der Probanden (PSA Konzentrationsbereich 0,1–11,3 ng/ml wurde eine Spezifität von 92% erreicht, allerdings wurde bei keiner der 8 Proben mit PSA $>$ 4 ng/ml ein positives Teststreifenergebnis erkannt und alle 12 positiven Teststreifenergebnisse traten in Proben auf, deren naßchemische PSA Konzentration $<$ 4 ng/ml betrug (Sensitivität 0%, positiver Vorhersagewert 0%).

Zusammenfassung: Die Testdurchführung und Interpretation ist nicht nur für Ungeübte schwierig. Der Anteil an falschen Teststreifenergebnissen ist enttäuschend hoch, selbst in Proben mit PSA Konzentrationen, die weit entfernt vom Grenzwert 4 ng/ml liegen. In seiner jetzigen Ausführung erfüllt der untersuchte Teststreifen die klinischen Anforderungen nicht. Sein Vertrieb in Deutschland wurde als Folge der Ergebnisse dieser Untersuchung unterbrochen.

Tag der mündlichen Prüfung: 09.05.2005

2 Einleitung und Problemstellung

Die Bestimmung des prostataspezifischen Antigens (PSA) ist zur Erkennung von Männern mit erhöhtem Risiko für das Vorliegen eines Prostatakarzinoms (PCa) weit verbreitet. Die auf Serum- oder Plasmabasis arbeitenden Immunoassays sind Zeit- und Materialaufwändig und erfordern teure Geräte. In den vergangenen Jahren wurden mehrfach Teststreifen für die vereinfachte semiquantitative Bestimmung von PSA, basierend auf einem immunochromatographischen Nachweis von PSA im Serum [30, 52, 62, 81, 85, 97, 98, 107] oder Vollblut [28, 31] untersucht.

Im Oktober 2001 wurde ein solcher semiquantitativer chromatographischer Teststreifen für die PSA Bestimmung im Vollblut (Medpro Ltd., Northampton, UK; vertrieben durch Hoyer-Madaus GmbH & Co. KG, Monheim, Germany) in allen deutschen Apotheken kommerziell angeboten und als "Screening"-Methode für das PCa in Postwurfsendungen, Berichterstattungen in Tageszeitungen und in Gesundheitsmagazinen verschiedener Fernsehanstalten beworben. Die weite Verbreitung dieses Teststreifens war der Anlaß für die hier vorliegende Arbeit, die Merkmale des Teststreifens eingehender zu untersuchen.

Das Prostatakarzinom (PCa) ist derzeit in vielen Ländern der am häufigsten diagnostizierte maligne Tumor beim Mann und die zweithäufigste Krebstodesursache nach dem Bronchialkarzinom. Für die Bundesrepublik Deutschland existieren keine epidemiologisch gesicherten Daten für das PCa, obwohl seit dem Jahr 1974 die Vorsorgeuntersuchung der gesetzlichen Krankenkassen, die die Palpation der Prostata einschließt, mit großem finanziellen Aufwand gefördert wird. Aktuelle epidemiologische Daten liegen nur aus einzelnen Regionen vor. Im Jahre 2001 war das PCa nach Angaben des Tumorregisters München hinter dem Lungenkarzinom die zweithäufigste malignombedingte Todesursache bei Männern. Das mittlere Lebensalter betrug bei Diagnosestellung des PCa 68 Jahre.

Naßchemische Untersuchungsmethoden für das prostataspezifische Antigen (PSA) kamen Mitte der 80iger Jahre in die klinische Anwendung [59] und sind seit Mitte der 90iger Jahre Routinebestandteil in der Diagnostik des PCa, nachdem gezeigt werden konnte, dass PSA einen höheren positiven Vorhersagewert für

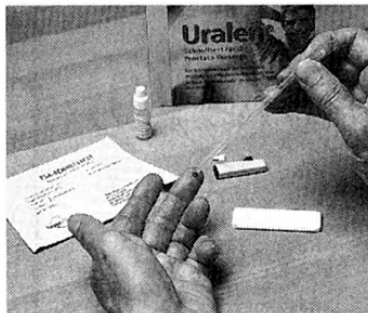
das Vorliegen eines PCa hat, als die rektale Tastuntersuchung [43]. Im Jahr 1995 wurden in Deutschland bereits mehrere Millionen Mark für die naßchemische Bestimmung des PSA ausgegeben und es konkurrierten über 50 verschiedene Meßsysteme auf dem Markt [137]. Bis heute ist PSA nicht Bestandteil der gesetzlichen Vorsorgeuntersuchung. Seit der ersten Beschreibung eines „Schnelltests“ für PSA im Jahr 1994 [52] gab es mehrere Versuche verschiedener Hersteller und Vertreiber solche „Schnelltests“ für Ärzte, Apotheker oder Laien zu vermarkten. Die in Deutschland bisher größte Werbekampagne für den Verkauf von PSA-Teststreifen (siehe Abb. 1, 2) war Anlaß für die vorliegende Arbeit, die diagnostische Leistungsfähigkeit dieses Teststreifens zu untersuchen.

„Aktion Vorsorge-Check für Männer“ ab Oktober 2001 in Ihrer Apotheke

Prostata-Check: Ab 40 einmal im Jahr

Viele Männer bekommen mit zunehmendem Alter Probleme mit der Prostata, die unangenehm, aber meist harmlos sind. Doch manchmal sind sie auch Anzeichen für eine ernsthafte Prostataerkrankung, die vom Arzt behandelt werden sollte. Deshalb ist für alle Männer ab 40 Jahren eine regelmäßige Vorsorgeuntersuchung wichtig.

Ab Oktober 2001 findet bundesweit in allen Apotheken die „Aktion Vorsorge-Check für Männer“ statt. Dazu gibt es den neuen



Ein Piks in den Finger, und schon wissen Sie, ob Ihre Prostata gesund ist.

und zeigt auf dem Teststreifen an, ob ein „kritischer“ PSA-Wert überschritten wird.

In einer Apotheke in Ihrer Nähe

Den PSA-Schnelltest Uralen® können Sie ab Oktober in jeder Apotheke in Ihrer Nähe kaufen. Ihr Apotheker hilft Ihnen bei der Durchführung und berät Sie bei der Auswertung. Er wird Sie auch darüber informieren, ob eine weitere Untersuchung beim Urologen notwendig ist.

Kostenlose Informationen

Weitere Informationen enthält

Abbildung 1

Im Herbst des Jahres 2001 wurde in Zeitschriften und mit kostenlosen Postwurfsendungen für den Teststreifen „Uralen“ in Deutschland geworben.

Neuer PSA-SCHNELLTEST von Hoyer-Madaus

**Ein kleiner Piks.
Ein großer Schritt.**

Das qualitative PSA-Screening.
Schnell und problemlos.



Abbildung 2

Werbemittel für den Teststreifen „Uralen“ in deutschen Apotheken im Herbst 2001.

2.1 Anatomie der Prostata

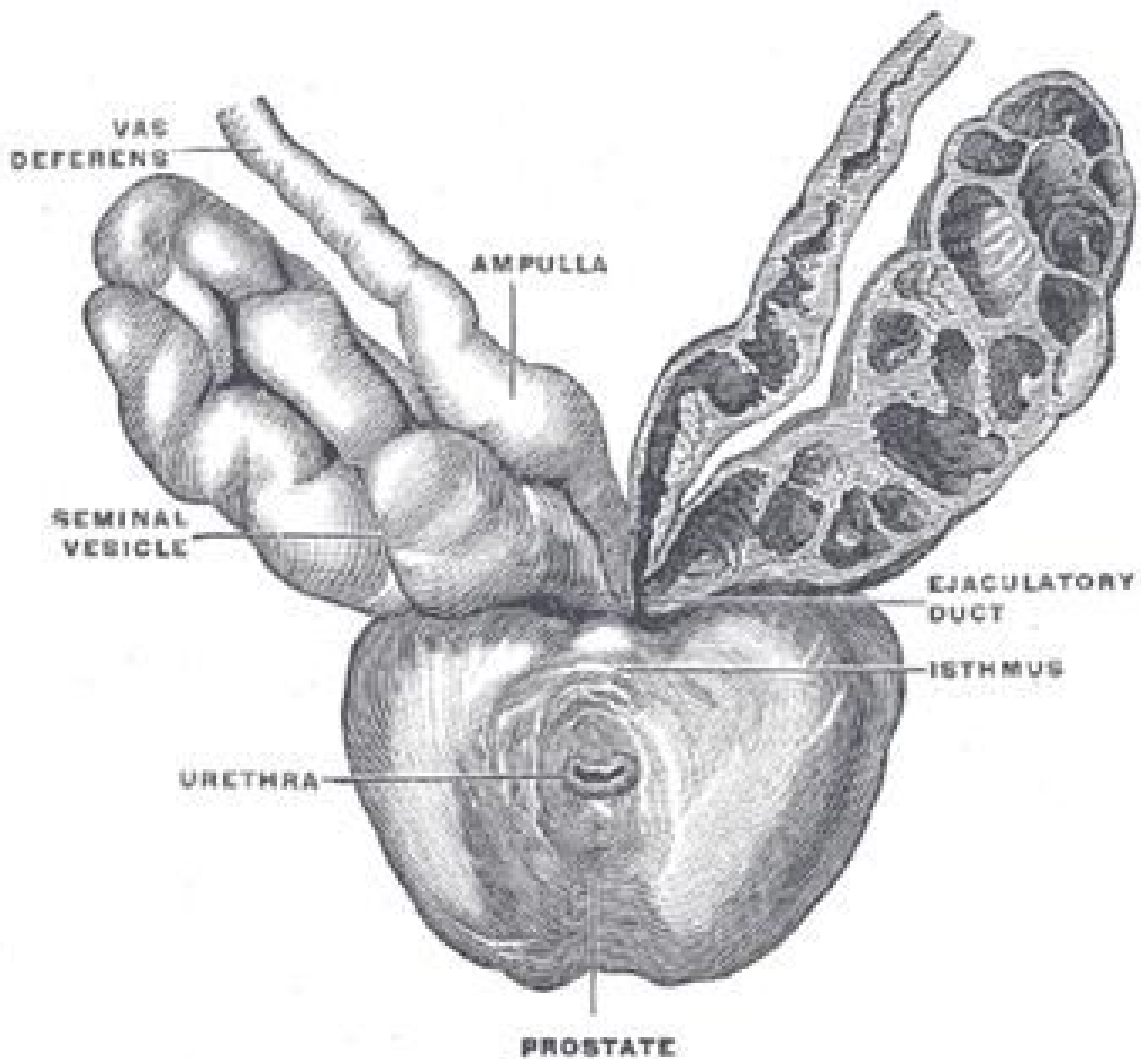


Abbildung 3: Anatomie der Prostata nach Henry Gray, 1821-1865, Anatomy of the human body.

Die unpaare Prostata, die oberhalb des Diaphragma urogenitale die Harnröhre umgibt, ist ein Drüsenorgan, in dem 30 bis 50 Einzeldrüsen durch Bindegewebe und glatte Muskelzüge zusammengefasst werden. Die Prostata, Vorsteherdrüse, die nach Größe und Form etwa einer Eßkastanie entspricht, ist 3 bis 4 cm lang, 3 bis 5 cm breit und 2 bis 3 cm hoch. Die Prostata ist zwischen Harnblasenausgang und Diaphragma urogenitale, flankiert von beiden Levatorschenkeln, im Beckenbindegewebe fixiert. An der Prostata unterscheidet man die oben gelegene, mit dem Blasenfundus verwachsene Basis prostatae von der nach unten zum Diaphragma urogenitale gerichteten Spitze, Apex prostatae. Zwischen Basis und Apex befindet sich der mittlere Drüsenanteil. In die Basis dringt der Blasen Hals vor, die Prostata wird vertikal von der Harnröhre durchquert. Dorsal

oben treten die beiden Ductus ejaculatorii in die Prostata ein. Sie münden nach caudal konvergierend, auf dem Colliculus seminalis der Pars prostatica der Harnröhre [89].

Bereits um 1850 hatte man, wie in Abbildung 3 zu erkennen, die eben beschriebene Vorstellung bezüglich Topographie und Aufbau der Prostata. Auch eineinhalb Jahrhunderte intensiver Prostataforschung vermochten dieses Bild nicht wesentlich zu verändern (Abbildung 4).

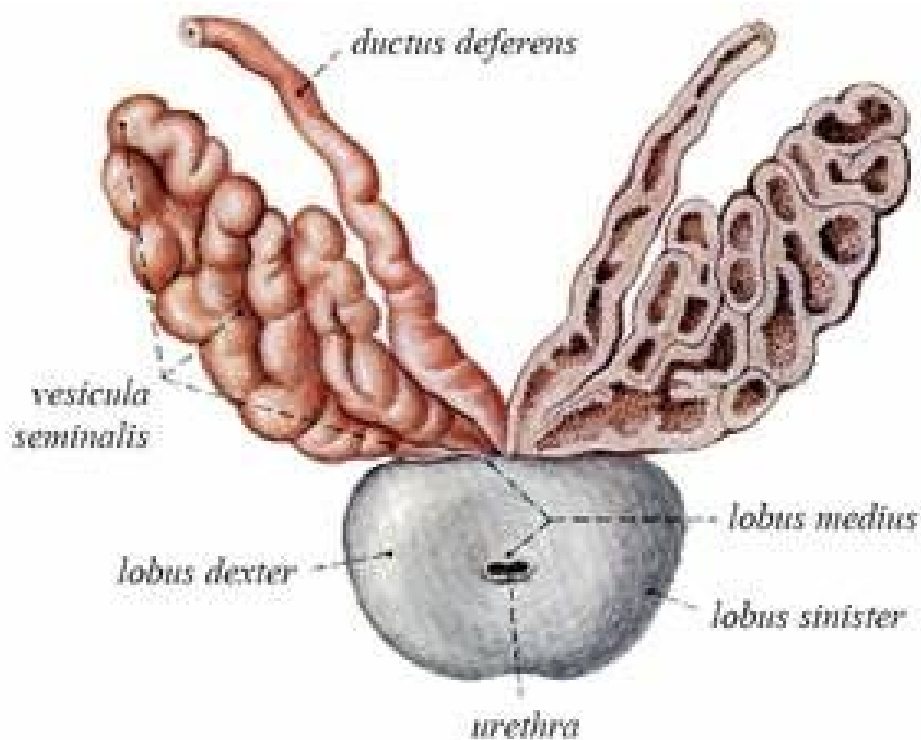


Abbildung 4: Sobotta, Atlas der Anatomie, 2000

Die 30 bis 50 Einzeldrüsen, aus denen die Prostata zusammengesetzt ist, sind tubuloalveoläre, verästelte Drüsenschläuche, die von uneinheitlichen, hauptsächlich hoch- oder isoprismatischen Epithelzellen, darunter auch endokrine Zellen, gebildet werden. Sie werden von der derben Prostatapseudokapsel umgeben. McNeal entdeckte, dass die Drüsen im Organ bezogen auf die Urethra unterschiedlich verteilt sind, so dass im stark vereinfachten Überblick (Abbildung 5) vier Zonen von klinischer Bedeutung unterschieden werden können. 1. Die periphere Zone macht den größten Anteil (etwa 70%) der Drüse aus und ist in den

meisten Fällen der Ort an jenem das PCA zu lokalisieren ist. Die Drüsengänge dieses Abschnitts verlaufen radiär um die Urethra. 2. Die zentrale Zone, deren lateraler Rand mit der peripheren Zone verschmilzt, umfasst etwa 25% des Drüsengewebes. 3. Die Übergangszone ist der Bereich der Prostata, der im Falle einer benignen prostaticen Hyperplasie pathologisch verändert ist. 4. Das anteriore fibromuskuläre Stroma ist ein nicht glandulärer Teil der Prostata und bildet dessen anteriore Fläche [111]. Auf diese Weise entstand eine neue Auffassung über die Strukturen und den Aufbau der Prostata, so dass sich nun doch ein Fortschritt auf dem Gebiet der Anatomie, wie aus dem Vergleich der Abbildungen 3 und 4, mit der Abbildung von Gray zu erkennen ist, verzeichnen lässt.

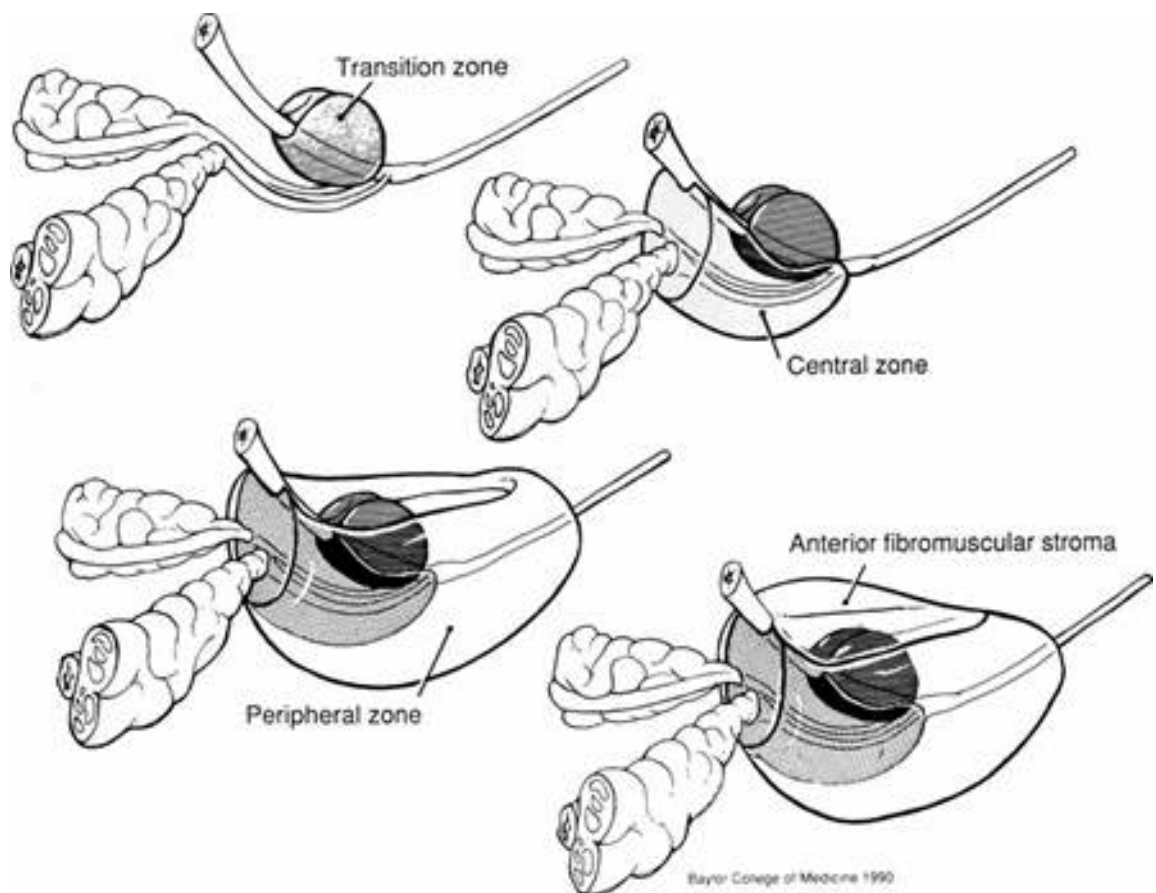


Abbildung 5: Vereinfachte 4-Zonen-Anatomie der Prostata nach McNeal [111].

2.2 Histologische Veränderung der Prostata

2.2.1 Benigne Prostatahyperplasie (BPH)

Als benigne Prostatahyperplasie bezeichnet man die noduläre Proliferation sowohl der mesenchymalstromalen als auch der glandulärepithelialen Anteile der Prostata, vornehmlich in der Übergangszone, die zur Vergrößerung der Prostata führen. Durch diesen hyperplastisch proliferativen Prozeß der Übergangszone wird der periphere Prostataanteil kapselförmig komprimiert.

2.2.2 Prostatistische intraepitheliale Neoplasie (PIN)

Eine detaillierte Beschreibung der präkanzerösen Läsionen der Prostata erfolgte 1965 durch McNeal. Derzeit wird eine Einteilung in eine PIN low grade und PIN high grade vorgenommen. Die PIN high grade stellt eine Vorstufe des invasiven PCa dar. Die Bedeutung der PIN low grade ist hinsichtlich eines PCa als gering einzustufen, zumal eine histopathologische Abgrenzung gegenüber normalem Prostatagewebe schwierig ist und keine einheitlichen histopathologischen Kriterien zu Grunde liegen. Vielfach wird der Begriff PIN mit dem Begriff PIN high grade synonym verwendet.

2.2.3 Prostatakarzinom (PCa)

Das PCa ist eine bezüglich der Histologie und anatomischen Variabilität heterogene Erkrankung. Aufgrund unterschiedlicher lymphogener Metastasierung ist die Lage eines Prostatakarzinoms innerhalb des Drüsenkörpers möglicherweise ein prognostisch bedeutender, bisher unzureichend erfasster, Parameter für die Beurteilung der individuellen Risikoabschätzung. Die ultraschallgesteuerte Prostatabiopsie wird zurzeit in einer systematischen Sextantenbiopsie unter Abdeckung der basisnahen, mittleren und apexnahen Portion jeweils des rechten und des linken Prostataseitenlappens durchgeführt. Neuere Studien [22, 23, 39, 50, 51, 86-88, 90, 117, 123, 133, 139, 148] zeigen die Notwendigkeit einer Modifikation dieses Vorgehens um die Quote falsch negativer Ergebnisse zu senken.

Die Diagnostik des PCa stützt sich auf verschiedene Untersuchungstechniken. Neben der DRU (digitalen rektalen Untersuchung) stehen dem Untersucher der TRUS (transrektaler Ultraschall) und die Stanzbiopsie zur Verfügung. Darüber

hinaus hat sich die laborchemische Bestimmung des PSA als Tumormarker in der Routinediagnostik etabliert. Das PSA und die DRU können jedoch nur den Verdacht auf eine PCa begründen, die Diagnose erfordert stets eine histopathologische Sicherung durch vorzugsweise transrektal sonographisch gesteuerte Prostatabiopsien. Histologisch zeigt das PCa beträchtliche Unterschiede im Wachstumsmuster. Nach histopathologischen Kriterien unterscheidet man das hoch differenzierte Adenokarzinom und das anaplastische Karzinom. Ferner sind seltene Prostatakarzinomformen beschrieben worden. In dieser Kategorie werden das urotheliale, plattenepitheliale, muzinöse und das Basalzell-Karzinom zusammengefasst. Etwa 95 % der Prostatakarzinome sind Adenokarzinome. Je grösser das Volumen des PCa, desto häufiger sind verschiedene histologische Entitäten nebeneinander anzutreffen, dies wird in der pathologischen Fachliteratur als pluriformes Karzinom bezeichnet. Das PCa breitet sich zunächst im Organ selbst aus und infiltriert später die umliegenden Organe. Die Ausbreitung erfolgt oft entlang der Nerven in die Prostatakapsel. Die Metastasierung erfolgt lymphogen in die regionalen Lymphknoten und hämatogen vor allem retrograd über den klappenlosen prävertebralen Venenplexus in Wirbelsäule, Femur und Beckenknochen. Nach klinischen Gesichtspunkten unterscheidet man das manifeste, das inzidentelle das latente und das T1c PCa. Das manifeste Karzinom ist ein durch DRU diagnostiziertes Karzinom, das entweder durch Aspiration, Stanzbiopsie oder Prostatektomie bestätigt wurde. Das inzidentelle Karzinom ist klinisch unerkannt und wird zufällig durch den Pathologen histologisch im transurethralen Resektions- oder Ektomiepräparat zumeist bei operativer Therapie einer Prostatahyperplasie festgestellt. Das latente Karzinom ist zu Lebzeiten des Patienten mit klinischen Methoden nicht nachweisbar gewesen. Es wird erst durch die Obduktion verifiziert [113]. Das T1c Pca ist ein Karzinom, welches lediglich durch die Erhöhung des prostataspezifischen Antigens (PSA) in Erscheinung tritt ohne ein palpables Korrelat aufzuweisen. Das T1c PCa und Hodenkarzinome der S-Kategorie sind die einzigen Karzinome des gesamten TNM-Systems in denen die Einbeziehung eines serologischen Markers, im Falle des PCa ist es das PSA, für die Klassifizierung von Bedeutung ist.

2.3 Prostataspezifisches Antigen (PSA)

Das PSA ist ein organspezifisches Enzym, eine Serinprotease von 38kD, das physiologischerweise bei der Ejakulation in die Samenflüssigkeit abgegeben wird. Dort wird es in freier Form aktiv und spaltet Fibrinogen und gelbindende Proteine des Ejakulats, damit den Spermien eine höhere Mobilität ermöglicht wird. Diese enzymatische Aktivität wird im Ejakulat innerhalb von 15 Minuten limitiert durch die Bindung des PSA an den Inhibitor PCI (Protein C Inhibitor) [34, 64].

Geringe Mengen an PSA gelangen auch ins venöse Blut, eine Funktion im Blut ist nicht bekannt und es wird nicht erwartet, da das freie Molekül rasch durch α 1-Antichymotrypsin (ACT), α 2-Makroglobulin und andere Inhibitoren gebunden wird. In den Jahren von 1960 bis 1970 fanden die Amerikaner Ablin und Flocks Antigene in Gewebeextrakten der Prostata, die sie als spezifisch für die Prostata ansahen [5, 6].

1966 entdeckten Hara et al. in Japan eine antigene Komponente im Ejakulat, das „gamma Seminoprotein“ [79] und 1971 beschrieb diese Arbeitsgruppe [80] einige physikalisch-chemische Eigenschaften des Proteins wie z.B. das Auftreten im gamma-Bereich der Immunelektrophorese und seine Degradation durch Trypsin.

1973 isolierten die Amerikaner Li und Beling ein Antigen aus der Seminalflüssigkeit. Sie bestimmten durch Gelfiltration sein Molekulargewicht von 31 kDa und nannten das Protein aufgrund seiner elektrophoretischen Mobilität „E1-Antigen“ [100].

1978 isolierten die Amerikaner Sensabaugh et al. [142] ein Protein aus menschlicher Samenflüssigkeit. Weil es nach ihren Untersuchungen ein Molekulargewicht von 30 kDa (SDS-PAGE) hatte, nannten sie es „p 30“. Dieses Isolierungsverfahren etablierte sich zum Standardverfahren [144]. Weitere Untersuchungen ergaben, daß „p 30“ seinen Ursprung in der Prostata hat.

1979 konnte die Arbeitsgruppe um Wang [161] durch Immunpräzipitation des Antigens aus einem Pool von normalem, hypertrophem und malignem Prostatagewebe zeigen, daß das Protein offenbar prostataspezifisch, d.h. in anderen Geweben des Körpers nicht nachweisbar ist. Gezeigt wurde auch, daß das PSA sich immunologisch und chemisch von der seit 1938 zur PCa-Diagnostik [118] benutzten prostataspezifischen sauren Phosphatase (PAP) unterscheidet. Das Protein erhielt seinen noch heute gültigen Namen „prostataspezifisches Antigen“ (PSA).

Die Frage, ob es sich bei den initialen Berichten über das „gamma-Seminoprotein“, „E1“, „p30“ und „PSA“ um dasselbe Protein handelt, war in den letzten Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen [12, 75, 106, 109, 129, 142, 143, 151, 157, 158, 160, 163] aber auch die Frage, ob nicht schon das von Ablin und Flocks bereits 1970 beschriebene Protein eigentlich PSA war, führte zu einer Fülle von Leserbriefen [1-4, 7, 8, 10]. Seit 1992 kann mit der Feststellung, daß „gamma-Seminoprotein“, „E1“, „p30“ und „PSA“ von einem einzigen Genlocus kodiert werden [126], von der Identität des seit 1979 „PSA“ genannten Proteins ausgegangen werden [147].

1980 fanden Papsidero et al. [120], daß das prostataspezifische Antigen auch im Serum von PCa-Patienten, also nicht nur in Prostatagewebe und Seminalplasma, auftritt. Mittels einer immunoelektrophoretischen Säule, die ein Minimum von 0,5 µg/ml PSA detektieren konnte, wurden Seren von 219 Patienten mit einem fortgeschrittenen PCa und von 175 Patienten mit anderen Karzinomerkrankungen untersucht und mit 20 Seren einer gesunden Kontrollgruppe verglichen. In nur 17 der 219 PCa-Seren war mittels dieser Technik das PSA im Serum nachweisbar, alle übrigen Seren zeigten keine Reaktivität, aber das Serum-PSA der PCa-Patienten war mit 36 kDa (SDS-Page) und 90-100 kDa (Gelfiltration) identisch mit dem PSA aus den Extrakten des PCa-Resektates. Das Auftreten des Antigens im Serum von PCa-Patienten wurde auf einen nicht näher bezeichneten pathologischen Zustand der Prostata in Analogie zur (PAP) zurückgeführt [120]. Die Größen 36 kDa und 100 kDa wurden von den Autoren auf eine Polymerisation des 36 kDa schweren PSA-Moleküls zurückgeführt.

1991 konnten Lilja et al. [102] die verschiedenen Molekülgrößen damit erklären, daß das im Serum meßbare PSA hauptsächlich an alpha-1-Antichymotrypsin gebunden in einem Komplex von 90-100 kDa auftritt.

1984 erhielten Chu, Wang und Papsidero auf die Anwendungsmöglichkeiten des PSA zur Diagnose des PCa das Patentrecht der Vereinigten Staaten [147].

Bedeutung als Tumormarker erlangte das PSA 1980 als die Arbeitsgruppe um Kuriyama [93] eine sensitivere Methode der PSA-Messung entwickelte. Die Methode bestand aus einem Enzymimmunoassay (ELISA), der mit einem Kaninchen-Anti-IgG-Antikörper gegen das PSA ausgestattet war. Wiederum wurden Prostatagewebeextrakte, Seren von Patienten mit PCa oder anderen Karzinomerkrankungen und von mutmaßlich gesunden Männern miteinander verglichen. Daraus entstand der erste PSA-„Normalbereich“ (0,1-1,792 ng/ml).

PSA-Messungen in weiblichen Seren ergaben keine meßbaren Konzentrationen bei einer unteren Nachweisgrenze von 0,1 ng/ml. Die höchsten Konzentrationen wurden im Serum von Patienten mit fortgeschrittenem PCa gefunden. Die Serum-PSA-Konzentration von Männern mit lokal begrenztem PCa unterschied sich nicht eindeutig von den Serumkonzentrationen von BPH-Patienten [93].

1981 zeigten Kuriyama et al. [92], daß das PSA die größte Aussagekraft bezüglich der Überlebensdauer von Patienten mit einem fortgeschrittenen PCa im Vergleich zu anderen nicht-prostataspezifischen Parametern, so auch gegenüber der PAP, hat. Je niedriger die PSA-Konzentration im Serum nach Therapie war, desto länger war die Überlebenszeit. Sie dokumentierten in dieser Arbeit auch, daß Metastasen eines PCa PSA bilden und in die Zirkulation abgeben können. Dieselbe Feststellung von Gutman und Gutman 1938 [77] hatte die PAP zum weltweit ersten Tumormarker gemacht [36]. Als nicht-organspezifisches Enzym verlor die PAP in der Diagnostik für das PCa an Bedeutung, da das PSA nach einer 1989 durchgeführten Analyse von 553 Seren von PCa-Patienten aller Stadien, eine doppelt so hohe Sensitivität wie die PAP aufwies, insbesondere in den frühen Stadien der Erkrankung. Damit wurde die PAP ein Tumormarker des fortgeschrittenen PCa [115].

Ähnliche Ergebnisse publizierten Stamey und Kabalin 1989 beim Vergleich von 209 PCa-Patienten vor Therapie [150]. Danach erschien die PAP auch als Verlaufsparemeter nach radikaler Prostatektomie ungeeignet, da sich die PAP-Serumkonzentrationen bei Patienten mit und ohne Rezidiv nicht unterschieden [95].

Seit Ende der achtziger Jahre wird das PSA nach zahlreichen Studien, die den Wert der PSA-Bestimmung im Serum für das frühe Erkennen des PCa bestätigen [47, 84, 95, 118], allgemein als Erkennungs- und Verlaufsparemeter für das PCa eingesetzt.

1986 erhielt der PSA-Assay der Firma Hybritech als erstes kommerzielles PSA-Bestimmungsverfahren die Zulassung der Food and Drug Administration für die Erkennung von PCa [37, 63, 128, 152]. In der Bundesrepublik Deutschland begann der klinische Einsatz des PSA im Jahr 1987 [69].

Die Beobachtung, die Kuriyama et al. 1980 [93] mit dem ELISA-Verfahren zur Serum-Bestimmung von PSA machten, ist als Problem bis heute nicht gelöst: bei nur gering erhöhten PSA-Werten (4-10 ng/ml) kann an Hand des PSA nicht sicher zwischen einer BPH und einem lokal begrenzten PCa unterschieden werden [46,

48, 84, 114, 121, 152]. Seither wird nach Verfahren gesucht, die die diagnostische Diskriminierungsfähigkeit des PSA erhöhen sollen. Dazu wird die Aussagekraft neuer Größen wie z.B. das Konzentrationsverhältnis von freiem zu Gesamt-PSA [20, 42, 53, 153] oder zu ACT-PSA [96], das Verhältnis von PSA-Serumkonzentration zum sonographisch bestimmten Prostatavolumen [14, 26, 141, 156], die PSA-Anstiegsgeschwindigkeit, oder Verdopplungszeit [18, 40, 41, 132] oder der Einsatz altersabhängiger Referenzwerte [19, 35, 119, 125] untersucht. Die zusätzliche separate Bestimmung des freien PSA scheint die vielversprechendste Möglichkeit zur Erhöhung der Spezifität für die Erkennung von PCa zu sein. 1998 erhielt wiederum ein Assay der Firma Hybritech als bisher einziges Meßverfahren für f-PSA die Zulassung der Food and Drug Administration.

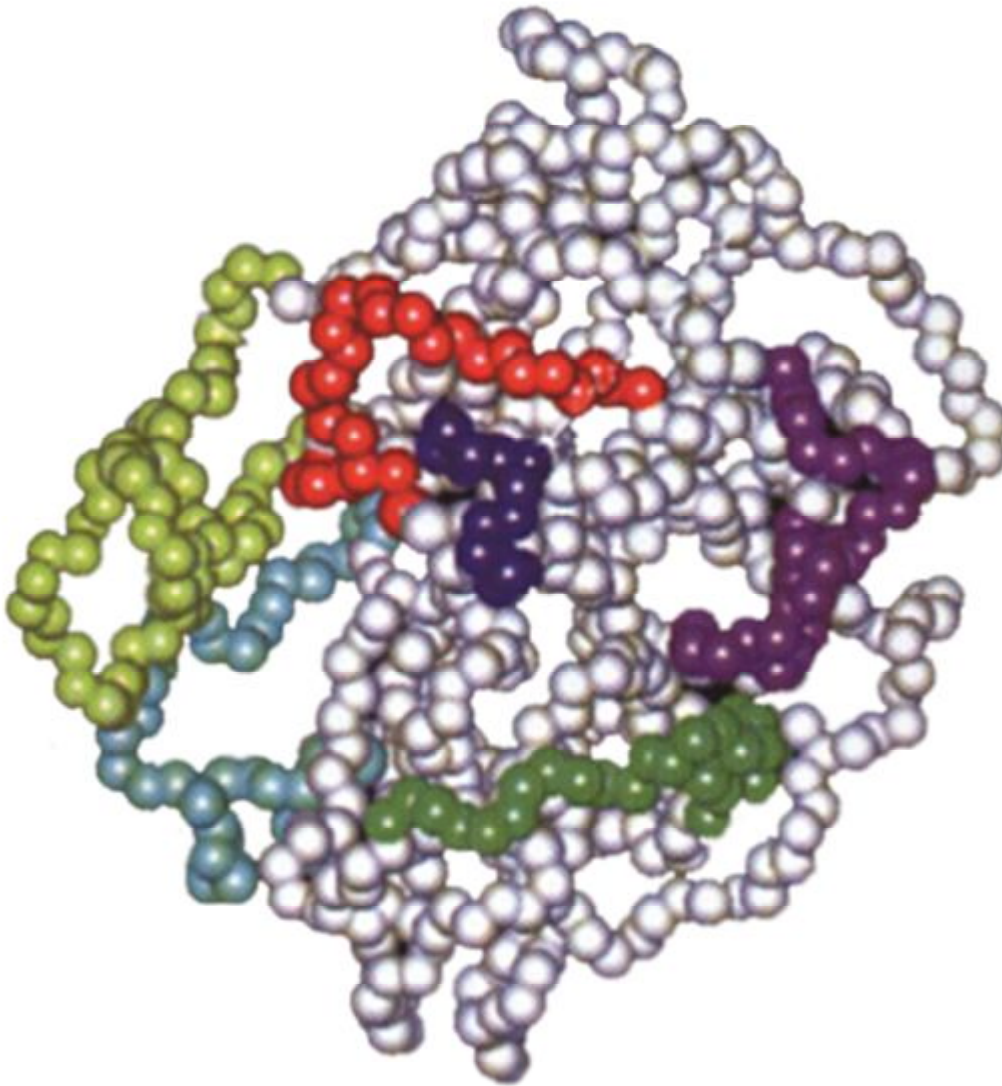


Abbildung 6

Dreidimensionales Molekülmodell des f-PSA, erstellt von Rittenhouse et al.[128] nach Angaben von Villoutreix et al.[159] mit Hilfe des Programmes HyperChem (Hypercube Inc., Gainesville, Florida). Die grau hervorgehobenen Areale markieren Epitope, die zur Erkennung des f-PSA Moleküls durch Antikörper dienen um Kreuzreaktionen mit dem humanen Kallikrein 2 (hK2) zu vermeiden, da sich das PSA an diesen Stellen am stärksten von hK2 unterscheidet [38, 122, 154].

Als diagnostischer Standard gilt bis heute die Kombination der digitalen rektalen Untersuchung (DRU) mit der Bestimmung des t-PSA im Serum [16, 17, 43]. Die bisherigen Erfahrungen mit diesem diagnostischen Vorgehen zeigen, daß ein PCa häufiger durch eine PSA-Erhöhung als durch einen karzinomverdächtigen Tastbefund auffällt [21, 43, 46, 135, 136]. Der Anstieg der PCa-Inzidenz um 38%

in den USA von 1987 bis 1994 ist vermutlich zum größten Teil auf die Einführung der PSA-Bestimmung zurückzuführen [49]. Der Bedeutung des PSA für die Diagnostik und die Prognose des PCa wurde in der 1992 durchgeführten Revision des TNM-Systems Rechnung getragen: palpatorisch nicht erkennbaren PCa, die nur auf Grund einer erhöhten PSA Konzentration im Serum erkannt werden, wurde das eigene klinische Tumorstadium „T1c“ zugeordnet [134]. Dieses weist nach radikaler Prostatektomie, im Vergleich zu tastbaren Tumorstadien, die mit 84% höchste progressionsfreie 5-Jahres-Überlebensquote auf [99]. Extreme PSA-Erhöhungen bei unauffälligen Palpations- und Sonographiebefunden können nach Stamey et al. angeblich auf groß-volumige Karzinome der Übergangszone der Prostata zurückgeführt werden, die trotz der hohen PSA Konzentration noch organbegrenzt sind und nur in 10% der Fälle bereits Metastasen gebildet haben [149]. In einer neueren Arbeit derselben Arbeitsgruppe besteht allerdings kein Unterschied in den PSA Konzentrationen bei Tumoren der peripheren oder der Übergangszone bei gleichem Tumolvolumen [116] und auch Elgamal et al. [65] berichten von nur mäßig höheren PSA Konzentrationen bei Tumoren in der Übergangszone, die allerdings in dieser Untersuchung auch ein größeres Tumolvolumen aufwiesen.

2.3.1 Physiologische Funktion des PSA

Bis heute existieren wenig Informationen über die physiologischen Funktionen des PSA, das in hoher Konzentration im menschlichen Ejakulat (0,5-5 mg/ml) gefunden wird [76, 142]. PSA wurde bislang nur bei Primaten nachgewiesen, humanes- und Rhesusaffen-PSA haben eine Aminosäuresequenzhomologie von 89% [72]. In Mäusen und Hunden wurde PSA bislang nicht nachgewiesen [27] [13]. Das Fehlen von PSA bei Hunden ist bemerkenswert, da bislang nur bei Hunden und Menschen BPH oder PCa auftreten [25, 54].

Im menschlichen Gewebe wird PSA intrazellulär in benignen und malignen Prostataepithelien nachgewiesen [70] [162]. Es wird in zytoplasmatischen Granula und Bläschen, dem rauhen endoplasmatischen Retikulum, in den Azini, aber nicht in den Basalzellen gefunden. Wahrscheinlich wird PSA im rauhen endoplasmatischen Retikulum gebildet und durch Exozytose in das Drüsenlumen freigesetzt [146, 162]. Vermutlich wird PSA als Substanz mit 261 Aminosäuren gebildet und nach Abspaltung von 17 Aminosäuren als inaktives Zymogen in das Drüsenlumen abgegeben. Der Verlust von weiteren 7 Aminosäuren führt zur

reifen, enzymatisch aktiven, extrazellulären Form mit 237 Aminosäuren. Enzyme, die das Zymogen zum aktiven PSA umwandeln, waren bis vor kurzem nicht bekannt [101, 109]. Unabhängig voneinander stellten Thomas Takayama [155], Abhay Kumar [91] und Janita Lövgren [104] 1997 diese PSA-Präkursorform rekombinant her, da das PSA in seiner nicht aktiven Präkursorform nicht aus dem Seminalplasma isoliert werden konnte. Die drei Arbeitsgruppen berichteten übereinstimmend, daß die sezernierte Präkursorform des PSA extrazellulär durch das humane Kallikrein 2 (hK2) aktiviert wird. Das hK2 spalte dabei in trypsinartiger Weise einen kurzen Anteil der 244 Aminosäuren der Präkursorform des PSA ab, so daß das reife aktive PSA-Molekül mit 237 Aminosäuren entstehe. Von den drei bekannten Gewebeskallikreinen stammen das hK2 und das hK3, welches der formale Name für das PSA ist, spezifisch aus der Prostata. Die trypsinartige Serinprotease hK2 und die chymotrypsinartige Serinprotease hK3 (= PSA) weisen eine hohe Strukturhomologie von 78% auf [109, 130]. Wie das PSA wird das hK2 als ruhendes Proenzym aus der Prostatadrüsenzelle in den Extrazellularraum der Drüse sezerniert, wo es bisher als einziges Gewebeskallikrein zur Autoaktivierung und zur Aktivierung des PSA befähigt ist [112].

Das intrazelluläre Verhältnis von hK2 und PSA wird auf 1:10 geschätzt [33], extrazellulär auf 1:100 bis 1:1000 [60]. Das hK2 besitzt jedoch gegenüber dem PSA eine um vier Größenordnungen höhere enzymatische Aktivität [112], mit der es in deutlich geringerem Maße auf dieselben Substrate wie das PSA im Seminalplasma einwirkt [61]. In jüngster Zeit sind elf weitere einander ähnliche Gewebeskallikreine der Prostata identifiziert worden (Clements, J.A.; Harvey, T., persönliche Mitteilung), so daß von einem komplexen Zusammenspiel bei der Aktivität und der Steuerung von Enzymen ausgegangen werden kann.

Regulation: Konzentrationen von PSA im Prostatagewebe sind alters- bzw. testosteronabhängig. Es bestehen hohe Konzentrationen bei der Geburt, nach 6 Monaten ist kein PSA mehr nachweisbar und die Konzentration beginnt etwa ab dem 10. Lebensjahr wieder anzusteigen und erreicht in der Pubertät ein Plateau [73]. Dieser Verlauf korreliert positiv mit der Konzentration von Testosteron im Serum. Die PSA-Konzentration ist bei testosteronsubstituierten hypogonadalen Männern ähnlich hoch wie bei gesunden Männern, während nicht testosteronsubstituierte hypogonadale Männer niedrigere PSA-Konzentrationen im Serum aufweisen [24]. In vitro Untersuchungen zeigten eine Regulation der PSA Expression durch den Androgenrezeptor [11].

Enzymaktivität: Das Enzym PSA hat ein breites Spektrum proteolytischer Aktivität und gehört zur Gruppe der humanen Kallikrein Proteasen. Untersuchungen zeigen, daß die enzymatische proteolytische Aktivität des PSA trypsin- [80] oder chymotrypsin-ähnlich [9, 15, 101] ist. Kallikreine üben in verschiedenen physiologischen Systemen wichtige regulatorische Funktionen aus. Die Homologie der Aminosäuresequenzen zwischen PSA und anderen Proteinen der Kallikrein Gen Familie (Pancreatic/renal Kallikrein, Glandular Kallikrein) beträgt 60 bis 80% [109].

Reproduktion: Kinine erhöhen die Spermienmotilität und die Fähigkeit zur Penetration des Mucus [131]. PSA spaltet verschiedene Glykoproteine der Samenblasenflüssigkeit, darunter Seminogelin [103] und das samenblasenspezifische Antigen [110] wodurch eine Verflüssigung des Ejakulates entsteht. Die enzymatische Aktion von PSA führt in der Samenblasenflüssigkeit zur Bildung einer kininartigen Substanz und induziert hierdurch glattmuskuläre Kontraktionen und eine Steigerung der Spermienmotilität. Dieser Vorgang kann durch einen Bradykinin Antagonisten blockiert werden [67].

Wachstumsfaktoren: PSA ist die erste chemisch definierte Protease für das Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-3). In vitro führt PSA über die Freisetzung des Insulin-like growth factors zu einer Wachstumsförderung von Prostataepithelzellen [55, 56] und begünstigt möglicherweise die Entstehung von Knochenmetastasen durch Chemotaxis [127] oder Spaltung des Parathyroid hormone-related protein [57].

Als organspezifisches Protein finden sich Erhöhungen des Gesamt-PSA bei benignen Erkrankungen, vor allem bei der benignen Prostatahyperplasie (BPH) und der Prostatitis, aber auch beim PCa. Präanalytisch zu beachten ist die mögliche Beeinträchtigung des PSA-Wertes durch iatrogene Maßnahmen wie z.B. die DRU, Prostatastanzbiopsie, TRUS. Ferner gibt es zahlreiche patientenabhängige Einflußgrößen wie z.B. Alter, Volumen der Prostata oder Medikamente, die in den Androgenstoffwechsel eingreifen [68].

Die ursprünglich etablierten Referenzwerte der Serumkonzentration des Gesamt-PSA orientieren sich in Bereiche von <4,0 ng/ml, 4,0-10,0 ng/ml und >10,0 ng/ml [47]. Die angegebenen Bereiche gelten jedoch nicht für sämtliche Bestimmungsverfahren [138]. Ohne Kenntnis des Assay-spezifischen Referenzbereiches kann es zu schwerwiegenden Fehlinterpretationen des PSA-Wertes kommen. Ebenso kann ein Wechsel des PSA-Assays eine Veränderung

des PSA-Wertes vortäuschen. Versuche einer Standardisierung der Testverfahren sind unbedingt erstrebenswert, allerdings aufgrund der Vielzahl an PSA-Formen im Blut und der damit verbundenen Schwierigkeit einen Standard festzulegen, bisher nur unzureichend geglückt [64, 68].

Da die Wahrscheinlichkeit eines Prostatakarzinomnachweises bei suspektem Tastbefund stets deutlich erhöht ist und ein prostatakarzinombedingter Anstieg des PSA bis zu 6 Jahre vor dem palpablen Tumor manifest wird [74], gelten Biopsieempfehlungen, die aus Gesamt-PSA-Bereichen abgeleitet werden, stets für den Fall eines unauffälligen digitalen rektalen Tastbefunds [80, 83, 92].

2.3.2 Gesamt-PSA Bereich <4,0 ng/ml:

In der Frühphase der routinemäßigen PSA-Bestimmung wurden Patienten mit einem Gesamt-PSA von < 4,0 ng/ml als Niedrigrisikopatienten klassifiziert und nur bei auffälliger DRU wurde eine Biopsie empfohlen. Neuere Daten belegen jedoch, dass bei Patienten mit einem Gesamt-PSA zwischen 2,6 und 4,0 ng/ml in 22% aller Fälle bei unauffälliger DRU ein Prostatakarzinom diagnostiziert wurde. Nach erfolgter radikaler Prostatektomie waren diese Karzinome in der Mehrzahl der Fälle klinisch signifikant und etwa 80% dieser PCa waren organbegrenzt [45]. Aus Screeningdaten ist bekannt, dass in ca. 8% der Männer ab 55-60 Jahren ein Gesamt-PSA >4,0 ng/ml gemessen werden wird. Senkt man den Referenzwert auf z.B. 2,5 ng/ml ab, werden weitere 15% aller Männer der Risikogruppe Prostatakarzinom zugeordnet. Dies bedeutet, dass man statistisch mit etwa jedem 4. asymptotischen Mann über die Möglichkeit eines Prostatakarzinoms zu sprechen hat und entsprechende Diagnostik eingeleitet werden müsste.

2.3.3 Gesamt-PSA-Bereich 4-10 ng/ml

Traditionell wird dieser Bereich als diagnostischer „Graubereich“ angesehen. Bei Gesamt-PSA Konzentrationen zwischen 4 und 10 ng/ml besteht die größte Überlappung zwischen gutartigen Prostatavergrößerungen und PCa. Der positive Vorhersagewert in großen Biopsieserien liegt in diesem Konzentrationsbereich zwischen 12 und 32% [44, 66, 78].

2.3.4 Gesamt-PSA-Bereich > 10 ng/ml

In diesem Bereich liegt die Wahrscheinlichkeit eines PCa bei etwa 50% [46]. Daher ist es gängige Praxis, in solchen Patientenfällen eine Biopsie der Prostata durchzuführen. Im Falle eines PCA-Nachweises liegt die Wahrscheinlichkeit eines noch organbegrenzten Tumors jedoch nur noch bei 25%.

Nach radikaler Prostatektomie besitzt das PSA seine größte Aussagekraft. Postoperativ sollten PSA-Konzentrationen unterhalb der biologischen Nachweisgrenze des Testverfahrens liegen. Meßbare PSA-Konzentrationen sind ein sicherer Beweis für den Fortbestand von Prostatagewebe, steigende PSA-Konzentrationen sprechen gegen benignes und für malignes Gewebe [139].

Zur Steigerung der diagnostischen und prognostischen Aussagekraft wurde die Messung der PSA-Anstiegsgeschwindigkeit bzw. Verdopplungszeit in seriellen PSA-Bestimmungen nach radikaler Prostatektomie herangezogen. In der Annahme, dass bösartige Tumoren in der Prostata eine schnellere Größenzunahme zeigen als benigne Prostatahyperplasien und darüber hinaus mehr PSA pro Prostatavolumen in das Blut abgeben, sollte bei malignen Prostataerkrankungen eine höhere PSA-Anstiegsgeschwindigkeit als bei benignen Erkrankungen bestehen [68]. Nachteil der PSA-Anstiegsgeschwindigkeit ist, neben analytischen Fehlern (im folgenden Absatz beschrieben), die normale intraindividuelle Schwankung der Serum-PSA Konzentration. So können kurzfristige Anstiege z.B. durch Prostatitiden, Zystoskopien oder DRU bedingt sein.

Durch die Einführung von verschiedenen PSA-Bestimmungsverfahren, wird die Aussagekraft der gerade aufgeführten Methoden zur Erhöhung der Karzinomspezifität von PSA stark eingeschränkt, da die in den genannten Untersuchungen angegebenen Grenzwerte nicht zwangsläufig auf ein anderes Bestimmungsverfahren übertragbar sind [68].

2.3.5 Freies PSA (fPSA)

Wie bereits erwähnt, hat sich gezeigt, dass das freie, nicht gebundene, PSA in benignen Prostataerkrankungen stärker erhöht ist als in malignen [153]. Durch

separate Messung von freiem und Gesamt-PSA ist es möglich dieses Verhältnis (%fPSA) zu bestimmen und somit die Spezifität des PSA zu verbessern.

Die Literatur befürwortet gegenwärtig 3 Szenarien der klinisch sinnvollen Applikation von %fPSA.

1. Gesamt-PSA von 4-10 ng/ml, DRU unauffällig
2. Gesamt-PSA von 4-10 ng/ml, DRU unnauffällig und vorrangegangene negative Biopsie
3. Gesamt-PSA von 2,5-4 ng/ml, DRU unnauffällig und Hochrisikogruppe (Altersgruppe 40-59 Jahre, positive Familienanamnese).

Die Bestimmung des %fPSA ist jedoch weder bei suspektem Tastbefund, noch bei einer Gesamt-PSA-Konzentration >10 ng/ml erforderlich. In beiden Fällen sollte eine Biopsie erfolgen.

2.4 Stanzbiopsie der Prostata

2.4.1.1 Digitale rektale Untersuchung (DRU)

Unter Berücksichtigung der diagnostischen und therapeutischen Konsequenzen stellt ein suspekter Tastbefund ungeachtet der Höhe des PSA-Wertes eine Indikation zur Biopsie dar. Schröder et al. fanden in einer Screeningpopulation 83 von 473 (25%) Karzinomen ausschließlich durch die DRU bei PSA-Werten unter 4,0 ng/ml [136]. In der prä-PSA-Ära fielen die meisten PCa durch die suspekten Tastuntersuchung auf und waren daher der digital geführten Biopsie problemlos zugänglich, allerdings wies die DRU alleine eine geringe Sensitivität auf. Catalona et al. fanden, dass nur 21,4% der Patienten mit abnormen Tastbefund ungeachtet des PSA-Wertes in der Biopsie ein Karzinom aufwiesen [43]. Andererseits waren Patienten mit einem suspekten Tastbefund und Malignomnachweis häufiger an lokal fortgeschrittenen und systemisch metastasierten Tumoren erkrankt [71]. Die PSA-bedingte Stadienverschiebung führte dazu, dass in den meisten Serien mehr als die Hälfte aller entdeckten Karzinome einen normalen Tastbefund aufwiesen.

2.4.1.2 PSA-Erhöpfung

Das PSA dient zur Früherkennung, zum Staging und zum Therapiemonitoring beim PCa. Die Werte können durch Prostatitis, Manipulationen, BPH und

Karzinom erhöht sein. Normwerte werden mit 0-4 ng/ml angegeben. Bei PSA-Werten im sog. Graubereich, zwischen 4-10 ng/ml, wird in einer von fünf Sextantenbiopsie ein Karzinom entdeckt. Bei Werten über 10 ng/ml steigt die Wahrscheinlichkeit auf über 50%.

2.4.1.3 High-grade Pin in der Vorbiopsie

Eine high-grade PIN in der Erstbiopsie ist eine absolute Indikation zur Re-Biopsie, da sie, im Gegensatz zur low-grade PIN, als prämaligene Läsion gilt. Sie ist häufig multifokal und tritt gemeinsam mit Karzinomen auf. Patienten mit einer high-grade PIN in der Vorbiopsie wiesen im Vergleich zu Patienten ohne diesen Befund in 30-50% versus 10-20% Karzinome in der Re-Biopsie auf [58, 124].

2.4.2 Biopsieprotokolle

Das ultraschallgesteuerte systematische 6-fache Biopsieprotokoll ist die zurzeit am häufigsten verwandte Methode zur Gewinnung von Prostatagewebe, wobei die Ansichten bzgl. der Anzahl und der Lage der einzelnen Biopsien, wie oben erwähnt, von Autor zu Autor unterschiedlich sind.

Hodge zeigte als erste 1989, dass die systematische ultraschallgesteuerte Prostatabiopsie eine höhere Karzinomdetektionsquote aufweist als die Biopsie suspekter Areale allein [82]. Seither wird sie überwiegend als Sextantenbiopsie der Basis, der Mitte und des Apex des jeweils linken und rechten Prostataseitenlappens durchgeführt (Abbildung 7).

Eine signifikante Anzahl an Patienten (20-40%) mit erhöhtem PSA haben in einer Folgebiopsie einen positiven Befund, so dass man schlussfolgern kann, nicht alle Prostatakarzinome mit den regulären sechs Stanzbiopsien zu detektieren [87, 105]. Dieses Protokoll liefert selbst bei entsprechender exakter Indikationsstellung ein falsch negatives Ergebnis in 30% der Fälle [108]. Norberg et al. zeigten, dass 15% der Karzinome durch die reguläre Sextantenbiopsie nicht entdeckt werden [117].

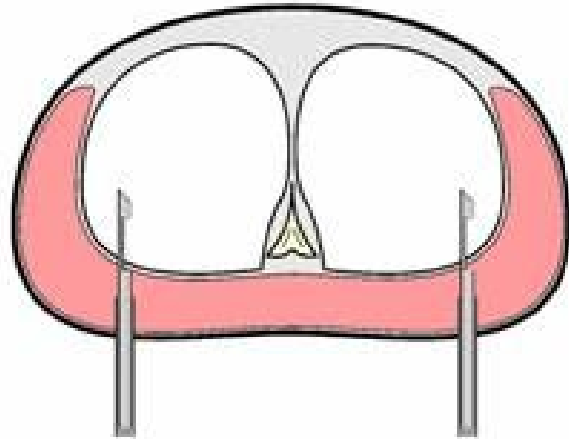
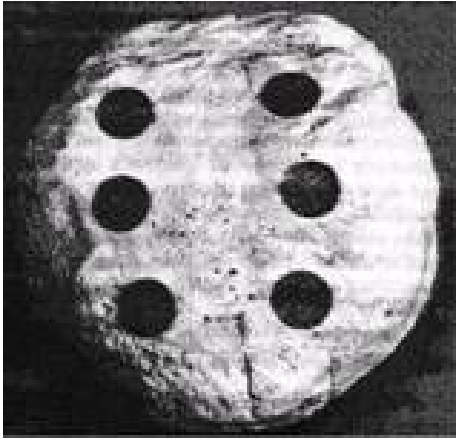


Abbildung 7: Systematische transrektale Sextantenbiopsie der Prostata [82]

Mehrere Autoren fordern daher Variationen des Protokolls durch zusätzliche Biopsien in verschiedenen Anteilen der Drüse [22, 23, 39, 50, 51, 86-88, 90, 117, 123, 133, 139, 148]. Zunächst modifizierte Stamey dieses Schema, indem er die Entnahme aus dem lateralen Drittel der Prostata vorschlug, da so die periphere Zone als Hauptentstehungsort der Karzinome besser abgedeckt wird [148] (Abbildung 8)

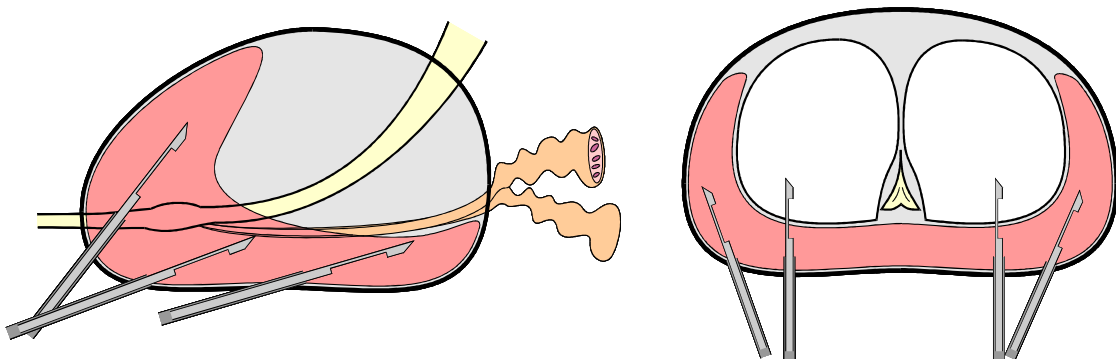


Abbildung 8: Laterale transrektale Prostatabiopsien

Bauer et al. beschreiben eine 10 fache Biopsie mit vier zusätzlichen Probenentnahmen im lateralen Anteil der mittleren und apexnahen Portion der Prostata. Im Vergleich zur regulären Sextantenbiopsie werden durch die 4 zusätzlichen Stanzzyylinder 45,7% (16/35) der retrospektiv erfassten Prostatakarzinomträger erfasst, die mit Hilfe der Sextantenbiopsie nicht entdeckt worden wären [23]. Presti et al. finden mit Hilfe einer 12 fache Biopsie signifikant mehr PCa, konzentrieren jedoch ebenfalls den größten Anteil an zusätzlich zur Sextantenbiopsie detektierten Karzinomen auf die lateral entnommenen Proben

der 2299 retrospektiv analysierten Patienten [123]. In einer weiteren Studie von Presti et al. wurden 438 Männern mit suspektem Tastbefund oder erhöhtem PSA 10fach biopsiert. Zusätzlich zur Sextantenbiopsie erfolgten jeweils laterale Biopsien der peripheren Zone an der Basis und der Mitte der Prostata. Durch die Sextantenbiopsie alleine wären 20% der diagnostizierten Karzinome nicht entdeckt worden. Die 10-fach-Biopsie identifizierte 96% aller Malignome. Die restlichen wurden durch Zielbiopsien aus suspekten Arealen gefunden. Durch Weglassen der medialen Biopsien der Basis wären in dieser Studie 95% aller Karzinome diagnostiziert worden.

Eskew et al. unterteilten die Prostata in fünf Regionen (rechts lateral [Region 1], rechts mitte [Region2], Mitte [Region3], links Mitte [Region4], links lateral [Region5]), wobei insgesamt 13 Biopsien entnommen wurden. Zusätzlich zur üblichen Sextantenbiopsie wurden 2 Biopsien aus jedem lateralen Aspekt entnommen und 3 weitere aus der Mitte. Bei Volumina über 50ml erfolgte aus jeder Zone eine zusätzliche Biopsie. Auf diese Weise wurden 35% der detektierten Karzinome außerhalb der üblichen 6fach-Biopsie detektiert. Sie waren daher in den lateralen und mittleren Anteilen lokalisiert. Insgesamt wurde Karzinom in 48 von 119 Patienten (40%) nachgewiesen.

Es gibt zahlreiche weitere Modifikationsvorschläge der Biopsiestrategie, von denen einige im Abschnitt „Diskussion“ aufgeführt und erläutert werden.

2.4.3 Biopsien der Übergangszone (TZ)

Die Detektionsquote durch TZ-Biopsien ist weit aus geringer als die der Biopsien der peripheren Zone. Das liegt zum einen darin, dass der Grossteil der Karzinome (etwa 75%) in der peripheren Zone entsteht, zum anderen daran, dass die TZ, auch durch die meist in Koinzidenz aufgetretene BPH, das Hauptvolumen der Prostata ausmacht und somit durch 2-4 Biopsien, je nach Protokoll, unterrepräsentiert ist. Typischerweise weisen Karzinome der TZ deutlich höhere PSA-Werte bei unauffälligem Tastbefund und negativer Erstbiopsie der peripheren Zone auf. Sie sind häufig auch bei großen Volumina und hohen PSA-Werten organbegrenzt und heilbar.

Lui et al. wiesen bei 37,7% der Patienten, die einen negativen Tastbefund, mittlere PSA-Werte um 38 ng/ml und eine negative Erstbiopsie der peripheren Zone aufwiesen, in einer Re-Biopsie Karzinome nach. In 53% (9/17 Patienten) war ausschließlich die Biopsie der TZ positiv [105]. Unter den genannten

Vorraussetzungen sollten also Übergangszonenbiopsien durchgeführt werden. In der Routine-Erstbiopsie hat die Biopsie der Übergangszone keine Auswirkungen auf die Detektionsrate. In einer Studie von Kojima et al. wurden bei 130 Männern, in einem 12fach Biopsieschema, zusätzlich zur konventionellen Sextantenbiopsie 4 Biopsien der TZ und 2 Biopsien des Apex entnommen. 41 (31,5%) der Männer wiesen ein Karzinom auf, lediglich 4 Patienten (9,8%) hatten Karzinomanteile allein in den TZ-Biopsien. Das mittlere PSA dieser Patienten war 41,0 ng/ml und somit ein Parameter, der bei einer negativen Erstbiopsie zur Re-Biopsie hätte führen müssen. In einer solchen Re-Biopsie wären diese 4 Patienten dann zuverlässig diagnostiziert worden.

3 Patientenkollektiv und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

303 Männer nahmen nach eingehender Aufklärung über Sinn und Zweck der Studie an der Untersuchung teil, deren praktischer Teil in einem Zeitraum von 4 Monaten durchgeführt wurde. 158 der Probanden (Alter 42-79 Jahre, Mittelwert und Median 57; PSA Konzentrationen 0,1–11,3 ng/ml, Mittelwert 1,3; Median 0,9 ng/ml) stammten aus Lengericher Betrieben (W&H und Dyckerhoff) oder aus einer Herzsportgruppe. Weitere 145 Teilnehmer (Alter 38-78 Jahre, Mittelwert und Median 64; PSA Konzentrationen 0,3–29,7 ng/ml, Mittelwert 9,6, Median 7,9 ng/ml) waren Patienten der Klinik für Urologie am Universitätsklinikum Münster, die ambulant zu einer Prostatabiopsie überwiesen wurden. Der Kontakt zu den Probanden wurde über die Betriebsärzte (Dr. Meyer bei Dyckerhoff sowie Dr. Aufmkolk bei W&H) hergestellt. Die Teilnehmer der Herzsportgruppe waren dem Autor durch seine ärztliche Tätigkeit bekannt. Nachdem die jeweiligen Betriebsräte der beiden Firmen nach Erläuterung und Beratung der Untersuchung zugestimmt hatten, wurde die Studie am 02.04.2001 begonnen. Alle Teilnehmer wurden über mögliche Konsequenzen bei auffälligen Testergebnissen mündlich und schriftlich aufgeklärt (siehe Anhang). Die Teilnahme war freiwillig. Es wurde eine schriftliche Teilnahmeerklärung unterzeichnet. Die teilnahmebereiten Probanden wurden im jeweiligen Erste-Hilfe-Raum der Betriebe im Zeittakt von 20 Minuten einbestellt. Die Untersuchung der Teilnehmer aus der Herzsportgruppe fand im evangelischen Krankenhaus Lengerich statt. Die Patienten der Klinik für Urologie wurden in der Universitätsklinik untersucht, sie wurden zur Durchführung von Prostatabiopsien in die Klinik überwiesen. Die Untersuchungsräume hatten entweder Tageslicht oder Leuchtstoffröhren oder beide Lichtquellen, somit lagen gute Lichtverhältnisse vor. Nachdem Eintreffen eines jeden Probanden erfolgte eine kurze Begrüßung und nochmalige Erklärung der einzelnen Schritte. Zunächst wurde durch den Untersucher Blut (Serummonovette der Firma Sarstedt) aus der Cubitalvene abgenommen und gleich danach bei 4°C in einem Kühlschrank deponiert. Anschließend wurden die Teilnehmer aufgefordert mittels des vorliegenden Teststreifens und der in der Packung enthaltenen Gebrauchsanweisung sich eigenständig mit einer Lanzette in die Fingerbeere zu stechen und den so erhaltenen Kapillarblutstropfen ohne Hilfe des Untersuchers auf das Testsystem zu geben. Anschließend mußte eine Kontrolllösung

hinzugefügt werden. Nach 10-12 Minuten Inkubationszeit wurde jeder Test durch den Studienteilnehmer und den Untersucher interpretiert. Während dieser Zeitspanne wurden die Teststreifen bei Zimmertemperatur (19-21°C) aufbewahrt. Den Teilnehmern wurde eine Uhr mit akkustischem Signalgeber ausgehändigt damit die Inkubationszeit entsprechend genau eingehalten wurde. Die abgelesenen Ergebnisse wurden in einen vorbereiteten Dokumentationsbogen eingetragen. Zum Ausschluß einer Farbsehschwäche (insbes. Rot-Grün-Blindheit) wurden jedem Probanden pseudo-isochromatische Farbtafeln nach Ishihara [145] vorgelegt und mit dem Untersucher abgelesen. Männer mit Sehschwäche wurden gebeten ihre Brille zu benutzen, die sie zum Lesen benötigen.

Das aus einer Kubitalvene abgenommene Vollblut wurde am Entnahmetag in Kühlkartons zum evangelischen Krankenhaus in Lengerich transportiert und dort zunächst 12 Minuten zentrifugiert, anschließend bei -40°C eingefroren. Am nächsten Tag erfolgte wiederum in Kühlkartons der Transport der gefrorenen Serumröhrchen zur Universitätsklinik in Münster, dort wurde das Serum dann bei -70°C weiter aufbewahrt um anschließend eine naßchemische Bestimmung des PSA-Wertes durchzuführen. Bei PSA-Werten > 3 ng/ml erfolgte die Benachrichtigung des Probanden durch den Untersucher mit dem Rat sich beim Hausarzt oder Urologen zur weiteren Abklärung vorzustellen. Bereits während der Untersuchungen wurde deutlich, daß nicht alle Versuchsteilnehmer die Handhabung und somit korrekte Durchführung des Testes absolvierten. 24% der Probanden gelang es nur mit Mühe bzw. gar nicht die zwei erforderlichen Tropfen Blut aus der Fingerbeere auf den Teststreifen fallen zu lassen. Vielmehr konnte das Blut nur auf dem Filterpapier abgewischt werden. 6% waren nicht gewillt sich eigenhändig mit der Lanzette in den Finger zu stechen. In diesen Fällen erfolgte die Entnahme durch den Untersucher bzw. es das zuvor entnommene Venenblut verwendet. Das Ablesen der Tests geschah wiederum durch die Teilnehmer sowie 2 erfahrene Untersucher. Die Ergebnisse wurden auf einem vorbereiteten Bogen schriftlich dokumentiert und seitens der Untersucher kommentiert, insbesondere beispielsweise Schwierigkeiten bei der Fingerbeerenpunktion, Farbsehschwäche usw.. Weiterhin wurden der Hausarzt, etwaige Vorerkrankungen und Medikamenteneinnahme notiert. Darüber hinaus wurde nach dem Zeitpunkt der letzten sportlichen Betätigung (z.B. Fahrradfahren, Joggen, Turnen etc.) sowie der letzten Ejakulation gefragt um eine mögliche Verfälschung des PSA-Wertes beurteilen zu können.

Sensitivitäten, Spezifitäten, positive und negative Vorhersagewerte (PPV und NPV) wurden für die Teststreifenuntersuchung berechnet. Hierbei war ausschlaggebend, ob das Teststreifenergebnis die naßchemisch bestimmte PSA Konzentration korrekt für den Teststreifengrenzwert von 4 ng/ml wiedergab. Diese Berechnungen wurden sowohl für das Gesamtkollektiv, wie auch für Subgruppen verschiedener PSA Konzentrationsbereiche berechnet.

3.2 PSA Testverfahren

3.2.1 Semi-quantitativer Teststreifen (Medpro Ltd., Northampton, UK; Lot No. 14030), unter dem Namen "Uralen" im Vertrieb der Firma Hoyer-Madaus

Das Testprinzip besteht aus einer "solid phase immunochromatography". Zwei Tropfen Vollblut werden in die Probenmulde des Teststreifens gebracht und direkt anschließend werden fünf Tropfen Lösungsflüssigkeit hinzugefügt. Ist PSA in der Probe vorhanden, formt es einen Komplex mit anti-PSA Antikörpern, wandert durch Kapillarkräfte entlang des Teststreifens und wird von einem weiteren fixierten anti-PSA Antikörper immobilisiert, wobei sich eine rosa Linie bildet. Unkomplexiertes Konjugat produziert eine zweite rosa Linie, an Hand derer die Validität der Untersuchung festgestellt wird. Nach 10–12 Minuten Inkubationszeit bei 19–21 °C wird der Teststreifen abgelesen. Vor Beginn der Untersuchung wurden alle beteiligten Untersucher mit Hilfe von 25 immunochromatographischen Tests mit Vollblutproben von bekannter PSA-Konzentration 0,1–48 ng/ml trainiert, um die Farbintensität der Testlinie bei verschiedenen PSA Konzentrationen einschätzen zu lernen. Keiner der Probanden oder Patienten hatte Erfahrung in der Ablesung von Teststreifen, sie erhielten die Hinweise zur Testdurchführung durch die Packungsbeilage der Teststreifen. Um Voreingenommenheit derjenigen Probanden/Patienten, die ihre PSA Konzentration kannten, zu verhindern, wurde ihnen der Grenzwert des Teststreifens vor der Untersuchung nicht mitgeteilt.

- ▶ Wenn in den Feldern (T) und (C) Farbstreifen zu sehen sind, ist PSA im Blut nachweisbar (≥ 4 ng/ml). Der Befund ist positiv.
- ▶ Wenn nur im Kontrollfeld (C) ein Farbstreifen zu sehen ist, ist der Befund negativ.

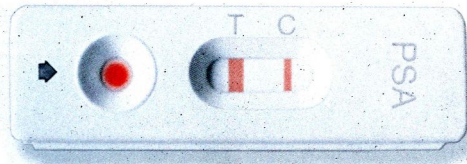


Abbildung 9: Aufbau und Verwendung des Teststreifens laut Packungsbeilage des Vertreibers.

3.2.2 Quantitativer naßchemischer PSA Test (Access Hybritech, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA; Lot No. 902671)

Die aus einer Kubitalvene entnommenen Vollblutproben wurden 15 Minuten nach Entnahme für 10 Minuten zentrifugiert, danach aliquottiert und am selben Tag bei -70°C für maximal 7 Tage eingefroren. Jedes Aliquot wurde nur einem Gefrier-Auftau-Zyklus unterzogen. Die naßchemische PSA Messung erfolgte innerhalb von 4 Stunden nach dem Auftauen mit dem automatisierten Access Immunoassay System (Hybritech, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA). Die Testcharakteristika dieses seit vielen Jahren allgemein akzeptierten Systems sind im Detail bereits beschrieben worden [94].

4 Ergebnisse

Bei drei der 304 Teststreifenuntersuchungen erschien keine Kontrolllinie auf dem Teststreifen (Patienten $n=1$, Probanden $n=2$), so dass 301 Teststreifenuntersuchungen für die weitere Evaluierung zur Verfügung standen. Unter den 156 Probanden hatten 38 (24%) Schwierigkeiten bei der ausreichenden eigenständigen Blutgewinnung aus der Fingerbeere. 13 Probanden streiften zu kleine Blutmengen in die Testkammer, die übrigen 25 Probanden benötigten Hilfe bei der Blutgewinnung. Den Vergleich der Teststreifen-Ableseergebnisse zwischen Probanden/Patienten und Laborpersonal mit den naßchemisch bestimmten PSA Konzentrationen (Access Hybritech) zeigt Abbildung 10. Die Gesamtübereinstimmung zwischen Teststreifenergebnissen und naßchemisch gemessenen PSA Konzentrationen betrug 76% für Probanden/Patienten und 79% für Laborpersonal ($p = 0,3$). Im PSA Konzentrationsbereich in der Nähe des Teststreifen-Grenzwertes (3,1–5 ng/ml) sank die Übereinstimmung auf 40%, unabhängig von der Erfahrung des Ablesers. Der Verlust an diagnostischer Aussagekraft in diesem Konzentrationsbereich ist wesentlich bedingt durch die schlechte Erkennung von PSA Konzentrationen > 4 ng/ml (Sensitivität 17%). Im niedrigeren PSA Konzentrationsbereich (0,1–3 ng/ml) und im höheren Bereich (10,1–29,7 ng/ml) ergaben sich Übereinstimmungen in 89% und 78%. Im PSA Konzentrationsbereich mit der größten Bedeutung für Früherkennungsuntersuchungen 2,1–10 ng/ml wurde eine Übereinstimmung zwischen Teststreifen und naßchemischem Meßergebnis in 53% (Sensitivität 50%, Spezifität 67%) gefunden. Die differenzierte Darstellung der Ableseergebnisse für Probanden/Patienten und Laborpersonal ist in Tabelle 2 dargestellt. Für die Gruppe der Patienten, charakterisiert durch einen breiteren PSA-Konzentrationsbereich (0,3–29,7 ng/ml) und einer höheren Inzidenz an erhöhten PSA-Konzentrationen, ergab sich eine ähnliche Sensitivität und Spezifität (65% und 61%). Im Gegensatz hierzu zeigte sich bei den freiwilligen Probanden eine hohe Treffsicherheit für die vorherrschenden nicht-erhöhten PSA-Konzentrationen (Spezifität 92%), allerdings wurde keine der acht PSA-Konzentrationen > 4 ng/ml erkannt (Sensitivität 0%). Während für einen zugewiesenen Patienten ein positives Teststreifenergebnis mit hoher Wahrscheinlichkeit für eine PSA-Konzentration > 4 ng/ml spricht (PPV 92%), sind

bei den freiwilligen Probanden alle 12 positiven Teststreifenergebnisse falsch (PPV 0%). Umgekehrt ist der negative Vorhersagewert der Teststreifenergebnisse bei den freiwilligen Probanden hoch (94%), aber niedrig für die zugewiesenen Patienten (20%). Bei den 13 Probanden, die die Testkammer nur durch Abstreifen des Blutes, statt durch Abtropfen, füllen konnten zeigten alle Teststreifen eine vollständige Kontroll-Linie. In dieser Gruppe war ein Proband mit erhöhtem PSA-Wert, das Teststreifenergebnis war falsch-positiv. Einer der 12 Männer mit einer PSA-Konzentration unter dem Grenzwert interpretierte das Resultat als positiv. Der Anteil korrekt interpretierter Teststreifenergebnisse unterschied sich nicht signifikant zwischen Männern mit (n = 33) und ohne (n = 268) Farbsehschwäche (p = 0,09).

Tabelle 1

Interpretation der Teststreifenergebnisse im Vergleich zu quantitativen Meßergebnissen in Abhängigkeit vom PSA-Konzentrationsbereich.

PSA-Bereich [ng/ml]	Probanden-Ablesung			
	Richtig	Falsch	Gesamt	%Falsch
0,1-30	230	72	302	24%
0,1-2	131	13	144	9%
2,1-4	13	7	20	35%
4,1-10	43	42	85	49%
10,1-20	28	10	38	26%
20,1-30	14	1	15	7%
0,1-3	137	19	156	12%
5-10	40	32	72	44%

Tabelle 2

Alter, Konzentrationsbereiche für T- und F-PSA und F/T-PSA-Quotient getrennt nach freiwilligen Probanden und zugewiesenen Patienten.

		Alter	T-PSA	F-PSA	F-PSA/T-PSA
Probanden	Minimum	42	0,01	0,24	0,08
	Maximum	79	11,28	3,36	0,31
	Mittelwert	56	1,27	0,78	0,18
	Median	57	0,86	0,53	0,17
Patienten	Minimum	39	0,34	0,13	0,03
	Maximum	78	114,65	28,56	0,33
	Mittelwert	64	12,46	1,63	0,13
	Median	64	8,33	1,01	0,13
Alle	Minimum	39	0,01	0,13	0,03
	Maximum	79	114,65	28,56	0,33
	Mittelwert	60	6,90	1,54	0,14
	Median	60	2,85	0,93	0,13

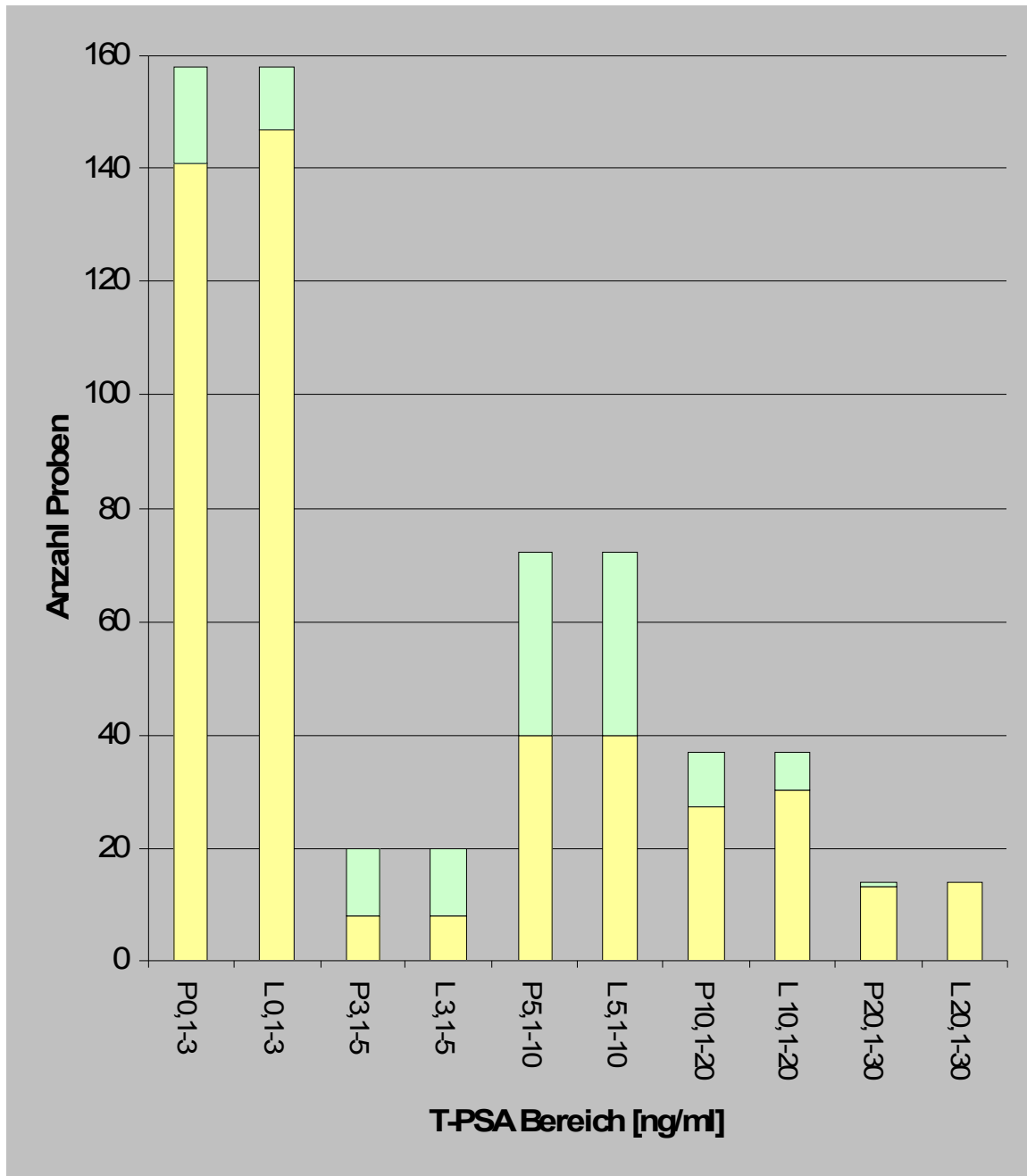


Abbildung 2

Interpretation des Teststreifenergebnisses getrennt nach PSA-Konzentrationsbereich und Untersucher (L = Laborpersonal; P = Proband; Zahlenangabe entspricht quantitativem PSA-Konzentrationsbereich; obere Balkenmarkierung = Ableseergebnis stimmt nicht mit quantitativem Meßergebnis überein).

5 Diskussion

Untersucher der Princeton BioMeditech Corp. [52] waren die ersten, die Ergebnisse zu einem Serum-basierten semiquantitativen Teststreifen im Jahr 1994 publizierten. Der immunochromatographische PSA-Teststreifen (BioSign) wurde an 542 klinisch definierten Serumproben erprobt und die Testergebnisse wurden mit quantitativ bestimmten PSA-Konzentrationen, gemessen mit Hybritech-Tandem-E, verglichen. Die berichtete Übereinstimmung zwischen Teststreifenergebnissen und Tandem-E für eine untere Nachweisgrenze des Teststreifens von 4 ng/ml liegt bei 100% in allen Proben über 6 ng/ml. In den PSA-Konzentrationsbereichen 0–2, 2–4 und 4–6 ng/ml wurden Übereinstimmungen von 97,8%; 93,1% und 94,8% gefunden. Allerdings wurde in dieser Studie die Intensität der Testlinie mit einem Densitometer gemessen. In einer späteren Untersuchung überprüften Lein et al. [98] das selbe Teststreifensystem an 161 Serumproben (PSA-Konzentrationsbereich 0,3–23,5 ng/ml). In dieser Untersuchung wurden die Teststreifenergebnisse visuell von zwei Untersuchern abgelesen und mit drei quantitativen PSA-Meßverfahren (Hybritech Tandem-E, Abbott IMx, Byk-Sangtec LIA-mat) verglichen. Basierend auf einem Grenzwert von 4 ng/ml waren 11–37% der Teststreifenergebnisse falsch negativ und 4–15% waren falsch positiv in der Vorhersage der Ergebnisse der drei quantitativen Meßverfahren. Für den gesamten PSA-Konzentrationsbereich lagen die Sensitivitäten und Spezifitäten zwischen 56–79% und 92–97%, je nachdem, welches der drei quantitativen Meßverfahren zum Vergleich benutzt wurde. Die gleiche Arbeitsgruppe [85] berichtete später über vier weitere kommerziell erhältliche PSA-Teststreifen (Chembio, Medpro Ltd., Seratec, and Syntron). 99 Serumproben (67 unterhalb und 32 oberhalb des Grenzwertes von 4 ng/ml) wurden von zwei Untersuchern abgelesen und mit den quantitativen Ergebnissen, gemessen mit Immulite DPC verglichen. Die Sensitivität und Spezifität der vier Teststreifensysteme lag zwischen 67–93% und 87–97%.

Madersbacher et al. [107] berichteten über den Teststreifen Oncoscreen-PSA (FF Diagnostic, Köln). 238 Teststreifenergebnisse wurden durch die Autoren abgelesen und mit quantitativen Meßergebnissen (Tandem-E) verglichen. Die berichteten Übereinstimmungen sind exzellent für Tandem-E

Konzentrationen unter 2 ng/ml und über 10 ng/ml. Allerdings sinkt die Übereinstimmung im Konzentrationsbereich 2–10 ng/ml auf 63,2% und 86,7%. Kürzlich berichteten Berg et al. [28, 28] über ein Teststreifensystem, das die Verwendung von Vollblut ermöglicht (Vertreiber: Cardimac GmbH, Lüdersdorf) und nicht die Verwendung von Serum erfordert. In einer ersten Untersuchung an 190 Männern wurden die Teststreifenergebnisse mit quantitativen Meßwerten (Abbott IMx) verglichen. In dieser Studie erreichte der Teststreifen eine Spezifität von 83,8% bei einer Sensitivität von 90,5% für die korrekte Vorhersage der quantitativen Meßergebnisse unter ($n = 74$) oder über ($n = 116$) dem Grenzwert von 4.0 ng/ml. Falsche Teststreifenergebnisse waren besonders häufig in der Nähe des Grenzwertes, d.h. im Konzentrationsbereich von 3–5 ng/ml. In dieser Studie bleibt unklar, ob die Teststreifenuntersuchungen von Probanden oder Laborpersonal durchgeführt und interpretiert wurden. Da die Verwendung von Vollblut einen Einsatz des Teststreifens ohne Zentrifuge und Laborpersonal möglich machte, wurde eine große, bevölkerungsbezogene Untersuchung angeschlossen. In dieser Studie [29, 32] wurde in 28 Apotheken in Jena der Teststreifen vom Vertreiber (Hoyer-Madaus GmbH & Co. KG, Monheim) kostenlos angeboten. 2322 Männer nahmen an der Studie teil. Eine gravierende methodische Schwäche der Untersuchung besteht darin, dass kein Mann mit negativem Teststreifenergebnis und nur 82 von 349 Männern mit positivem Teststreifenergebnis (i.e. 3,5% der Studienpopulation) durch quantitative PSA-Meßergebnisse nachuntersucht wurden. Bei den wenigen nachuntersuchten Männern lag die Übereinstimmung zwischen semi-quantitativem und konventionellem PSA-Meßergebnis bei nur 50% [29].

Im Vergleich zu der bislang veröffentlichten Literatur zu PSA-Teststreifen ist die Leistungsfähigkeit des von uns untersuchten Teststreifens enttäuschend. Neben einer möglichen technischen Unterlegenheit des untersuchten Teststreifens kommen eine Reihe weiterer Gründe hierfür in Betracht. Erstens kann die Nutzung von Vollblut im Vergleich zu Serum zu einer schlechteren Migration des Probenmaterials auf dem Chromatographiestreifen führen. Zweitens ist durch die Anwesenheit von Hämoglobin die Ablesbarkeit der Testlinie möglicherweise eingeschränkt. Drittens können die gut beschriebenen Unterschiede zwischen quantitativen PSA-Meßverfahren einen Vergleich mit Teststreifenergebnissen erschweren [98, 138, 140]. Viertens wurde in den meisten Untersuchungen die Testdurchführung und –interpretation von geübtem Laborpersonal vorgenommen

und nicht durch die Probanden. Schließlich bestätigen unsere Untersuchungsergebnisse, dass die Testleistung stark von der untersuchten Studienpopulation und speziell der PSA-Konzentrationsverteilung in der Population abhängig ist. Hierbei ist von besonderer Bedeutung, wie hoch die Prävalenz von PSA-Konzentrationen oberhalb des Teststreifengrenzwertes in der untersuchten Population ist. In unserer Untersuchung liegt die Gesamtübereinstimmung zwischen Teststreifen und konventionellem quantitativen Meßverfahren bei 79% mit einem Trend zu schlechteren Ergebnissen für die Ablesungen durch Probanden. Besonders schlecht sind die Teststreifenergebnisse im Konzentrationsbereich nahe des Grenzwertes von 4 ng/ml. Die separate Auswertung der Testergebnisse für Patienten und gesunde Freiwillige ergibt deutlich diskrepante Teststreifen-Leistungen in Abhängigkeit von den unterschiedlichen PSA-Konzentrationsverteilungen. Bei gesunden Freiwilligen, mit wenigen und nur leichten PSA-Konzentrationserhöhungen > 4 ng/ml ist die Sensitivität und der positive Vorhersagewert des Teststreifens ausgesprochen schlecht. Analysiert man alle Patienten und Freiwilligen mit PSA-Konzentrationen zwischen 2,1–10 ng/ml so entsteht eine artifizielle Inzidenz von PSA-Erhöhungen > 4 ng/ml von 45% und die Sensitivität erreicht 50% bei einer Spezifität von 67%. Für diese Subpopulation besteht eine Gesamtübereinstimmung zwischen Teststreifenergebnis und quantitativem Meßwert von 53% und überschreitet somit die Ratewahrscheinlichkeit nur unwesentlich.

Diese schlechten analytischen Teststreifenleistungen führen zu vermeidbaren psychologischen Belastungen für Probanden mit falsch-positiven Ergebnissen. Darüberhinaus führen falsch-negative Teststreifenergebnisse, die wohl nur in den seltensten Fällen mit quantitativen Verfahren kontrolliert werden, zu einer Verzögerung notwendiger weiterer diagnostischer Maßnahmen.

Die Zusammenfassung der Literatur zu PSA-Teststreifen legt nahe, dass serum-basierte Methoden (die Laborpersonal für die Probenbehandlung erfordern, das auch die Testinterpretation vornehmen kann) zum Teil vielversprechende, aber auch stark diskrepante Ergebnisse im Vergleich zu quantitativen Meßverfahren ergaben. Während die Sensitivität und Spezifität der Teststreifenergebnisse in den meisten Studien auf den ersten Blick günstig erscheinen, steigen die Quoten an falsch positiven und wichtiger noch falsch negativen Testergebnissen in der Nähe des gewählten Grenzwertes stark an. Durch das hier untersuchte

Teststreifensystem, mit der Möglichkeit Vollblut als Probenmaterial zu verwenden, wurde eine Möglichkeit für die eigenständige Selbstuntersuchung größerer Bevölkerungsgruppen geschaffen und vermarktet. Allerdings besitzt das System nach unserer Untersuchung erhebliche Schwachstellen. Die Annahme, dass Teststreifen einfach in der Anwendung sind, konnte nicht bestätigt werden: einer von vier freiwilligen Probanden war nicht in der Lage, die Stichinzision zur Blutgewinnung ohne Hilfe durchzuführen. Darüberhinaus beobachteten wir häufig Schwierigkeiten bei der Testinterpretation, da der Farbumschlag der Testlinie oft nur sehr schwach ist. Obwohl geübte Untersucher im Mittel eine etwas zutreffendere Testinterpretation durchführten, zeigen unsere Ergebnisse, dass Übung alleine nicht zwangsläufig zu einer korrekten Testinterpretation führt.

6 Schlußfolgerung

Abgesehen von Schwierigkeiten bei der Testhandhabung und –interpretation ist die Quote von falsch positiven und falsch negativen Teststreifenergebnissen enttäuschend, selbst wenn PSA-Konzentrationen in der Nähe der Teststreifen-Nachweisgrenze (4 ng/ml) unberücksichtigt bleiben. Geübtes Laborpersonal zeigte einen Trend zu geringfügig besseren Testinterpretationen als ungeübte Probanden bei niedrigen und hohen PSA-Konzentrationen (0,1–3 ng/ml und 10,1–29,7 ng/ml). Die Testergebnisse im klinisch relevanten PSA-Konzentrationsbereich von 2,1–10 ng/ml sind unbefriedigend und überschreiten die Ratewahrscheinlichkeit nicht.

7 Abkürzungsverzeichnis

ACT	α 1-Antichymotrypsin
AMG	α 2-Makroglobulin
AS	Aminosäure(n)
BPH	benigne Prostatahyperplasie
bPSA	Form des freien PSA, enzymatisch inaktiv mit gelösten Polypeptidbindungen an den Aminosäureresten Lys145-146 und Lys182-183, kommt besonders in der Übergangszone bei benigner Prostatahyperplasie vor
Da	Dalton: Die Masse eines Moleküls (Molekular-„Gewicht“) wird häufig in Dalton (keine SI-Einheit) ausgedrückt, wobei 1 Dalton = 1/12 der Masse eines ^{12}C -Atoms = $1\text{g}/\text{Lohschmidtsche Zahl} = 1\text{g}/(6,0225210 \cdot 10^{23})$. 1 Dalton = $1,66 \cdot 10^{-24}\text{g}$
DRU	digitale rektale Untersuchung
EC	Enzyme Code, internationale Übereinkunft zur Klassifizierung von Enzymen, bestehend aus einer Ziffernfolge, basierend auf dem jeweils katalysierten Reaktionstyp.
f-PSA	freies, nicht komplexiertes PSA, das in der Samenflüssigkeit enzymatisch aktiv oder inaktiv, im Serum wahrscheinlich enzymatisch inaktiv ist
f/t-PSA	Quotient aus der Serumkonzentration des freien PSA (f-PSA) und der des Gesamt-PSA (t-PSA).
g	Fliehkraft beim Zentrifugieren
hK1	humanes Kallikrein 1, formale Bez. für pancreatic/renal kallikrein (hPRK)
hK2	humanes Kallikrein 2, formale Bez. für human glandular Kallikrein (hGK-1)
hK3	humanes Kallikrein 3, formale Bez. für prostataspezifisches Antigen (PSA)
IGF	insulin-like growth factor
IGFBP-3	insulin-like growth factor binding protein 3
kDa	Kilo Dalton: 1 kDa = 10 ³ Dalton
KG	Körpergewicht

ml	Milliliter: 10^{-3} Liter
ng	Nanogramm: 10^{-9} Gramm
n.s.	nicht signifikant
PA	Prostata Antigen, später PSA genannt
PAP	prostataspezifische saure Phosphatase
PCa	Prostatakarzinom
pI	isoelektrischer Punkt (Nettoladung 0) eines Proteins innerhalb eines pH-Gradienten
pH	Wasserstoffionenkonzentration
pro-hK2	Vorläufermolekül des hK2 mit 244 AS, nach autokatalytischer Abspaltung von 7 AS reifes aktives hK2
pro-PSA	Vorläufermolekül des PSA mit 244 AS, nach Abspaltung von 7 AS durch aktives hK2 entsteht reifes aktives PSA
PSA	prostataspezifisches Antigen
PSA-ACT	PSA kovalent an α 1-Antichymotrypsin gebunden, Haupt-PSA-Form im Serum
PSA-AT	PSA kovalent an α 1-Antitrypsin gebunden, Spuren im Serum nachweisbar
PSA-AMG	PSA kovalent an α 2-Makroglobulin gebunden und hiervon umschlossen, nicht meßbar mit immunologischen Assays
PSA-IT	PSA kovalent an Inter- α -trypsin-inhibitor gebunden, Spuren im Serum nachweisbar
PSA-PCI	PSA kovalent an Protein-C-inhibitor gebunden, untergeordnete Komponente in der Samenflüssigkeit, im Serum nicht nachweisbar
pT	histopathologisches Tumorstadium
RT-PCR	reverse transcriptase-polymerase chain reaction: Mit Hilfe der reversen Transkriptase ist es möglich, unter Verwendung von mRNA als Sonde mRNAs in doppel-strängige DNA zu überschreiben
SAS	Computer Programm zur statistischen Auswertung
SDS	sodium dodecyl sulfate = Natriumdodecylsulfat, ein negativ geladenes Detergens, das Wechselwirkungen von Proteinen mit anderen Proteinen aufhebt, wenn es sich mit seinem Fettsäureanteil an hydrophobe Bereiche von Proteinen bindet

SDS-PAGE	sodium dodecyl sulfatepolyacrylamidgelelektrophorese: Verfahren zur Auftrennung eines Proteingemisches in seine einzelnen Proteinfractionen nach Molekül-größe, wo-bei die durch das SDS negativ geladenen Proteine in einem elektrischen Feld durch ein Polyarylamidgelnetz zur positiven Elektrode wandern; je nach Porengröße des Gelnetzes ziehen kleine Moleküle dabei durch die Poren des Gels, während größere Proteine direkt an der Elektrode ankommen. Dieses Phänomen läßt sich in Gelen mit definierter Porengröße zur Bestimmung des Molekularge-wichtes von Proteinen aus-nutzen
SE	standard error of the mean ($SE = STD * \sqrt{n}$)
SEC	serine enzyme complex
StD	Standardabweichung (Quadratwurzel aus der Varianz)
Serpin	serin protease inhibitor
SPSS	Computer Programm zur statistischen Auswertung
TGF beta	transforming growth factor beta
TNM	System zur Klassifizierung von Tumorstadien, Lymphknoten- und Fernmetasta-sen. In der vorliegenden Arbeit wird das System in seiner Fassung aus dem Jahre 1992 benutzt ¹⁴⁰ .
t-PSA	Gesamt-PSA: alle durch immunologische Assays erkennbare PSA-ACT und f-PSA-Formen im Serum, Hauptbestandteile f-PSA und PSA-ACT
TRUS	Transrektale Ultraschalluntersuchung der Prostata
TZ	Transitional-Zone = Übergangszone der Prostata nach McNeal
uPA	urokinase-type plasminactivator. Serinprotease, die Plasminogen in die aktive Pro-tease Plasmin überführt

8 Lebenslauf

Name: Stefan Hetzel

Geburtsdatum: 03.01.1962

Geburtsort: Greven

Schule: 1968-1972 Josefsgrundschule Greven
1972-1982 Gymnasium Augustinianum Greven

Studium: 1982-1983 Humanmedizin an der WWU Münster
1983-1984 Zivildienst an der Frauenklinik der WWU
1985-1992 Fortsetzung des Medizinstudiums
1992-1993 PJ an der Universitätsklinik in Münster
1/1995 Approbation als Arzt

Beruflicher Werdegang:

7/1993-1/1995 AIP in der Inneren Abteilung des
evangelischen KH Lengerich

1/1995-12/1998 Assistenzarzt Innere Abteilung KH Lengerich

1/1999-6/2001 Assistenzarzt Chirurgische Abteilung KH
Lengerich

12/2000 Annerkennung zum Arzt für Allgemeinmedizin

7/2001 Zusatzbezeichnung Sportmedizin

01.07.2001 Niederlassung als Arzt für Allgemeinmedizin in
eigener Praxis in Greven

Greven, 03.10.2004

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mir meine Promotion ermöglichten: Prof. Dr. Hertle und PD Dr. Semjonow danke ich für die Möglichkeit, in der Urologie der WWU Münster meine Promotionsarbeit anfertigen zu dürfen.

Insbesondere danke ich Dr. Semjonow, meinem wissenschaftlichen Betreuer, für die interessante Promotionsthematik, seine stete Hilfsbereitschaft und die angenehme Atmosphäre bei unseren Treffen.

Weiterhin möchte ich die Gelegenheit nutzen, Frau Francoise Flammang, Frau Beate Pepping-Schefers und Frau Hildegard Bürgel für ihren unermüdlichen Einsatz zu danken ohne deren Hilfe die naßchemischen PSA Messungen nicht möglich gewesen wären.

Den Geschäftsführern Dr. Heinrich Matthee (Firma Dyckerhoff) und Dr. Jürgen Vutz (Firma Windmüller und Hölscher) gebührt mein Dank für die Zustimmung und Möglichkeit der Durchführung meiner Untersuchungen während der Arbeitszeit der Probanden, sowie der Bereitstellung geeigneter Räume.

Ebenso danke ich den jeweiligen Betriebsärzten Dr. Franz Aufmkolk und Winfried Meyer für ihre Unterstützung bei der Durchsetzung meines Vorhabens.

Diese Arbeit wäre nicht möglich gewesen ohne die Unterstützung meiner Familie. Besonderer Dank gilt meiner Frau Charlotte für die tatkräftige Mithilfe bei meiner Arbeit.

Meinen Freunden Annemarie Harjans und Oliver Gaubitz sage ich "danke" für die Durchsicht des Manuskriptes und insbesondere Oliver für die Herstellung des Kontaktes zu Dr. Semjonow.

Den Probanden der beiden o.g. Firmen, den Probanden der Herzsportgruppe Lengerich sowie den Patienten der Uniklinik Münster danke ich für ihre Teilnahme. Die Untersuchung wurde durch die kostenlose Bereitstellung der PSA Teststreifen durch die Hoyer-Madaus GmbH & Co. KG, Monheim, unterstützt. Auch hierfür gilt mein Dank.

Abschließend bedanke ich mich bei meinen Eltern, ihnen widme ich diese Promotionsarbeit.

Anhang



WESTFÄLISCHE
WILHELMS-UNIVERSITÄT
MÜNSTER

Klinik und Poliklinik für Urologie

DIREKTOR: UNIV. PROF. DR. MED. L. HERTLE

Univ. Münster - Klinik und Poliklinik für Urologie
Albert-Schweitzer-Str. 33 - 48129 Münster

Münster, Januar 2001
Hausadresse:
Albert-Schweitzer-Str. 33, 48149 Münster
Telefonvermittlung (0251) 834-8001
Telefax (0251) 834-8492
Telefon: Durchwahl (0251) 83474-62/-43
Zeichen: Sem/Waldek
e-mail: semjono@uni-muenster.de

Sehr geehrter Herr „Name“

vielen Dank für Ihre Bereitschaft an unserer Untersuchung teilzunehmen. Mit diesem Test soll herausgefunden werden, ob eine bösartige Erkrankung der Prostata mit Hilfe eines Teststreifens nachweisbar ist. Hierzu ist eine Blutropfen Entnahme aus dem Finger und aus einer Vene am Arm erforderlich. Sollte diese Untersuchung bei Ihnen den Verdacht auf eine bösartige Erkrankung der Prostata ergeben, werden wir Ihnen weiterführende diagnostische Maßnahmen (eine Probeentnahme aus der Prostata) bei einem niedergelassenen Urologen Ihrer Wahl empfehlen.

Ist das Ergebnis dieser Untersuchung unauffällig, ist das Vorliegen einer bösartigen Prostataerkrankung zwar unwahrscheinlich, aber doch möglich. Unsere Untersuchung ersetzt **nicht** die Vorsorgeuntersuchung, wie sie von den Krankenkassen empfohlen wird.

Sie können Ihre Bereitschaft zur Teilnahme an dieser Untersuchung jederzeit und ohne Begründung zurückziehen, Nachteile entstehen Ihnen daraus nicht.

Nochmals vielen Dank für Ihre Teilnahme,
mit freundlichen Grüßen,

Dr. Aufmkolk
Betriebsarzt

St. Hetzel
Ass.-Arzt

Dr. A. Semjonow
Ltd. Oberarzt Klinik für Urologie

10 Literaturverzeichnis

1. Ablin RJ.
A retrospective look at studies on prostate-specific antigen.
Clin Chem 1985; 31: 497-8.
2. Ablin RJ.
The identification of prostate-specific antigen.
Eur J Surg Oncol 1990; 16: 273.
3. Ablin RJ.
The identification of prostate-specific antigen.
J Clin Lab Anal 1991; 5: 78.
4. Ablin RJ.
Re: Circulating prostate specific antigen-positive cells correlate with metastatic prostate cancer.
Br J Urol 1993; 71: 761-2.
5. Ablin RJ.
On the identification and characterization of prostate-specific antigen.
Hum Pathol 1993; 24: 811-2.
6. Ablin RJ.
A retrospective and prospective overview of prostate-specific antigen.
Journal of Cancer Research & Clinical Oncology 1997; 123: 583-94.
7. Ablin RJ.
Prostate-specific antigen: chronology of its identification [corrected and republished in Oncology (Huntingt) 1998 Jul;12(7):1016].
Oncology 1998; 12: 722.
8. Ablin RJ.
Prostate-specific antigen: chronology of its identification [corrected and republished article originally printed in Oncology (Huntingt) 1998 May;12(5):722]; Comment on: Oncology (Huntingt) 1997 Sep;11(9):1273-8; discussion 1279-82.
Oncology Huntingt 1998; 12: 1016.
9. Akiyama K, Nakamura T, Iwanaga S, Hara M.
The chymotrypsin-like activity of human prostate-specific antigen, gamma-seminoprotein.
FEBS Lett 1987; 225: 168-72.

10. Allsbrook WC, Simms W, Steinsapir J.
Re: zu Ablin RJ (759a).
Hum Pathol 24: 811-812, 1993.
11. Andrews PE, Young CY, Montgomery BT, Tindall DJ.
Tumor-promoting phorbol ester down-regulates the androgen induction of prostate-specific antigen in a human prostatic adenocarcinoma cell line.
Cancer Res 1992; 52: 1525-9.
12. Armbruster DA.
Prostate-specific antigen: biochemistry, analytical methods, and clinical application.
Clin Chem 1993; 39: 181-95.
13. Aumüller G, Seitz J, Lilja H, Abrahamsson PA, von der Kammer H, Scheit KH.
Species- and organ-specificity of secretory proteins derived from human prostate and seminal vesicles.
Prostate 1990; 17: 31-40.
14. Babaian RJ, Fritsche HA, Evans RB.
Prostate-specific antigen and prostate gland volume: correlation and clinical application.
J Clin Lab Anal 1990; 4: 135-7.
15. Ban Y, Wang MC, Watt KW, Loor R, Chu TM.
The proteolytic activity of human prostate-specific antigen.
Biochem Biophys Res Commun 1984; 123: 482-8.
16. Bangma CH.
Reihenuntersuchungen zur Entdeckung von Prostatakarzinomen.
Urologe [A] 2000; 39: 334-40.
17. Bangma CH, Blijenberg BG, Schröder FH.
Prostate-specific antigen: its clinical use and application in screening for prostate cancer.
Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation 1995; 221: 35-44.
18. Bangma CH, Hop WCJ, Schröder FH.
Serial prostate specific antigen measurements and progression in untreated confined (stages T0 to 3NxM0, grades 1 to 3) carcinoma of the prostate.
J Urol 1995; 154: 1403-6.
19. Bangma CH, Kranse R, Blijenberg BG, Schröder FH.
The value of screening tests in the detection of prostate cancer. Part I: Results of a retrospective evaluation of 1726 men.
Urology 1995; 46: 773-8.
20. Bangma CH, Rietbergen JB, Kranse R, Blijenberg BG, Petterson K, Schröder FH.

The free-to-total prostate specific antigen ratio improves the specificity of prostate specific antigen in screening for prostate cancer in the general population.

J Urol 1997; 157: 2191-6.

21. Bangma CH, Rietbergen JB, Schröder FH.
Prostate-specific antigen as a screening test. The Netherlands experience.
Urol Clin North Am 1997; 24: 307-14.
22. Bauer JJ, Zeng J, Zhang W, McLeod DG, Sesterhenn IA, Connelly RR, Mun SK, Moul JW.
3-D computer visualization and interactive prostate biopsy simulation leads to an improved systematic technique for the detection of prostate cancer: clinical correlation.
Stud Health Technol Inform 2000; 70: 20-5.
23. Bauer JJ, Zeng J, Zhang W, McLeod DG, Sesterhenn IA, Connelly RR, Mun SK, Moul JW.
Lateral biopsies added to the traditional sextant prostate biopsy pattern increases the detection rate of prostate cancer.
Prostate Cancer Prostatic Dis 2000; 3: 43-6.
24. Behre HM, Bohmeyer J, Nieschlag E.
Prostate volume in testosterone-treated and untreated hypogonadal men in comparison to age-matched normal controls.
Clin Endocrinol (Oxf) 1994; 40: 341-9.
25. Bell FW, Klausner JS, Hayden DW, Lund EM, Liebenstein BB, Feeney DA, Johnston SD, Shivers JL, Ewing CM, Isaacs WB.
Evaluation of serum and seminal plasma markers in the diagnosis of canine prostatic disorders.
J Vet Intern Med 1995; 9: 149-53.
26. Benson MC, Whang IS, Olsson CA, McMahon DJ, Cooner WH.
The use of prostate specific antigen density to enhance the predictive value of intermediate levels of serum prostate specific antigen.
J Urol 1992; 147: 817-21.
27. Berg T, Bradshaw RA, Carretero OA, Chao J, Chao L, Clements JA, Fahnstock M, Fritz H, Gauthier F, MacDonald RJ, et al.
A common nomenclature for members of the tissue (glandular) kallikrein gene families.
Recent progress on kinins.
Agents Actions 1992; 38: 19-25.
28. Berg W, Eschholz G, Linder C, Link S, Schubert J.
Einfacher Schnell- und Suchtest für PSA im Vollblut - Voraussetzung für ein Früherkennungsprogramm des Prostatakarzinoms.
Aktuelle Urologie 1998; 29: 120-3.

29. Berg W, Eschholz G, Linder CSJ.
Anwenderstudie zur Praxisrelevanz eines PSA-Schnelltests im Früherkennungsprogramm des Prostatakarzinoms.
Urologe B 2000; 4: 353-7.
30. Berg W, Eschholz G, Schubert J.
Neue Möglichkeiten der Früherkennung des Prostatakarzinoms durch Innovationen in der Tumormarkerbestimmung.
Ärzteblatt Thüringen 1997; 8: 427-9.
31. Berg W, Linder C, Eschholz G, Link S, Schubert J.
Possibility of improving the acceptance rate of early detection testing for prostate cancer with a one-step test for prostate-specific antigen in whole blood.
Urol Int 1999; 63: 102-6.
32. Berg W, Linder C, Eschholz G, Schubert J.
Pilot study of the practical relevance of a one-step test for prostate-specific antigen in capillary blood to improve the acceptance rate in the early detection program of prostate carcinoma.
Int Urol Nephrol 2001; 32: 381-8.
33. Bjartell A, Björk T, Matikainen MT, Abrahamsson PA, di Sant'Agnese A, Lilja H.
Production of alpha-1-antichymotrypsin by PSA-containing cells of human prostate epithelium.
Urology 1993; 42: 502-10.
34. Björk T. Metabolism of free and complexed prostate-specific antigen and their utility for diagnosis and prognosis of prostate cancer. Doctoral Dissertation. Malmö: Lund University, Malmö, 1998.
35. Bosch JL, Hop WC, Bangma CH, Kirkels WJ, Schröder FH.
Prostate specific antigen in a community-based sample of men without prostate cancer: correlations with prostate volume, age, body mass index, and symptoms of prostatism.
Prostate 1995; 27: 241-9.
36. Brawer MK.
Laboratory studies for the detection of carcinoma of the prostate.
Urol Clin North Am 1990; 17: 759-68.
37. Brawer MK, Lange PH.
Prostate-specific antigen in management of prostatic carcinoma.
Urology 1989; 33 (Suppl): 11-6.
38. Bridon DP, Dowell BL.

- Structural comparison of prostate-specific antigen and human glandular kallikrein using molecular modeling.
Urology 1995; 45: 801-6.
39. Brössner C, Madersbacher S, Klingler HC, Pycha A, Kuber W, Marberger M.
A comparative study of a double-line versus a fan-shaped technique for obtaining transrectal ultrasound-guided biopsies of the prostate.
Eur Urol 1998; 33: 556-61.
 40. Carter HB, Pearson JD.
Prostate-specific antigen velocity and repeated measures of prostate-specific antigen.
Urol Clin North Am 1997; 24: 333-8.
 41. Carter HB, Pearson JD, Metter EJ, Brant LJ, Chan DW, Andres R, Fozard JL, Walsh PC.
Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease.
JAMA 1992; 267: 2215-20.
 42. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A, Richie JP, deKernion JB, Walsh PC, Scardino PT, Lange PH, Subong EN, Parson RE, Gasior GH, Loveland KG, Southwick PC.
Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial.
JAMA 1998; 279: 1542-7.
 43. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL, Waters WB, MacFarlane MT, Southwick PC.
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 1994; 151: 1283-90.
 44. Catalona WJ, Richie JP, deKernion JB, Ahmann FR, Ratliff TL, Dalkin BL, Kavoussi LR, MacFarlane MT, Southwick PC.
Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves.
J Urol 1994; 152: 2031-6.
 45. Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK.
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 1997; 277: 1452-5.
 46. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Basler JW.
Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-

- based screening.
JAMA 1993; 270: 948-54.
47. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Dodds KM, Coplen DE, Yuan JJ, Petros JA, Andriole GL.
Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer.
N Engl J Med 1991; 324: 1156-61.
48. Catalona WJ, Smith D, Ratliff T.
Value of measurements of the rate of change of serum PSA levels in prostate cancer screening AUA 88th Annual Meeting, San Antonio, May 15-20, 1993.
J Urol 149 (Suppl to 4): 300A 1993.
49. Chan DW, Sokoll LJ.
Prostate-specific antigen: advances and challenges [editorial; comment].
Clin Chem 1999; 45: 755-6.
50. Chang JJ, Shinohara K, Bhargava V, Presti JCJ.
Prospective evaluation of lateral biopsies of the peripheral zone for prostate cancer detection.
J Urol 1998; 160: 2111-4.
51. Chen ME, Troncoso P, Johnston D, Tang K, Babaian R.
Optimization of prostate biopsy strategy using computer based analysis.
J Urol 158: 2168-2175, 1997.
52. Choi YH, Hong MS, Kang RJ, Kang J.
Rapid semi-quantitative assay of prostate-specific antigen in serum.
Clin Chem 1994; 40: 1831-2.
53. Christensson A, Björk T, Nilsson O, Dahlen U, Matikainen MT, Cockett AT, Abrahamsson PA, Lilja H.
Serum prostate specific antigen complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer.
J Urol 1993; 150: 100-5.
54. Coffey DS, Walsh PC.
Clinical and experimental studies of BPH.
Urol Clin North Am 1990; 17: 461-74.
55. Cohen P, Graves HC, Peehl DM, Kamarei M, Giudice LC, Rosenfeld RG.
Prostate-specific antigen (PSA) is an insulin-like growth factor binding protein-3 protease found in seminal plasma.
Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 1992; 75: 1046-53.

56. Cohen P, Peehl DM, Rosenfeld RG.
The IGF axis in the prostate.
Hormone & Metabolic Research 1994; 26: 81-4.
57. Cramer SD, Chen Z, Peehl DM.
Prostate specific antigen cleaves parathyroid hormone-related protein in the PTH-like domain: inactivation of PTHrP-stimulated cAMP accumulation in mouse osteoblasts.
J Urol 1996; 156: 526-31.
58. Davidson D, Bostwick DG, Qian J, Wollan PC, Oesterling JE, Rudders RA, Siroky M, Stilmant M.
Prostatic intraepithelial neoplasia is a risk factor for adenocarcinoma: predictive accuracy in needle biopsies.
J Urol 1995; 154: 1295-9.
59. De Angelis G, Brandt B, Schmid HP, Semjonow A.
Vom Antigen zum Tumormarker, Forschungsergebnisse zu PSA und ihre klinische Umsetzung.
Urologe [A] 2000; 39: 309-12.
60. Deperthes D, Chapdelaine P, Tremblay RR, Brunet C, Berton J, Hébert J, Lazure C, Dubé JY.
Isolation of prostatic kallikrein hK2, also known as hGK-1, in human seminal plasma.
Biochim Biophys Acta 1995; 1245: 311-6.
61. Deperthes D, Frenette G, Brillard-Bourdet M, Bourgeois L, Gauthier F, Tremblay RR, Dube JY.
Potential involvement of kallikrein hK2 in the hydrolysis of the human seminal vesicle proteins after ejaculation.
J Androl 1996; 17: 659-65.
62. Dok An C, Yoshiki T, Lee G, Okada Y.
Evaluation of a rapid qualitative prostate specific antigen assay, the One Step PSA(TM) test.

Cancer Lett 2001; 162: 135-9.
63. Duffy MJ.
PSA as a marker for prostate cancer: a critical review. [Review] [62 refs].
Ann Clin Biochem 1996; 33 : 511-9.
64. Eastham JA, Riedel E, Scardino PT, Shike M, Fleisher M, Schatzkin A, Lanza E, Latkany L, Begg CB.
Variation of serum prostate-specific antigen levels: an evaluation of year-to-year fluctuations.

- JAMA 2003; 289: 2695-700.
65. Elgamal AA, Van Poppel HP, Van de Voorde WM, Van Dorpe JA, Oyen RH, Baert LV.
Impalpable invisible stage T1c prostate cancer: characteristics and clinical relevance in 100 radical prostatectomy specimens--a different view [see comments].
J Urol 1997; 157: 244-50.
 66. Ellis WJ, Chetner MP, Preston SD, Brawer MK.
Diagnosis of prostatic carcinoma: the yield of serum prostate specific antigen, digital rectal examination and transrectal ultrasonography.
J Urol 1994; 152: 1520-5.
 67. Fichtner J, Graves HC, Thatcher K, Yemoto C, Shortliffe LM.
Prostate specific antigen releases a kinin-like substance on proteolysis of seminal vesicle fluid that stimulates smooth muscle contraction.
J Urol 1996; 155: 738-42.
 68. Fornara P, Semjonow A, Hrsg. PSA: Der Weg zum Befund - Präanalytik und Analytik des prostataspezifischen Antigens. München: Zuckschwerdt Verlag, 2002.
 69. Fornara P, Sturm W, Fabricius PG, Schmiedt E.
Klinische Relevanz der radioimmunologischen Bestimmung des prostataspezifischen Antigens (PSA) beim Prostatakarzinom.
Urologe A 1987; 26: 158-61.
 70. Frankel AE, Rouse RV, Wang MC, Chu TM, Herzenberg LA.
Monoclonal antibodies to a human prostate antigen.
Cancer Res 1982; 42: 3714-8.
 71. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ.
A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer.
JAMA 1995; 273: 289-94.
 72. Gauthier ER, Chapdelaine P, Tremblay RR, Dube JY.
Characterization of rhesus monkey prostate specific antigen cDNA.
Biochim Biophys Acta 1993; 1174: 207-10.
 73. Goldfarb DA, Stein BS, Shamszadeh M, Petersen RO.
Age-related changes in tissue levels of prostatic acid phosphatase and prostate specific antigen.
J Urol 1986; 136: 1266-9.
 74. Graefen M, Karakiewicz PI, Cagiannos I, Hammerer PG, Haese A, Palisaar J, Huland E, Scardino PT, Kattan MW, Huland H.

- Percent free prostate specific antigen is not an independent predictor of organ confinement or prostate specific antigen recurrence in unscreened patients with localized prostate cancer treated with radical prostatectomy.
J Urol 2002; 167: 1306-9.
75. Graves HC, Kamarei M, Stamey TA.
Identity of prostate specific antigen and the semen protein P30 purified by a rapid chromatography technique.
J Urol 1990; 144: 1510-5.
76. Graves HCB, Sensabaugh GF, Blake ET.
Postcoital detection of a male-specific protein. Application to the investigation of rape.
N Engl J Med 1985; 312: 338-43.
77. Gutman AB, Gutman EB.
An "acid" phosphatase occurring in the serum of patients with metastasizing carcinoma of prostate gland.
J Clin Invest 1938; 17: 473.
78. Hammerer P, Huland H.
Systematic sextant biopsies in 651 patients referred for prostate evaluation.
J Urol 1994; 151: 99-102.
79. Hara M, Inoue T, Koyanagi Y.
Preparation and immunoelectrophoretic assessment of antisera to human seminal plasma.
Jpn J Legal Med 1966; 20: 356.
80. Hara M, Kayanagi Y, Inoue T, Fukuyama T.
Some physico-chemical characteristics of "Gamma-seminoprotein", an antigenic component specific for human seminal plasma.
Jap J Legal Med 1971; 25: 322-4.
81. Hochmeister MN, Budowle B, Rudin O, Gehrig C, Borer U, Thali M, Dirnhofer R.
Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid.
J Forensic Sci 1999; 44: 1057-60.
82. Hodge KK, McNeal JE, Terris MK, Stamey TA.
Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate.
J Urol 1989; 142: 71-5.
83. Hoekx L, Jeuris W, Van Marck E, Wyndaele JJ.
Elevated serum prostate specific antigen (PSA) related to asymptomatic prostatic

- inflammation.
Acta Urol Belg 1998; 66: 1-2.
84. Hudson MA, Bahnson RR, Catalona WJ.
Clinical use of prostate specific antigen in patients with prostate cancer.
J Urol 1989; 142: 1011-7.
85. Jung K, Zachow J, Lein M, Brux B, Sinha P, Lenk S, Schnorr D, Loening SA.
Rapid detection of elevated prostate-specific antigen levels in blood: performance of various membrane strip tests compared.
Urology 1999; 53: 155-60.
86. Kawakami E, Sato T, Hirano T, Hori T, Tsutsui T.
Disappearance of the PHA-E lectin binding site on the surface of ejaculated sperm and sperm capacitation in the dog.
J Vet Med Sci 2004; 66: 495-500.
87. Keetch DW, Catalona WJ, Smith DS.
Serial prostatic biopsies in men with persistently elevated serum prostate specific antigen values.
J Urol 1994; 151: 1571-4.
88. Keetch DW, Humphrey P, Stahl D, Smith DS, Catalona WJ.
Morphometric analysis and clinical followup of isolated prostatic intraepithelial neoplasia in needle biopsy of the prostate.
J Urol 1995; 154: 347-51.
89. Knoche H. Knoche H (Hrsg) Lehrbuch der Histologie, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 292. 1979.
90. Kojima M, Hayakawa T, Saito T, Mitsuya H, Hayase Y.
Transperineal 12-core systematic biopsy in the detection of prostate cancer.
Int J Urol 2001; 8: 301-7.
91. Kumar A, Mikolajczyk SD, Goel AS, Millar LS, Saedi MS.
Expression of pro form of prostate-specific antigen by mammalian cells and its conversion to mature, active form by human kallikrein 2.
Cancer Res 1997; 57: 3111-4.
92. Kuriyama M, Wang MC, Lee CI, Papsidero LD, Killian CS, Inaji H, Slack NH, Nishiura T, Murphy GP, Chu TM.
Use of human prostate-specific antigen in monitoring prostate cancer.
Cancer Res 1981; 41: 3874-6.
93. Kuriyama M, Wang MC, Papsidero L, Killian C, Shimano T, Valenzuela L, Nishiura T,

- Murphy G, Chu T.
Quantitation of prostate-specific antigen in serum by a sensitive enzyme immunoassay.
Cancer Res 1980; 40: 4658-62.
94. Laffin RJ, Chan DW, Tanasijevic MJ, Fischer GA, Markus W, Miller J, Matarrese P, Sokoll LJ, Bruzek DJ, Eneman J, Nelson J, Bray KR, Huang J, Loveland KG.
Hybritech total and free prostate-specific antigen assays developed for the Beckman Coulter access automated chemiluminescent immunoassay system: a multicenter evaluation of analytical performance.
Clin Chem 2001; 47: 129-32.
95. Lange PH, Ercole CJ, Lightner DJ, Fraley EE, Vessella R.
The value of serum prostate specific antigen determinations before and after radical prostatectomy.
J Urol 1989; 141: 873-9.
96. Lein M, Jung K, Elgeti U, Brux B, Sinha P, Schnorr D, Loening SA.
Ratio of alpha 1-antichymotrypsin--prostate specific antigen to total prostate specific antigen in prostate cancer diagnosis.
Anticancer Res 2000; 20: 4997-5001.
97. Lein M, Jung K, Schnorr D, Henke W, Brux B, Loening SA.
Rapid screening of PSA: evaluation of an immunochemical membrane strip test.
Clin Chem 1995; 41: 1545-7.
98. Lein M, Jung K, Schnorr D, Henke W, Loening SA.
Strip test for the quick detection of increased concentrations of prostate-specific antigen in blood.
European Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry 1996; 34: 511-4.
99. Lerner SE, Seay TM, Blute ML, Bergstralh EJ, Barrett D, Zincke H.
Prostate specific antigen detected prostate cancer (clinical stage T1c): an interim analysis.
J Urol 1996; 155: 821-6.
100. Li TS, Beling CG.
Isolation and characterization of two specific antigens of human seminal plasma.
Fertil Steril 1973; 24: 134-44.
101. Lilja H.
A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein.
J Clin Invest 1985; 76: 1899-903.
102. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen MT, Nilsson O, Pettersson K, Lövgren T.

- Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha-1-antichymotrypsin.
Clin Chem 1991; 37: 1618-25.
103. Lilja H, Oldbring J, Rannevik G, Laurell CB.
Seminal vesicle-secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen.
J Clin Invest 1987; 80: 281-5.
104. Lövgren J, Rajakoski K, Karp M, Lundwall a, Lilja H.
Activation of the zymogen form of prostate-specific antigen by human glandular kallikrein 2.
Biochemical & Biophysical Research Communications 1997; 238: 549-55.
105. Lui PD, Terris MK, McNeal JE, Stamey TA.
Indications for ultrasound guided transition zone biopsies in the detection of prostate cancer.
J Urol 1995; 153: 1000-3.
106. Lundwall A, Lilja H.
Molecular cloning of human prostate specific antigen with cDNA.
FEBS Lett 1987; 214: 317-22.
107. Madersbacher S, Mian C, Maier U, Simak R.
Validation of a 10-minute dipstick test for serum prostate-specific antigen.
Eur Urol 1996; 30: 446-50.
108. Matlaga BR, Eskew LA, McCullough DL.
Prostate biopsy: indications and technique.
J Urol 2003; 169: 12-9.
109. McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE.
Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: a new era.
Urology 1995; 45: 729-44.
110. McGee RS, Herr JC.
Human Seminal vesicle-specific antigen is a substrate for prostate-specific antigen (or P-30).
Biol Reprod 1988; 39: 499-510.
111. McNeal JE.
The zonal anatomy of the prostate.
Prostate 1981; 2: 35-49.

112. Mikolajczyk SD, Millar LS, Marker KM, Grauer LS, Goel A, Cass MM, Kumar A, Saedi MS. Ala217 is important for the catalytic function and autoactivation of prostate-specific human kallikrein 2.
Eur J Biochem 1997; 246: 440-6.
113. Mikuz G. Das Prostatakarzinom in: Böcker W, Denk H, Heitz P (Hrsg) Pathologie Urban Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 793, 1996.
114. Monda JM, Barry MJ, Oesterling JE.
Prostate specific antigen cannot distinguish stage T1a (A1) prostate cancer from benign prostatic hyperplasia.
J Urol 1994; 151: 1291-5.
115. Myrtle JF, Ivor LP.
Measurement of prostate-specific antigen (PSA) in serum by a two-site immunometric method (Hybritech Tandem -R/Tandem -E PSA).
Catalona WJ, Coffey DS, Karr JP). Clinical aspects of prostate cancer: Assessment of new diagnostic and management procedures.
New York: Elsevier Publishing Corp., 1989: pp 161-71.
116. Noguchi M, Stamey TA, Neal JE, Yemoto CE.
An analysis of 148 consecutive transition zone cancers: clinical and histological characteristics.
J Urol 2000; 163: 1751-5.
117. Norberg, M. E, Busch, C.
The sextant protocol for ultrasound core biopsies of the prostate underestimates the presence of cancer.
Urology 50, No.4, 562-566, 1997.
118. Oesterling JE.
Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate.
J Urol 1991; 145: 907-23.
119. Oesterling JE, Cooner WH, Jacobsen SJ, Guess HA, Lieber MM.
Influence of patient age on the serum PSA concentration. An important clinical observation.
Urol Clin North Am 1993; 20: 671-80.
120. Papsidero LD, Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM.
A prostate antigen in sera of prostatic cancer patients.
Cancer Res 1980; 40: 2428-32.
121. Partin AW, Carter HB, Chan DW, Epstein JI, Oesterling JE, Rock RC, Weber JP, Walsh PC.

- Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia.
J Urol 1990; 143: 747-52.
122. Piironen T, Villoutreix BO, 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 1998; 7: 259-69.
123. Presti JC Jr, O'Dowd GJ, Miller MC, Mattu R, Veltri RW.
Extended peripheral zone biopsy schemes increase cancer detection rates and minimize variance in prostate specific antigen and age related cancer rates: results of a community multi-practice study.
J Urol 2003; 169: 125-9.
124. Raviv G, Zlotta AR, Janssen Th, Descamps F, Vanegas JP, Verhest A, Schulman CC.
Do prostate specific antigen and prostate specific antigen density enhance the detection of prostate carcinoma after initial diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia without concurrent carcinoma?
Cancer 1996; 77: 2103-8.
125. Richardson TD, Oesterling JE.
Age-specific reference ranges for serum prostate-specific antigen.
Urol Clin North Am 1997; 24: 339-51.
126. Riegman PH, Vlietstra RJ, Suurmeijer L, Cleutjens CB, Trapman J.
Characterization of the human kallikrein locus.
Genomics 1992; 14: 6-11.
127. Ritchie CK, Andrews LR, Thomas KG, Tindall DJ, Fitzpatrick LA.
The effects of growth factors associated with osteoblasts on prostate carcinoma proliferation and chemotaxis: Implications for the development of metastatic disease.
Endocrinology 1997; 138: 1145-50.
128. Rittenhouse HG, Finlay JA, Mikolajczyk SD, Partin AW.
Human Kallikrein 2 (hK2) and prostate-specific antigen (PSA): two closely related, but distinct, kallikreins in the prostate.
Crit Rev Clin Lab Sci 1998; 35: 275-368.
129. Schaller J, Akiyama K, Tsuda R, Hara M, Marti T, Rickli II.
Isolation, characterization and amino-acid sequence of gamma-seminoprotein, a glycoprotein from human seminal plasma.

- Eur J Biochem 1987; 170: 111-8.
130. Schedlich LJ, Bennetts BH, Morris BJ.
Primary structure of a human glandular kallikrein gene.
DNA 1987; 6: 429-37.
131. Schill WB.
Stimulation of sperm motility by kinins in fresh and 24 hours aged human ejaculates.
Andrologia 1975; 7: 135.
132. Schmid HP, McNeal JE, Stamey TA.
Clinical observations on the doubling time of prostate cancer.
Eur Urol 1993; 23: 60-3.
133. Schmid HP, Prikler L, Sturgeon CM, Semjonow A.
Diagnosis of Prostate Cancer - the Clinical Use of Prostate Specific Antigen.
European Urology EAU Update Series 2003; 1: 3-8.
134. Schröder FH, Hermanek P, Denis L, Fair WR, Gospodarowicz MK, Pavone-Macaluso M.
The TNM classification of prostate cancer.
Prostate 1992; 4: 129-38.
135. Schröder FH, van der Cruijssen-Koeter I, de Koning HJ, Vis AN, Hoedemaeker RF, Kranse R.
Prostate cancer detection at low prostate specific antigen.
J Urol 2000; 163: 806-12.
136. Schröder FH, van der Maas P, Beemsterboer P, Kruger AB, Hoedemaeker R, Rietbergen J, Kranse R.
Evaluation of the digital rectal examination as a screening test for prostate cancer.
Rotterdam section of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer.
J Natl Cancer Inst 1998; 90: 1817-23.
137. Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Hertle L.
Unterschiedliche Bestimmungsverfahren erschweren die Interpretation des prostataspezifischen Antigens.
Urologe A 1995; 34: 303-15.
138. Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Roth S, Hertle L.
Discordance of assay methods creates pitfalls for the interpretation of prostate-specific antigen values.
Prostate 1996; 7: 3-16.
139. Semjonow A, De Angelis G.
"Ultrasensitive" Meßverfahren für das prostataspezifische Antigen (PSA): Wie tief wollen wir

messen?

J Lab Med 2003; 27: 16-9.

140. Semjonow A, De Angelis G, Oberpenning F, Schmid H-P, Brandt B, Hertle L.
The clinical impact of different assays for prostate specific antigen.
BJU Int 2000; 86: 590-7.
141. Semjonow A, Hamm M, Rathert P, Hertle L.
Prostate-specific antigen corrected for prostate volume improves differentiation of benign prostatic hyperplasia and organ-confined prostatic cancer.
Br J Urol 1994; 73: 538-43.
142. Sensabaugh GF.
Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: A potential new marker for semen identification.
J Forensic Sci 1978; 23: 106-15.
143. Sensabaugh GF.
Response to: Wang MC, Papsidero LD, Chu TM: Prostate-specific antigens p30, gamma-seminoprotein and E1.
Prostate 1994; 24: 109.
144. Sensabaugh GF, Blake ET.
Seminal plasma protein p30: simplified purification and evidence for identity with prostate specific antigen.
J Urol 1990; 144: 1523-6.
145. Shinjo U.
Studies on the improvement of the color combination of the Ishihara tests for color blindness.
Nippon Ganka Gakkai Zasshi 1973; 77: 392-9.
146. Sinha AA, Wilson MJ, Gleason DF.
Immunoelectron microscopic localization of prostate-specific antigen in human prostate by the protein A-gold complex.
Cancer 1987; 60: 1288-93.
147. Sokoll LJ, Chan DW.
Prostate-specific antigen. Its discovery and biochemical characteristics.
Urol Clin North Am 1997; 24: 253-9.
148. Stamey TA.
Making the most out of six systematic sextant biopsies.
Urology 1995; 45: 2-12.

149. Stamey TA, Dietrick DD, Issa MM.
Large, organ confined, impalpable transition zone prostate cancer: association with metastatic levels of prostate specific antigen.
J Urol 1993; 149: 510-5.
150. Stamey TA, Kabalin JN.
Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate.
I. Untreated patients.
J Urol 1989; 141: 1070-5.
151. Stamey TA, Teplow DB, Graves HC.
Identity of PSA purified from seminal fluid by different methods: comparison by amino acid analysis and assigned extinction coefficients.
Prostate 1995; 27: 198-203.
152. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E.
Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate.
N Engl J Med 1987; 317: 909-16.
153. Stenman UH, Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuhkanen K, Alfthan O.
A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer.
Cancer Res 1991; 51: 222-6.
154. Stenman UH, Paus E, Allard WJ, Andersson I, Andres C, Barnett TR, Becker C, Belenky A, Bellanger L, Pellegrino CM, Borner OP, Davis G, Dowell B, Grauer LS, Jette DC, Karlsson B, Kreutz FT, van der Kwast TM, Lauren L, Leinimaa M, Leinonen J, Lilja H, Linton HJ, Nap M, Hilgers J *et al.*
Summary report of the TD-3 workshop: characterization of 83 antibodies against prostate-specific antigen.
Tumour Biol 1999; 20 Suppl 1: 1-12.
155. Takayama TK, Fujikawa K, Davie EW.
Characterization of the precursor of prostate-specific antigen. Activation by trypsin and by human glandular kallikrein.
J Biol Chem 1997; 272: 21582-8.
156. Veneziano S, Pavlica P, Querzé R, Nanni G, Lalanne MG, Vecchi F.
Correlation between prostate-specific antigen and prostate volume, evaluated by transrectal ultrasonography: usefulness in diagnosis of prostate cancer.
Eur Urol 1990; 18: 112-6.
157. Vesey SG, Goble M, Ferro MA, Stower MJ, Hammonds JC, Smith PJ.

- Quantification of prostatic cancer metastatic disease using prostate-specific antigen.
Urology 1990; 35: 483-6.
158. Vessella RL, Lange PH.
Issues in the assessment of PSA immunoassays. [Review] [84 refs].
Urol Clin North Am 1993; 20: 607-19.
159. Villoutreix BO, Getzoff ED, Griffin JH.
A structural model for the prostate disease marker, human prostate-specific antigen.
Protein Sci 1994; 3: 2033-44.
160. Wang MC, Papsidero LD, Chu TM.
Prostate-specific antigen, p30, gamma-seminoprotein, and E1 [letter].
Prostate 1994; 24: 107-10.
161. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM.
Purification of a prostate specific antigen.
Invest Urol 1979; 17: 159-63.
162. Warhol MJ, Longtine JA.
The ultrastructural localization of prostatic specific antigen and prostatic acid phosphatase in hyperplastic and neoplastic human prostates.
J Urol 1985; 134: 607-13.
163. Watt KWK, Lee PJ, M'Timkulu T, Chan WP, Loo R.
Human prostate-specific antigen: structural and functional similarity with serine proteases.
Proc Natl Acad Sci (USA) 1986; 83: 3166-70.