

**Die Bedeutung des Proliferations-Tumormarkers TPS
(Tissue Polypeptide Specific Antigen)
bei malignen und benignen Erkrankungen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Peter Wilhelm Hatlen-Rebhan
aus München

Gießen 2005

Aus dem Medizinischen Zentrum Klinische Chemie und Pathobiochemie

Leiter: Prof. Dr. med. N. Katz
des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. Dr. Katz

Gutachter: Prof. Dr. Reiter

Tag der Disputation: 06. Januar 2005

E r k l ä r u n g

Ich erkläre: „Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Peter Wilhelm Hatlen-Rebhan

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	8
2. Fragestellung	13
3. Material und Methoden	14
3.1. Material	14
3.2. Methoden	16
3.2.1. Prinzip des Enzyme-linked-immuno-sorbent-assay (ELISA)	16
3.2.2. Durchführung des TPS ELISA Tests	16
3.2.3. Bestimmung des CRP	22
3.2.4. Bestimmung des CEA	22
3.2.5. Bestimmung des CA 15-3	22
3.2.6. Bestimmung des CA 19-9	23
3.2.7. Bestimmung der NSE	23
3.2.8. Bestimmung der BSG	23
3.3. Bildung der Patientengruppen	24
3.4. Statistische Verfahren	26
4. Ergebnisse	27
4.1. Ergebnisse bei Blutspender	27
4.2. Ergebnisse bei Patienten mit neoplastischen Erkrankungen	32
4.2.1. Mammakarzinom	32
4.2.1.1. TPS-Spiegel	32
4.2.1.2. CEA und CA 15-3 Spiegel	35
4.2.1.3. Vergleichende Betrachtung von TPS, CA 15-3 und CEA	38

4.2.2.	Bronchialkarzinom	41
4.2.3.	Kolorektales Karzinom	45
4.3.	Ergebnisse bei Patienten mit Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises	46
4.3.1.	Ankylosierende Spondylitis (Morbus Bechterew)	46
4.3.1.1.	Ergebnisse der TPS-Bestimmung bei Patienten mit ASP	48
4.3.1.2.	Vergleich TPS und BSG	50
4.3.1.3.	Vergleich TPS und CRP	51
4.3.1.4.	Vergleich CRP und BSG	52
4.3.1.5.	Vergleich TPS, CRP und BSG	54
4.3.1.6.	TPS-Verteilung in Bezug auf die Wirbelsäulenklassifikation der ASP	55
4.3.2.	Chronische Polyarthritis	56
4.3.2.1.	Ergebnisse der TPS-Bestimmung	56
4.3.2.2.	BSG- und CRP-Spiegel	58
4.3.2.3.	Vergleich TPS und BSG	59
4.3.2.4.	Vergleich TPS und CRP	60
4.3.2.5.	Vergleich CRP und BSG	61
4.3.2.6.	TPS in Korrelation mit der Stadieneinteilung bei der cP	62
4.3.2.7.	TPS in Bezug zum subjektiven Befinden des Patienten	63
4.3.3.	TPS-Konzentrationen im Serum von allen Patienten mit nicht-malignen chronisch-entzündlichen Erkrankungen	65
5.	Diskussion	67
5.1.	Verteilung der TPS-Spiegel bei benignen und malignen Erkrankungen	67
5.2.	Ermittlung des cut-off-Wertes anhand eines Blutspenderkollektivs	68
5.3.	TPS bei nicht-malignen proliferativen entzündlichen Erkrankungen	70
5.3.1.	Morbus Bechterew (ASP)	71

5.3.2.	Chronische Polyarthrit	73
5.4.	TPS bei malignen Erkrankungen	75
5.4.1.	Patienten mit malignen Erkrankungen und Rezidiv	75
5.4.2.	Patienten mit therapierter maligner Erkrankung, ohne Hinweis auf ein Rezidiv	76
5.4.3.	Zusammenfassende Beurteilung von TPS beim Mammakarzinom	77
5.4.4.	Zusammenfassende Beurteilung von TPS beim Bronchialkarzinom	80
5.4.5.	Zusammenfassende Beurteilung von TPS beim kolorektalen Karzinom	83
5.4.6.	Zusammenfassende Beurteilung der Patienten mit malignen Erkrankungen	84
6.	Zusammenfassung	85
7.	Literaturverzeichnis	87
8.	Danksagung	99
	Conclusion	100
	Lebenslauf	101

Verzeichnis der Abkürzungen die in dieser Arbeit verwandt wurden (in alphabetischer Reihenfolge)

Abb.	Abbildung
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
AFP	Alpha-Feto-Protein
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
C19	Carbohydrat-Antigen 19-9
bzw.	beziehungsweise
CA 15-3	Carbohydrat-Antigen 15-3
CEA	carcinoembryonales Antigen
CMV	Cytomegalievirus
cP	chronische Polyarthrits
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CV	Variationskoeffizient
CYFRA 21-1	Zytokeratinfragment 21-1
D	Dalton
DIN	deutsche Industrienorm
DNA	Desoxyribonucleid acid
ELISA	Enzym linked immuno sorbent assay
HBs-Ag	Hepatitis-B-surface-Antigen
HCG	Human chorionic gonadotropine
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	human immunodeficiency Virus
kD	kilo Dalton
mRNA	Messenger-ribonucleic acid

n..... Anzahl
norm..... normal
n.b..... nicht bestimmt
NSE Neuronspezifische Enolase
OPD..... o-Phenylenediamine
PAP..... Prostataspecific acide phosphatase
path..... pathologisch
RF Rheumafaktor
RIA Radioimmunoassay
rpm revolutions per minute (Umdrehungen per Minute)
S..... Sedimentationseinheit nach Svedberg
SCC Squamous cell Karzinom Antigen
SD..... Standardabweichung
Tab..... Tabelle
TG..... Thyreoglobulin
TPA Tissue Polypeptide Antigen
TPS Tissue Polypeptide Specific Antigen
TPS-HRP..... TPS-horseradishperoxidase

1. Einleitung

Tumorerkrankungen stellen eine immer häufiger erkannte Todesursache dar. Gründe für die höhere durch Tumoren bedingte Mortalität sind die verbesserte Diagnostik und zum anderen die gestiegene Lebenserwartung. Da höheres Alter oft mit einer Schwäche des Immunsystems verbunden ist, die ein Tumorwachstum begünstigt, ist gerade die steigende Lebenserwartung ein erheblicher Faktor für das immer häufigere Auftreten von malignen Erkrankungen. Tumoren verhalten sich im allgemeinen im Anfangsstadium symptomlos; bei Eintritt von Beschwerden ist allerdings eine Heilung in vielen Fällen schon nicht mehr möglich. Aus diesem Grund werden möglichst sensitive und spezifische diagnostische Mittel gesucht, um einen Primärtumor einerseits, Rezidive andererseits möglichst früh zu erfassen. Zur Diagnose und mehr noch zur Verlaufskontrolle werden in der Klinik sowohl bildgebende Verfahren, wie Computertomographie, Sonographie oder Kernspintomographie, als auch laborchemische Verfahren, zum Beispiel die Bestimmung von Tumormarkern, verwendet.

Unter Tumormarkern versteht man im weiteren Sinne Substanzen, die im Gewebe, im Serum oder anderen Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden können und in signifikanter Weise auf einen Tumor hindeuten. In vielen Fällen weist darüber hinaus der Tumormarker auf die Lokalisation des Tumors in einem bestimmten Organ und evtl. auf Prognose und Therapieerfolg einer zytostatischen Behandlung hin. Die für die Klinik bedeutsamen Tumormarker kann man in sechs Gruppen unterteilen (2).

1. Onkofetale Antigene wie AFP, CEA u.a.
2. Hybridomdefinierte Antigene wie CA 19-9, CA 15-3 u.a.
3. Hormone wie HCG, ACTH, Insulin, Calcitonin u.a.
4. Enzyme wie PAP, NSE u.a.
5. Differenzierungs- und Proliferationsantigene wie TPA bzw. TPS, β 2m u.a.
6. Substanzen verschiedener Herkunft wie SCC, TG u.a.

Bei den im Serum oder in anderen Körperflüssigkeiten nachgewiesenen Tumormarkern handelt es sich ihrer chemischen Natur nach um Substanzen von Protein- oder Glykoproteincharakter. Sie kommen entweder in der Tumorzelle selbst oder auf der Zellmembran vor. Ferner können sie auch von anderen Geweben sozusagen als Reizantwort auf ein malignes Wachstum vermehrt synthetisiert werden (2,3).

Wünschenswerte Aufgabe, die mit der Bestimmung von Tumormarkern verknüpft ist, ist der Beitrag zur Diagnosefindung. Alle heute etablierten Tumormarker sind aber wegen mangelnder Sensitivität, d.h. das Verhältnis der spezifisch erkrankten Personen mit positiven Testergebnis zu tatsächlich Kranken, und noch unbefriedigender Spezifität, d.h. das Verhältnis der gesunden Personen mit negativem Testergebnis zu den Nichtkranken, zum Screening auf Tumorerkrankungen ungeeignet. Allenfalls bei Risikopatienten, z.B. Patienten mit Leberzirrhose (1, 4, 5) erscheint die Bestimmung von AFP zum Screening auf das Vorliegen eines Tumors gerechtfertigt. Auch sind die zirkulierenden Tumormarker, bis auf die Prostataphosphatase, das prostataspezifische Antigen und das Calcitonin, zur Tumorlokalisation nur bedingt geeignet. Daher ist die häufigste Indikation für die Bestimmung von Tumormarkern, die Therapieverlaufskontrolle nach Operation bzw. unter Radio-, Chemo- und Hormontherapie. Bei kritischer Anwendung lassen Tumormarker in nahezu der Hälfte der Fälle ein Tumorrezidiv früher als andere diagnostische Maßnahmen erkennen (1,2).

Im klinischen Verlauf kann man nach Tumorentfernung, Tumorbestrahlung und / oder Zytostase drei verschiedene Verhaltensformen unterscheiden (2).

1. Tumormarkerabfall zur Norm innerhalb von vier bis sechs Wochen, in Abhängigkeit von der Halbwertszeit des Tumormarkers, was vor allem nach Operationen für eine vollständige Tumorentfernung spricht.
2. Tumormarkerpersistenz oder ein weiterer Anstieg, was für einen Resttumor oder eine Metastasierung spricht.

3. Tumormarkerwiederanstieg nach vorübergehender Normalisierung, was auf ein Rezidiv oder eine Metastasierung hinweisen kann.

Bei der Beurteilung von Tumormarkerkonzentrationen im Serum ist zu berücksichtigen, dass die Höhe der Tumormarkerkonzentration immer das Resultat aus Tumormasse, Expression bzw. Freisetzung von Tumormarkern und Tumordurchblutung ist. Auch die jeweils eingesetzte Therapie hat Einfluss auf die Höhe der Tumormarkerkonzentration. So kann es zum Beispiel unter Bestrahlung oder Chemotherapie zu einem vorübergehenden Anstieg der Konzentration kommen, was aber nicht auf ein Tumorwachstum, sondern auf den Tumorzerfall zurückzuführen ist (2).

Weil die meisten Tumormarker die Tumormasse reflektieren, war man lange Zeit bemüht, einen Tumormarker zu finden, der nicht die Tumormasse sondern die Tumoraktivität widerspiegelt.

Dies gelang offenbar mit der Entdeckung des Tissue Polypeptide Antigen (TPA). 1957 konnte Bjørklund et al., durch Immunisierung von Pferden mit einem Pool menschlicher Karzinomzellen, ein "Anti-Krebs-Serum" gewinnen. In einer Serie von Untersuchungen wurde das für die Reaktion verantwortliche Antigen isoliert und Tissue Polypeptide Antigen (TPA) genannt (6).

Durch Untersuchungen an Zellkulturen fand man heraus, dass die Konzentration von TPA mit der Proliferationsrate korreliert (7).

TPA wird als Produkt der späten S-Phase und der G₂-Phase der Zellteilung unmittelbar nach der Mitose freigesetzt. Chemische Analysen haben gezeigt, dass es sich bei TPA um ein Gemisch aus Polypeptiden handelt, deren Molekulargewicht zwischen 20 und 45 kD liegt. Eine Hauptkomponente, die Untereinheit B₂, hat ein Molekulargewicht von 43 kD. Die elektrophoretische Mobilität liegt nahe der β 2-Globulin-Mobilität, der isoelektrische Punkt bei pH 4,5 und die Sedimentationskonstante bei 4,5 S. TPA wurde nicht nur beim Menschen, sondern wurde auch im Serum von Hasen, Meerschweinchen, Affen, Ratten und Fischen gefunden (7). Der Organismus scheidet TPA vor allem über die Leber aus. Die Nieren sind an der Elimination kaum beteiligt. Es stellte sich auch heraus, dass nur die Plazenta und

epitheliale Gewebe mit Ausnahme von Epidermis, proximalem Nierentubulus, Hodenepithel und Drüsengewebe TPA-positiv sind. Damit sind auch Lymphknotengewebe und Knochenmark TPA-negativ (6, 7, 8).

Mit Hilfe eines polyklonalen Antikörpers wurde ein kommerzieller Test entwickelt. Erhöhte TPA-Werte fand man bei Mamma-, Bronchial-, Blasen-, Prostata-, Zervix-, Ovarialkarzinom und bei kolorektalem Karzinomen (1,2). Trotz einer hohen Sensitivität gegenüber diesen Tumoren wird die Bedeutung von TPA eingeschränkt, da auch bei nicht malignen Erkrankungen und hier vor allem Entzündungen insbesondere der Leber, Lunge und des Urogenitaltraktes, ebenfalls erhöhte TPA-Werte im Serum festgestellt wurden. Mit Hilfe des Immunoblottings konnte gezeigt werden, dass eine Kreuzreaktivität zwischen TPA und Zytokeratin 8, 18 und 19 bei verschiedenen Spezies (Mensch, Maus) sowie in verschiedenen Organen (Epidermis und Leber) besteht (9,10).

Die Weiterentwicklung dieses Testes, mittels Verwendung eines monoklonalen Antikörpers M3 (IgG1-kappa), führte zum Nachweis von zwei spezifischen Epitopen auf dem TPA-Molekül. Das mittels dieses Antikörper erfasste Antigen wurde Polypeptide Spezific Antigen (TPS) genannt (11). TPS ist offensichtlich die Hauptkomponente von TPA.

TPS unterscheidet sich von TPA in der Hinsicht, dass bis zum jetzigen Zeitpunkt keine nennenswerte Kreuzreaktivität zwischen TPS und Zytokeratin 8, 18 und 19 nachgewiesen werden konnte. Weiter zeigte sich eine signifikante Übereinstimmung zwischen der TPS-Freisetzung aus der Zelle und der DNA-Synthese (12). Die Aufklärung der Proteinstruktur, insbesondere der Aminosäuresequenz, steht noch aus. Auch die Sequenz der mRNA und der kodierenden DNA ist unbekannt.

Um der Frage nach zu gehen, ob es sich bei TPS um einen Poliferationsmarker handelt, untersuchte Steiner die Zellteilung epithelialer und nicht-epithelialer Zellen anhand des H-Thymidin-Einbaus. Zum einen fand er heraus, dass nur in Kulturen epithelialer Zellen TPS freigesetzt wurde. Zum anderen bewies Steiner, dass es sich bei TPS nicht um ein Produkt von untergehenden Zellen handelt, sondern vielmehr um ein Produkt von sich teilenden Zellen handelt (13).

Eine Einschränkungen der Spezifität von TPA ist in der Kreuzreaktivität zu Zytokeratinen zu sehen. Van Dalen fand beim TPS im Gegensatz zu TPA, dass diese Kreuzreaktivität zu den Zytokeratinen nicht besteht. Der Test zur Bestimmung von TPS ergab eine Kreuzreaktivität zwischen TPS und gereinigten Zytokeratin 8 von weniger als 0,01 % und zwischen TPS und Zytokeratin 18 von 0,8 % (14).

2. Fragestellung

Wegen der Kreuzreaktivität zwischen TPA und den Zytokeratinen blieb die Spezifität von TPA als Tumormarker unbefriedigend. So führte die Bestimmung von TPA bei verschiedenen benignen Erkrankungen zu falsch-positiven Werten im Sinne eines Tumormarkers. Es wurde deshalb nach einem Tumormarker gesucht, der diese Kreuzreaktivität zu den Zytokeratinen nicht aufwies. Mit TPS wurde ein solches offensichtlich tumorspezifisches Antigen gefunden. Demzufolge sollte die Spezifität von TPS höher sein als die Spezifität von TPA.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung von TPS, im Vergleich zu anderen Tumormarkern wie CEA, CA 15-3, CA 19-9, NSE bei verschiedenen malignen Erkrankungen (Mammakarzinom, Bronchialkarzinom und kolorektales Karzinom) untersucht.

Der zweite Teil der Arbeit befasst sich mit der Frage, ob TPS neben seiner Verwendung als Proliferationsmarker bei malignen Erkrankungen auch als Proliferationsmarker bei benignen Erkrankungen erhöhte Konzentrationen im Serum aufweist. Hier wurden proliferative Erkrankungen, wie die ankylosierende Spondylitis und chronische Polyarthritits untersucht. Zu diesem Zwecke wurde TPS, bei diesen Erkrankungen, mit den allgemeinen Entzündungsparametern und dem klinischen Bild verglichen. Dabei wurde die Eignung von TPS - allein oder in Kombination mit anderen Tumormarkern bzw. Entzündungsmarkern - für die Diagnostik überprüft.

Zu Beginn der Arbeit wurde mit Hilfe von Blutspendern ein eigener Referenzbereich erstellt. Die gewonnenen Daten wurden dann jeweils mit dem Referenzbereich des Testherstellers und mit dem neu erstellten Referenzbereich verglichen.

3. Material und Methode

3.1. Material

Ein Teil der untersuchten Blutproben stammte von Patienten, die sich im Zeitraum von 1992 bis 1994 in verschiedenen Kliniken der Justus Liebig Universität befanden. Weitere Blutproben kamen aus der Klinik für Rheumatologie und Balneologie des Klinikums der J.L.U. in Bad Nauheim. Es wurden sowohl ambulante als auch stationäre Patienten untersucht.

Vollblut wurde zur Serumgewinnung 5 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert und 1 ml Serum in Eppendorf-Gefäßen bei -20° eingefroren. Die in dieser Arbeit untersuchten Tumormarker CA 15-3, CEA, CA 19-9 und NSE wurden im immunologischen Labor des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums der Justus Liebig Universität untersucht. Die Bestimmung des TPS erfolgte im Forschungslabor des Instituts für klinischen Chemie und Pathobiochemie der Justus Liebig Universität in Gießen.

Folgende Materialien und Geräte waren für die TPS-Bestimmung nötig:

Milenia-Mikrotiterplatten Photometer mit Computer MR 5000

Schüttelgerät für Mikrotiterplatten

Gefriertruhe (-20°C)

Kühlschrank (+2°C)

Eppendorfpipetten für 50 und 200µl

Im TPS-Kit mitgelieferte Materialien und Geräte:

Mikrotiterplatte mit Antikörper beschichtet, teilbar in 12 Streifen mit je 8 Vertiefungen

TPS-HRP Anti-TPA Tracer 0,6 ml

TPS Tracer dilution Buffer 8 ml

TPS Substrate Buffer 45 ml

TPS Substrate Tablets (OPD) 4 Stück

TPS Hydrogen Peroxidase 2 ml

TPS Stop Solution 12 ml

TPS Diluent 6 ml

TPS Standards 30 U/l, 120 U/l, 600 U/l, 1200 U/l

Control "Low" (90 ± 10 U/l) and "High" (365 ± 40 U/l), je 1×1 ml

Wash Solution Concentrate 2 Tabletten

Der Hersteller gab folgende Testcharakteristika zu dem Kit an: Die unterste Nachweisgrenze lag bei 15 U/l, allerdings wurden in der vorliegenden Arbeit auch Werte kleiner als 15 U/l gemessen. Im Intra-assay Vergleich wurden für den CV Werte zwischen 1,7% und 4,9 %, im Inter-assay Vergleich zwischen 2,6 % und 13,4 % angegeben. Weiter wurden vom Hersteller die obere Grenze des Referenzbereichs für 'Nicht Blutspender' bei 55 U/l, für hospitalisierte Patienten, die keine proliferative Erkrankung aufweisen, bei 80 U/l festgelegt. Für Blutspender wurde eine obere Grenze des Referenzbereichs bei 85 U/l angegeben. Ferner bestand, laut Hersteller, kein High dose hook effect bis zu einer Konzentration von 20 000 U/l (15).

Aufgrund dieser Erfahrungswerte empfahl der Hersteller folgende Grenzwerte. Als sicher nicht pathologisch gab er eine TPS-Konzentration von ≤ 55 U/l an. Den Bereich von 55 U/l bis 95 U/l bezeichnete der Hersteller als Grenzbereich und alle Werte über 95 U/l als sicher pathologisch (15).

Werden im folgenden Aussagen über pathologische / normale TPS-Spiegel gemacht, so beziehen sich diese, falls nichts anderes angegeben, auf die vom Hersteller angegebenen Referenzbereiche.

3.2. Methode

3.2.1. Prinzip des Enzyme-linked-immuno-sorbent-assay (ELISA)

Ein Antigen wurde in ein Plastikgefäß, das mit einem, für dieses Antigen, spezifischen Antikörper beschichtet ist, gegeben. Zusätzlich kam, neben dem fixierten Antikörper und dem zu bestimmenden Antigen, noch ein zweiter Antikörper hinzu. Dieser zweite Antikörper war mit einem Enzym markiert. Da hiermit zwei Antikörper eingesetzt wurden, nennt man diese Methode auch "Sandwich-Methode".

Nach Inkubation bilden sich Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexe. Um die noch freien enzymmarkierten Antikörper zu entfernen, musste das Gefäß gründlich gewaschen werden. Im Gefäß befinden sich nun, im Verhältnis 1:1, Antigene und enzymmarkierte Antikörper. Mit Hilfe dieser Enzyme konnte nun eine chromogene Lösung umgesetzt und die Konzentration mit einem Photometer gemessen werden. Vergleich man die gemessene Konzentration mit Werten auf einer Eichkurve, erhielt man die Konzentration des Enzyms und konnte damit auf die Konzentration des zu bestimmenden Antigens schließen (22).

3.2.2. Durchführung des TPS-ELISA Tests

Die Bestimmung von TPS erfolgte genau nach den Angaben des Herstellers (15). Die Serumproben waren vor der Bestimmung bei -20 Grad Celsius in einer Gefriertruhe, der Kit bei +8 Grad Celsius in einem Kühlschrank gelagert. Vor der Verwendung wurden die Seren bei Zimmertemperatur aufgetaut, gemischt und bei 3000 rpm zentrifugiert.

Die Versuchsdauer betrug in etwa drei Stunden. Sämtliche Bestimmungen wurden in Doppelbestimmung durchgeführt.

Vor jeder neuen Versuchsreihe mussten jeweils zwei Lösungen angesetzt werden. Zum einen die TPS-HRP Anti-TPA Tracer-Lösung, zum anderen die TPS OPD Substrat-Lösung.

Die TPS-HRP Anti-TPA Tracer-Lösung wurde hergestellt aus TPS-HRP, Anti-TPA Tracer und TPS Tracer Dilution Phosphat-Puffer. Der Ansatz der Mischung richtete sich nach der Anzahl der benutzten Teststreifen.

Tab.1:		
Mixschema für die TPS HRP Anti-TPA Tracer Lösung		
TPS Coated Microstrips (n)	TPS HRP Anti-TPA Tracer (ml)	TPS Tracer Dilution Puffer (ml)
3	0,1	1,5
6	0,2	3
9	0,3	4,5
12	0,4	6

Zur Herstellung der TPS OPD (O-Phenylenediamine) Substrat-Lösung wurden verwendet: TPS Substrat-Puffer, TPS Hydrogen-Peroxid und TPS Substrat-Tabletten. Auch hier ergab sich die Mischung nach der Anzahl der verwendeten Teststreifen.

Tab.2:			
Mixschema für die TPS OPD Substrat Lösung			
TPS Coated Microstrips	TPS Substrat Puffer (ml)	TPS Substrat Tabletten	TPS Hydrogen Peroxid (ml)
3	10	1	0,1
6	20	2	0,2
9	30	3	0,3
12	40	4	0,4

Auf Grund der besonderen Lichtempfindlichkeit der TPS OPD Substrat-Lösung, war sicherzustellen, dass diese innerhalb von 60 Minuten verbraucht wurde. Auch sollte die Lösung, bis zum Gebrauch immer im Dunklen aufbewahrt werden. Da O-Phenylenediamin cancerogen ist, wurden bei der Herstellung entsprechende Vorsichtsmaßnahmen ergriffen.

Eine dritte Lösung, die Waschlösung, bestand aus 0,01 M Phosphat-Puffer (pH 7,4), 0,14 M NaCl, 0,003 M KCl und 0,05% Tween 20. Angesetzt wurde die Lösung mit vom Hersteller des Testes mitgelieferten Tabletten, die in 500 ml Aqua dest. aufgelöst wurden.

Eine einmal angesetzte Waschlösung war bei vorgeschriebener Lagerung von 2-8°C 6 Wochen lang haltbar.

Vor Beginn des Versuchs wurden alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur (22 ± 4 Grad Celsius) gebracht. Alle Reagenzien und Seren wurden auf einem Rüttler gut gemischt, um eine gleichmäßige Verteilung von Antigen und Antikörpern in den Proben zu erreichen. Nachdem alle Lösungen Raumtemperatur erreicht hatten, wurde die TPS HRP Anti-TPA Tracer Lösung angesetzt.

Das Pipettieren der Streifen erfolgte nach einem festgelegtem Schema. Die Streifen waren mit den Ziffern von 1 bis 12, die einzelnen Vertiefungen mit den Buchstaben von A bis H gekennzeichnet. Die pipettierte Menge der Standard-, Kontrollösung und des Serums betrug 50 μ l.

A1,B1	TPS Diluent
C1,D1	Standard A
E1,F1	Standard B
G1,H1	Standard C
A2,B2	Standard D
C2,D2	Kontrollösung (low)
E2,F2	Kontrollösung (high)
F3,...	Patientenserum

Nachdem alle Vertiefungen pipettiert waren, wurden zu jeder Probe 50 μ l der HRP Anti-TPA Tracer-Lösung gegeben. Danach erfolgte eine zweistündige Inkubation auf einem Rüttler mit 600 rpm.

Etwa 10 Minuten vor Beendigung der Inkubation wurde die OPD Substrat-Lösung angesetzt.

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Vertiefungen sechsmal mit der angesetzten Waschlösung gewaschen. Hierzu wurde der Inhalt mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und die Waschlösung anschließend mit einer Pipette auf die einzelnen Vertiefungen

verteilt und wieder abgesaugt. Nach dem Waschen wurden in jede Vertiefung 200 µl der OPD Substrat-Lösung gegeben und dann nochmals für 30 Minuten in Dunkelheit inkubiert. Mit jeweils 50 µl der Stop-Lösung (5% H₂SO₄) wurde die Farbreaktion beendet. Sowohl nach der Zugabe der TPS OPD-Substrat-Lösung, als auch nach der Zugabe der Stop-Lösung, wurde die Mikrotiterplatte kurz geschüttelt, um eine gleichmäßige Verteilung der zugesetzten Substanzen zu erreichen. Nach fünf Minuten wurde dann mit dem automatisierten Mikrotiterplattenphotometer die optische Dicht bei 492 nm gemessen.

Die Auswertung der Messergebnisse erfolgte automatisch mit dem an das Messgerät angeschlossenen Computer. Anhand der Konzentrationen der Standardlösungen A, B, C, D wurde eine Standardkurve erstellt, mit der die unbekannt Konzentrationen bestimmt wurden.

MOLECULAR DEVICES CORP.

Report of Standard Curve

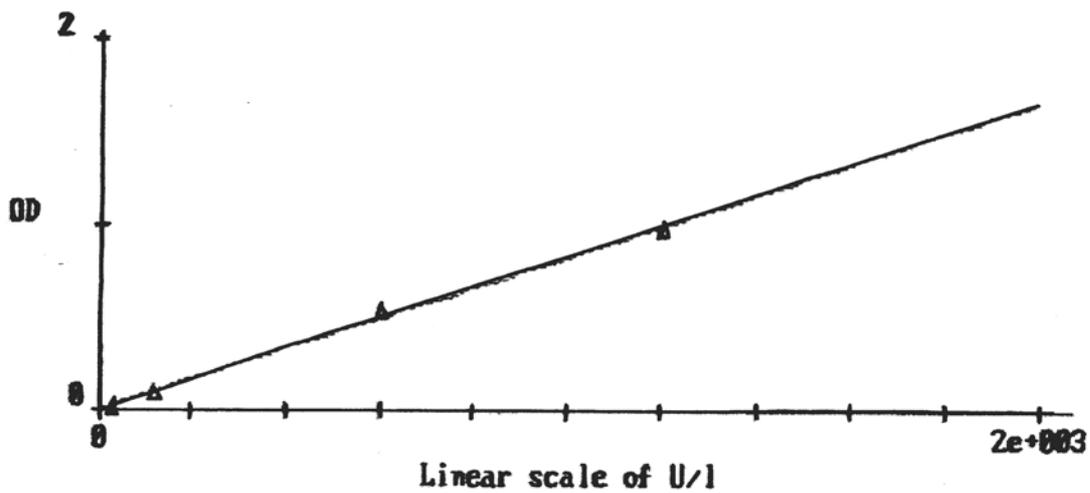
DATA FILE: TPS_CA.002

DESCRIPTION: TPS-Werte bei Tumorpatienten

PROTOCOL:

MODE: endpoint AUTOMIX: OFF

WAVELENGTH: 490



STANDARD	Std. Value	OD	Mean	Std Dev	CV
S01	30,00 U/l	0,025	0,026	0,001	5,546
		0,027			
S02	120 U/l	0,101	0,104	0,004	4,099
		0,107			
S03	600 U/l	0,542	0,544	0,004	0,650
		0,547			
S04	1200 U/l	0,934	0,993	0,083	8,407
		1,052			

Abb.1: ABBILDUNG EINER STANDARDKURVE

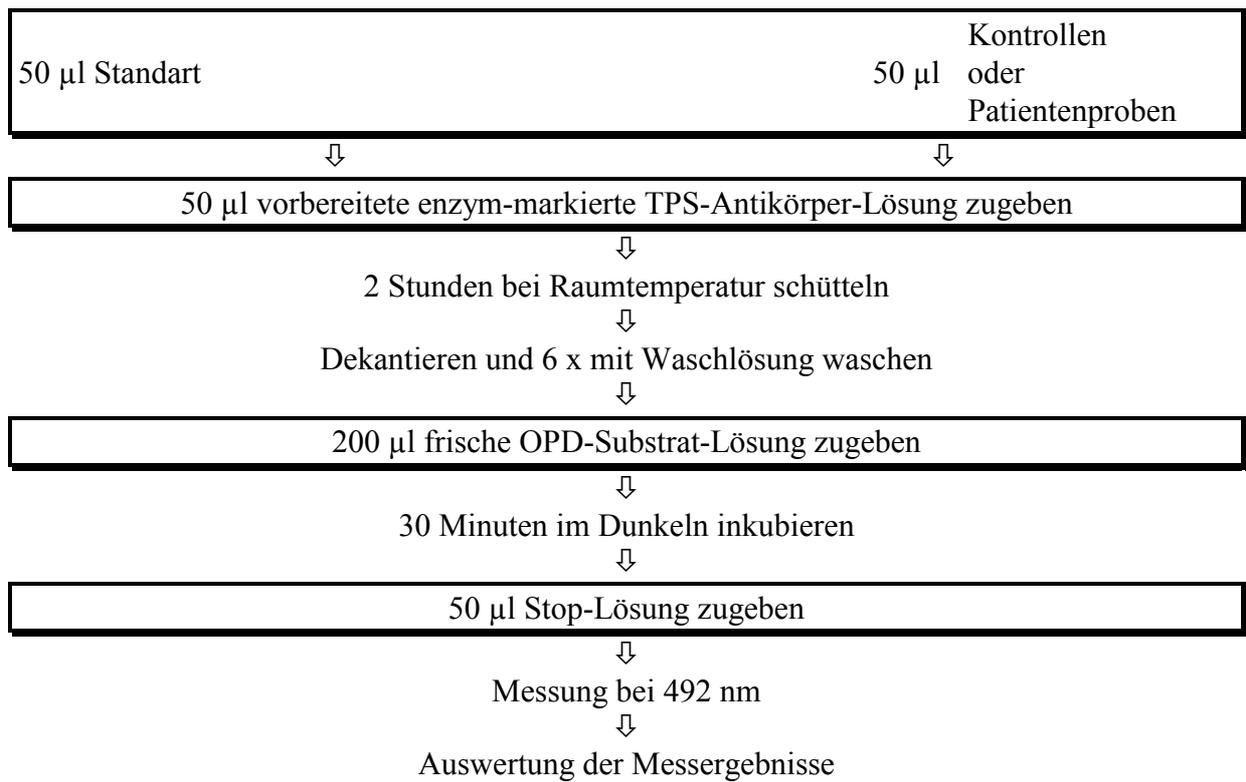


Abb.2: Fließschema zur Durchführung des TPS ELISA

3.2.3. Bestimmung des CRP

Die Bestimmung des CRP fand im Zentrallabor der Abteilung für klinische Chemie und Biochemie der Justus-Liebig-Universität in Gießen und im Labor für klinische Chemie der Klinik für Rheumatologie und Balneologie in Bad Nauheim statt. Zur Anwendung kam der NA Latex-CRP-Test der Firma Behring.

Prinzip der Methode war, dass Polystyrol-Partikel, die mit Antikörpern gegen CRP beladen sind, mit CRP, das aus der Serumprobe stammt, einen AG-AK-Komplex bilden. Die Intensität des Streulichts im Nephelometer (Behring-Nephelometer) ist vom CRP-Gehalt der Serumprobe abhängig, so dass durch Vergleich mit Standards bekannter Konzentration der CRP-Gehalt der Probe ermittelt werden kann (17).

Die Bestimmung des CRP wurde von Mitarbeitern des Zentrallabors der Abteilung für klinische Chemie durchgeführt.

3.2.4. Bestimmung des CEA

Das CEA ist mit Hilfe des Enzymun-Tests der Firma Boehringer bestimmt worden. Der Test beruht auf dem Prinzip eines Ein-Schritt-Sandwich-Assay mit Streptavidin (18).

3.2.5. Bestimmung des CA 15-3

Die Bestimmung des CA 15-3 ist mit Hilfe eines Zwei-Schritt-Sandwich-Assay der Firma Boehringer, ebenfalls auf Basis der Streptavidin-Technologie erfolgt (21).

3.2.6. Bestimmung des CA 19-9

Bei der Bestimmung des CA 19-9 hat es sich, wie auch beim Enzymun-Test für CEA, um einen Ein-Schritt-Sandwich-Assay gehandelt. Auch hier lag wieder dem Test die Streptavidin-Technologie zu Grunde.

Alle drei Tumormarker CEA, CA 15-3 und CA 19-9 wurden auf dem ES 600 der Firma Boehringer Mannheim bestimmt (19).

3.2.7. Bestimmung der NSE

Zur Bestimmung des NSE wurde ein Doppel-Antikörper-Radioimmunassay benutzt. In der Probe konkurrierte NSE mit einer bestimmten Menge von ¹²⁵J-markiertem NSE um die Bindungsstellen der spezifischen Antikörper. Gebundenes und freies NSE wurden mit einem zweiten Antikörper-Immunoabsorbent und anschließender Zentrifugation und Dekantierung getrennt. Anschließend wurde die Radioaktivität gemessen. Die Radioaktivität war der Menge von unmarkiertem NSE in der Probe umgekehrt proportional (20).

Die Bestimmungen von CEA, CA 15-3, CA 19-9 und NSE erfolgte im RIA-Labor der Justus-Liebig-Universität Gießen.

3.2.8. Bestimmung der BSG

Die Senkungsgeschwindigkeit nach WESTERGREN wurde in einer genormten Glaskapillare während der ersten und zweiten Stunde gemessen. Durch eine erhöhte Konzentration von Immunglobulinen im Blut, z.B. bei Entzündung, kam es zu einer verminderten elektrostatischen Abstoßung der Erythrozyten und demzufolge zur Beschleunigung der BSG (22).

Als Referenzwerte für die Blutsenkungsgeschwindigkeit galten für Männer nach einer Stunde bis 8 mm (nach 2 Stunden bis zu 18 mm), bei Frauen nach einer Stunde bis zu 11 mm (nach zwei Stunden bis zu 20 mm) (23).

3.3. Bildung der Patientengruppen

Insgesamt wurden Proben von 142 Patienten untersucht, die teils ambulant teils stationär behandelt wurden. Die Patienten wurden folgenden zwei Gruppen zugeteilt: "Patienten mit malignen Erkrankungen" (n=43), die in der Universitätsklinik der Justus-Liebig-Universität behandelt wurden und "Patienten mit Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis" (n=99), die in Bad Nauheim in der Klinik für Rheumatologie und Balneologie behandelt wurden.

Die an malignen Erkrankungen leidenden Patienten wurde nochmals in zwei Gruppen unterteilt: Patienten mit Rezidiv (n=9) oder rezidivfreie (n=34). Entscheidend für die Einteilung "Rezidiv" oder "kein Rezidiv" waren bildgebende Verfahren, wie Ultraschall, CT, Röntgen, Szintigraphie, sowie der gesamte klinische Eindruck des Patienten. Getrennt wurde bei jeder Gruppe nach dem Krankheitsbild bzw. nach dem betroffenen Organsystem.

Als Kontrollkollektiv zur Überprüfung des Referenzwertes wurden 49 Blutspender untersucht.

Es ergab sich damit eine Einteilung in folgende 11 Gruppen:

Blutspender (n = 49)

Patienten mit malignen Erkrankungen:

Mammakarzinom

Ohne Rezidiv (n = 26)

mit Rezidiv (n = 5)

Bronchialkarzinom

Ohne Rezidiv (n = 4)

mit Rezidiv (n = 4)

Colonkarzinom

Ohne Rezidiv (n = 4)

Patienten mit Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis:

Rheumatoide Arthritis (n = 59)

Morbus Bechterew (n = 40)

Zu den Untersuchungen wurden venöse Blutproben verwendet. Nach der Entnahme wurden die Blutproben fünf Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert und das Serum bei -20°C tiefgefroren und gelagert (max. 6 Monate).

3.4. Statistische Verfahren

Zur Anwendung kamen in diese Arbeit die Berechnung des Mittelwerts, des Medians und der Standardabweichung.

Unterstützung erfuhren wir von Dr. Bödecker, Institut für Medizinische Informatik der Justus-Liebig-Universität in Gießen.

Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten erfolgte nach der Formel:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

4. Ergebnisse

4.1. Ergebnisse bei Blutspender

Anhand eines Kollektivs von gesunden Erwachsenen, wurde zunächst überprüft, ob der vom Hersteller angegebene Referenzbereich bestätigt werden kann. Hierzu wurden 49 Blutspender aus der Blutbank der Justus Liebig Universität Gießen untersucht.

Der Hersteller des Testkits hat mit Hilfe einer Normalwertstudie mit über 200 absolut gesunden Probanden einen oberen Grenzwert (cut-off) von 55 U/l ermittelt. Mit Hilfe von hospitalisierten Patienten, die keine proliferative Erkrankung hatten, wurde ein oberer Grenzwert von 80 U/l ermittelt; bei einer Gruppe von Blutspendern wurde sogar ein Grenzwert von 85 U/l gefunden. Aufgrund von Erfahrungen von Anwendern des TPS-Assay sollte der Bereich von 55 – 95 U/l als Graubereich und Werte über 95 U/l als pathologisch angesehen werden. Dennoch wurde empfohlen einen eigenen Normbereich zu erstellen (15).

Demzufolge wurden die Blutspender in drei Gruppen eingeteilt. Gruppe 1: Blutspender im Referenzbereich der Gesunden (≤ 55 U/l); Gruppe 2: Blutspender im Grenzbereich; Gruppe 3: Blutspender im pathologischen Bereich (> 95 U/l).

Tab.3:		
Ergebnisse der TPS-Bestimmung bei Blutspendern (n = 49)		
TPS [U/l]		
Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Anzahl: n = 31	Anzahl: n = 13	Anzahl: n = 5
Median: 31	Median: 73	Median: 122
Mittelwert: 35 ± 12	Mittelwert: 73 ± 13	Mittelwert: 138 ± 29

Tab.4:
Verteilung der TPS-Spiegel im Serum von Blutspendern (n = 49)

TPS im Serum		
Referenzbereich < 55 U/l n = 31	Grenzbereich 55 – 95 U/l n = 13	path. Bereich > 95 U/l n = 5
17	55	108
19	58	122
19	58	122
20	58	149
20	65	189
21	68	
21	73	
21	74	
24	82	
25	85	
29	89	
32	90	
32	94	
34		
35		
35		
40		
40		
41		
41		
42		
43		
43		
44		
44		
45		
51		
51		
52		
53		
54		

Referenzbereich, Grenzbereich und path. Bereich nach Angaben des Herstellers.

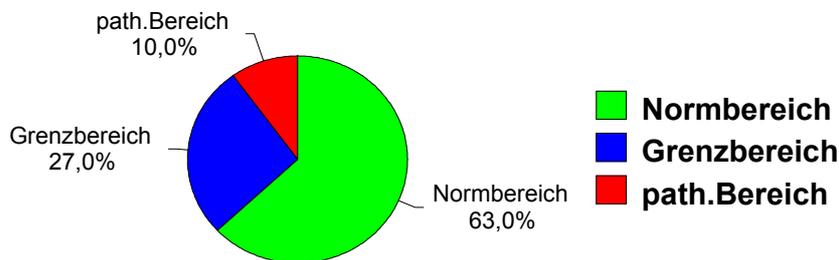


Abb.3: Verteilung der TPS-Konzentrationen im Serum von Blutspendern (n = 49) auf die vom Hersteller angegebenen Bereiche.

Obwohl 18 (37 %) der Proben entweder im Grenzbereich (27 %) oder im pathologischen Bereich (10 %) lagen, ergaben sich für die Gruppe der Blutspender ein Median von 44 U/l sowie ein Mittelwert und eine Standardabweichung von $56 \text{ U/l} \pm 35 \text{ U/l}$.

Ausgangspunkt war die Prüfung des Referenzbereichs des Herstellers und die Erstellung eines eigenen Referenzbereichs. Im folgenden wurden drei verschiedene Referenzbereiche berechnet. Der Berechnung des Referenzbereiches wurde eine Streubreite von 95% zugrunde gelegt.

1.) Referenzbereich ohne die Einbeziehung der Daten des Grau- und pathologischen Bereichs:

oberer Grenze des Referenzbereichs: 53 U/l

2.) Referenzbereich mit der Einbeziehung des Grenzbereichs, aber nicht des path. Bereichs:

oberer Grenze des Referenzbereichs: 89 U/l

3.) Referenzbereich mit Einbeziehung des pathologischen Bereichs:

oberer Grenze des Referenzbereichs: 122 U/l

Legt man eine Spezifität von 95% zugrunde, unter der Annahme, alle Blutspender seien tumorfrei, ergibt sich ein oberer Grenzwert von 122 U/l.

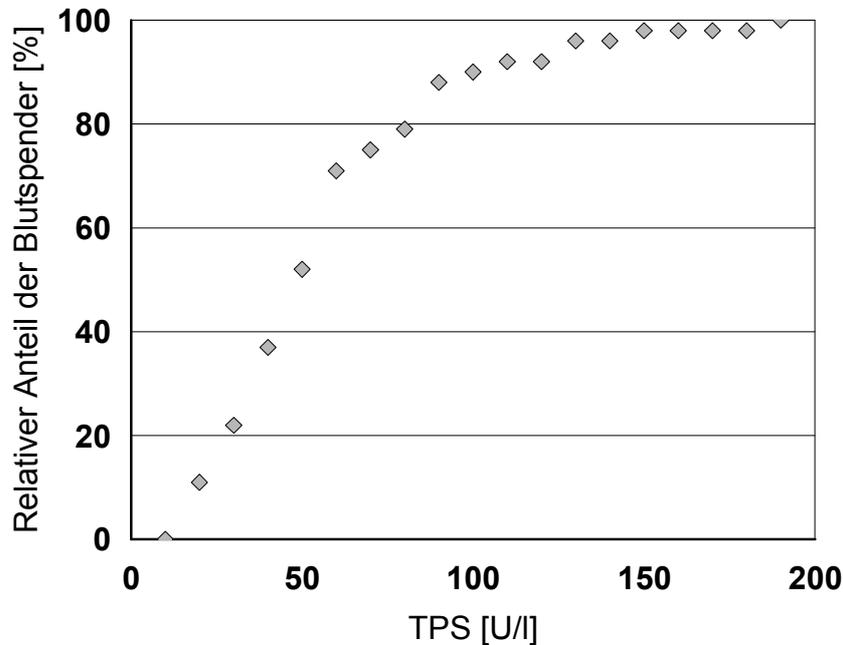


Abb.4: Darstellung der Spezifität von TPS bei Blutspendern (n = 49)

Mit Hilfe des Blutspenderkollektivs sollte nicht nur der Referenzbereich überprüft und gegebenenfalls neu definiert werden, sondern auch der CV im intra-assay- und inter-assay-Vergleich überprüft werden. In dieser Arbeit lag der CV im intra-assay-Vergleich bei einer Konzentration von 30 U/l bei 5,5 %, bei einer Konzentration von 120 U/l bei 4,0 %, bei 600 U/l bei 0,6 % und bei einer Konzentration von 1200 U/l bei 8,4 %. Der Hersteller gibt einen generellen CV von 1,7 % - 4,9 % an (15).

Der CV im inter-assay-Vergleich lag bei dieser Arbeit in vier Testläufen an 4 verschiedenen Tagen bei 5,9 %, 12,2 %, 8,3 % und 10,2 %. Der inter-assay-Vergleich wurde mit Hilfe einer standardisierten Lösung mit einer Konzentration von 120 U/l bestimmt. Der Hersteller gab einen Bereich von 2,6 % - 13,4 % an (15).

4.2. Ergebnisse bei Patienten mit neoplastischen Erkrankungen

4.2.1. Mammakarzinom

Es wurden TPS, CA 15-3 und CEA im Serum von Patientinnen untersucht, bei denen ein Mammakarzinom durch operative Tumorentfernung mit nachfolgender Bestrahlung und anschließender Zytostatikabehandlung therapiert worden war. Operation, Bestrahlung und Chemotherapie lagen so weit zurück (mindestens sechs Monate), dass ein akuter Einfluss auf die TPS-Konzentration ausgeschlossen werden konnte.

Das Gesamtkollektiv von 31 Patientinnen wurde in zwei Gruppen unterteilt. Der ersten Gruppe wurden die Patientinnen zugeteilt, die zum Zeitpunkt der Bestimmung kein Rezidiv entwickelt hatten n = 26 (84 %). Der zweiten Gruppe wurden Patientinnen mit Rezidiv n = 5 (16%) zugeteilt. Alle Patientinnen mit einem Rezidiv hatten Fernmetastasen.

Bei allen Patientinnen wurden TPS und CA 15-3 bestimmt und bei 25 Patientinnen zusätzlich CEA. Bei 10 Patientinnen wurden TPS, CEA und CA 15-3 nach weiteren 3 bis 6 Monaten (Mittel: 3,9 Monate) bestimmt.

4.2.1.1. Ergebnisse der TPS-Spiegel

Gruppe der rezidivfreien Patientinnen nach Mammakarzinom

In dieser Gruppe wurden Blutproben von 26 Patientinnen untersucht. Es fanden sich TPS-Werte zwischen 7 U/l und 299 U/l bei einem Mittelwert und Standardabweichung von $77 \text{ U/l} \pm 66 \text{ U/l}$ und einem Median von 56 U/l. In dem vom Hersteller angegebenen Referenzbereich (<55 U/l) lagen 13 Werte (50 %), im Grenzbereich (55 U/l - 95 U/l) 5 Werte (19 %) und im pathologischen Bereich (>95 U/l) 8 Werte (31 %).

Tab.5:

TPS im Serum der Gruppe der rezidivfreien Patientinnen mit Mammakarzinom (n= 26):

TPS im Serum		
Referenzbereich < 55 U/l n = 13	Grenzbereich 55 – 95 U/l n = 5	path. Bereich >95 U/l n = 8
7	64	104
12	67	117
19	67	135
19	71	137
20	78	140
21		157
23		186
36		299
38		
38		
41		
47		
48		

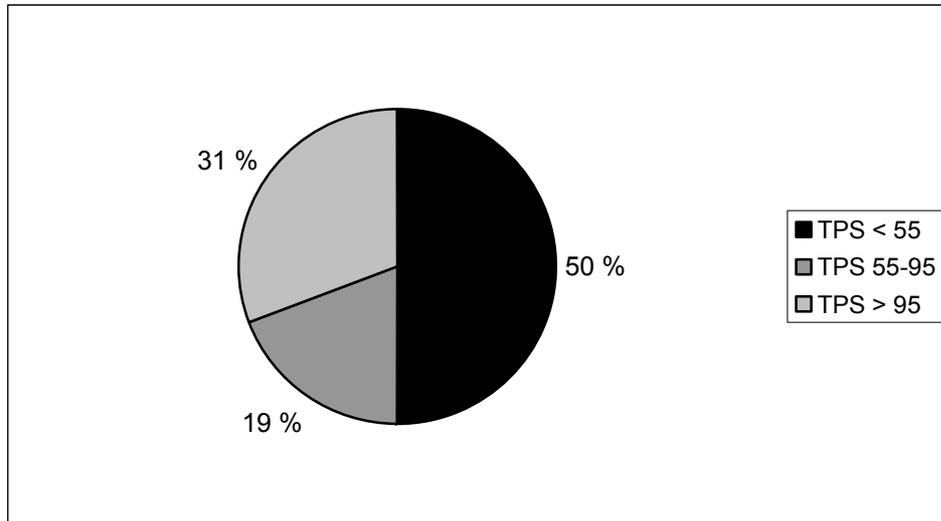


Abb.5: Verteilung der TPS-Spiegel im Serum von Patientinnen mit Mammakarzinom ohne Anhalt für ein Rezidiv (n = 26).

Die TPS-Konzentrationen im pathologischen Bereich bewegten sich zwischen 104 U/l und 299 U/l. Der Mittelwert lag bei 160 U/l \pm 58 U/l, der Median bei 138 U/l.

Aus der Gruppe der Patientinnen nach operiertem Mammakarzinom ohne Rezidiv wurde bei zehn Patientinnen im Abstand von drei bis sechs Monaten jeweils eine weitere TPS-Bestimmung vorgenommen.

Tab.6:
Verlauf der TPS-Spiegel bei 10 Patientinnen mit Mammakarzinom ohne Rezidiv (n = 26)
(Abstand der beiden Bestimmungen drei bis sechs Monate):

Patientin	TPS [U/l]		
	1. Bestimmung	2. Bestimmung	Veränderung
1	38	40	=
2	186	220	=
3	41	170	↑
4	78	62	=
5	104	55	↓
6	116	38	↓
7	135	29	↓
8	137	35	↓
9	140	46	↓
10	157	100	↓

= : keine Veränderung; ↓ Abfall, aber noch im pathologischen Bereich; ↓↓ Abfall in den Referenzbereich; ↑ Anstieg in den pathologischen Bereich

Zeitintervall zwischen 1. und 2. Bestimmung

Patient	Interval in Monaten
1	6
2	3
3	3
4	6
5	3
6	4
7	3
8	4
9	3
10	3

Bei sechs dieser Patientinnen (60 %) waren die TPS-Spiegel rückläufig, bei einer (10%) Patientin stieg der Wert an, bei 3 Patientinnen trat keine Änderung auf. Von den sechs

Patientinnen mit Abfall des TPS-Spiegels fielen bei fünf die TPS-Werte in den Referenzbereich ab, bei einer lag zwar der Wert um 36 % niedriger als bei der Erstuntersuchung, war aber immer noch im pathologischen Bereich.

Retrospektiv war die Patientin, deren TPS-Spiegel auf 170 U/l anstieg, nach dieser Bestimmung zwei Jahre ohne Hinweis auf Rezidiv. Es ist daher nicht auszuschließen, dass es sich um einen falsch positiven TPS-Spiegel handelt.

Gruppe der Patientinnen mit Mammakarzinom und Rezidiv

Dieser Gruppe bestand aus fünf Patientinnen. Alle fünf Frauen hatten Fernmetastasen. Davon hatten zwei Patientinnen Knochenmetastasen, zwei weitere Knochen-, Haut- und Lebermetastasen, sowie eine Patientin Hirnmetastasen.

Tab.7:	
TPS im Serum von Patienten mit Mammakarzinom und Rezidiv (n = 5)	
Patientin	TPS-Spiegel [U/l]
1	120
2	166
3	244
4	346
5	1200

Bei allen fanden sich erhöhte TPS-Spiegel, die zwischen 120 U/l und 1200 U/l lagen. Das arithmetische Mittel lag bei 415 U/l mit einer Standardabweichung \pm 400 U/l. Der Median bei 244 U/l.

4.2.1.2. Ergebnisse der CA 15-3 und CEA Bestimmung

Gruppe der rezidivfreien Patientinnen nach Mammakarzinom

Von den CA 15-3-Spiegeln (Referenzbereich bis 25 U/ml) der 25 rezidivfreien Patientinnen nach Mammakarzinom lag ein Wert im pathologischen Bereich auf, bei zwei Proben war CA 15-3 auf dem Grenzwert von 25 U/ml. Die übrigen 22 CA 15-3 Werte lagen im Referenzbereich. Bei der Patientin, deren Serumprobe einen pathologischen CA 15-3-Spiegel aufwies, wurde nach 1,5 Monaten erneut CA 15-3 bestimmt. Bei dieser zweiten Analyse fand sich wieder eine Konzentration, die zwar rückläufig war, aber immer noch im pathologischen Bereich lag.

Tab.8:

CA 15-3 im Serum von Patientinnen nach Mammakarzinom ohne Rezidiv (n = 25)

CA 15-3 [U/ml]	
Normbereich n = 24	path. Bereich n = 1
7	44
7	
7	
7	
8	
9	
9	
9	
10	
11	
12	
12	
13	
15	
16	
16	
16	
17	
17	
19	
21	
23	
24	
25	
25	

Für CEA wurde in keiner Serumprobe eine über dem Referenzbereich (< 5 ng/ml)
liegende CEA-Konzentration gefunden.

Tab.9:
CEA im Serum von Patientinnen nach Mammakarzinom ohne Rezidiv (n =20)
CEA [ng/ml]
Normbereich
n = 20
0,8
1,1
1,3
1,3
1,3
1,3
1,4
1,4
1,4
1,5
1,6
1,6
1,7
1,7
1,8
2,1
2,2
2,4
2,4
2,9
4,3

Gruppe der Patientinnen mit Mammakarzinom und einem Rezidiv

Alle Patientinnen mit Rezidiv (n = 5) wiesen CA 15-3 Konzentrationen im pathologischen Bereich (>25 U/ml) auf.

Die Untersuchung von CEA ergab zwei Werte im pathologischen Bereich (> 10 ng/ml), einen im Grenzbereich (5-10 ng/ml) und zwei im Referenzbereich (≤ 5 ng/ml)

Tab.10:

CA 15-3 und CEA im Serum von Patientinnen mit einem Rezidiv eines Mammakarzinom (n = 5)

Patientin	CA 15-3 [U/ml]	CEA [ng/ml]
1	34	1,6
2	280	360,0
3	288	1,3
4	35	7,7
5	79	31,7

Das arithmetische Mittel der CA 15-3 Spiegel lag bei 143 U/ml mit einer Standardabweichung von 116 U/ml. Bei der Bestimmung des CEA ergab sich ein Mittelwert von 80,5 ng/ml mit einer Standardabweichung von 140,2 ng/ml.

4.2.1.3 Vergleichende Betrachtung von TPS, CA 15-3 und CEA

Spezifität und Sensitivität innerhalb dieses Kollektivs

Patientinnen ohne Anhalt für ein Rezidiv

Eine vergleichende Betrachtung aller drei Tumormarker ist in Tabelle 12 zusammengefasst. Im Rahmen dieser Studie wurden bei 25 Patientinnen CA 15-3 bestimmt, aber nur von 20, weil bei 5 Patientinnen die Serummengen zu gering waren, zusätzlich TPS und CEA analysiert.

Tab. 11:

TPS, CEA und CA 15-3 Konzentrationen im Serum von Patientinnen ohne Anhalt für ein Rezidiv (n = 20):

TPS U/l	CEA ng/ml	CA 15-3 U/ml
186	1,4	7
23	1,3	7
11,8	1,4	17
20	1,8	44
64	0,8	9
38	2,1	9
78	4,3	15
104	2,2	21
67	1,6	17
137	1,3	25
7	2,4	8
41	2,4	16
299	1,7	10
36	1,4	16
157	1,6	23
116	1,7	7
38	1,5	11
135	1,3	24
19	1,1	7
140	2,9	25

Tab.12:

Verteilung normaler und pathologischer Tumormarkerbefunde bei den rezidivfreien Patientinnen nach Therapie eines Mammakarzinoms (n = 20):

TPS n, CEA n, CA 15-3 n	11	55%
TPS p, CEA n, CA 15-3 n	6	30%
TPS n, CEA p, CA 15-3 n	0	0%
TPS n, CEA n, CA 15-3 p	1	5%
TPS p, CEA p, CA 15-3 n	0	0%
TPS p, CEA n, CA 15-3 p	2	10%
TPS n, CEA p, CA 15-3 p	0	0%
TPS p, CEA p, CA 15-3 p	0	0%

n = normal, p = pathologisch

Patientinnen mit Rezidiv eines Mammacarcinoms

Tab.13:

TPS, CEA und CA 15-3 Konzentrationen im Serum von Patientinnen mit Rezidiv (n = 5):

TPS	CA 15-3	CEA
120	34	1,6
high	280	360
244	288	1,3
346	35	7,7
166	79	31,7

high: nicht messbar wegen zu hoher Konzentration. Eine Verdünnung war nicht möglich wegen zu wenig Serum

Tab.14:

Verteilung normaler und pathologischer Tumormarker bei Patientinnen mit Rezidiv eines Mammakarzinom (n = 5):

TPS n, CEA n, CA 15-3 n	0	0%
TPS p, CEA n, CA 15-3 n	0	0%
TPS n, CEA p, CA 15-3 n	0	0%
TPS n, CEA n, CA 15-3 p	0	0%
TPS p, CEA p, CA 15-3 n	0	0%
TPS p, CEA n, CA 15-3 p	3	60%
TPS n, CEA p, CA 15-3 p	0	0%
TPS p, CEA p, CA 15-3 p	2	40%

n = normal, p = pathologisch

Referenzwerte für nicht Tumorträger:

TPS: <95 U/l

CEA: <5 ng/ml (Grenzbereich 5 - 10 ng/ml)

CA 15-3: <25 U/ml

Bei der isolierten Betrachtung des CEA erhielt man eine Spezifität von 100 %, allerdings mit einer schlechten Sensitivität von 60 %. CA 15-3 alleine betrachtet hatte eine Spezifität von 85 % und eine Sensitivität von 100 %. Dies war die höchste Sensitivität mit einer sehr guten Spezifität. TPS alleine betrachtet ergab ein weniger befriedigendes Ergebnis mit einer Spezifität von 70 % und einer Sensitivität von 100 %.

Tab.15:		
Spezifität und Sensitivität des CEA, CA 15-3 und TPS beim Mammakarzinom		
Marker:	Spezifität:	Sensitivität:
CEA	100 %	60 %
CA 15-3	85 %	100 %
TPS	70 %	100 %

4.2.2. Bronchialkarzinom

Im Rahmen dieser Studie wurden acht Patienten mit Plattenepithelkarzinom des Bronchialsystems untersucht. Alle Patienten wurden radikal operiert und im Anschluss bestrahlt.

Vier Patienten hatten zum Zeitpunkt der TPS Bestimmung Fernmetastasen (Knochen, Kleinhirn), die restlichen vier Patienten hatten keinen Anhalt für Rezidiv zum Zeitpunkt der Bestimmung. Operation, Bestrahlung oder Chemotherapie lagen bei den rezidivfreien Patienten ca. 4 Jahr zurück um eine akute, therapiebedingte Auswirkung der Serumkonzentration von TPS ausschließen zu können.

Bestimmt wurden bei allen Patienten TPS, CEA und NSE im Serum.

In der hier verwendeten Literatur werden diese Marker auch mit CYFRA 21-1 verglichen. Dabei handelt es sich um ein Fragment des Zytokeratinskeletts der Zelle (50).

Gruppe der rezidivfreien Patienten nach Bronchialkarzinom

In der Gruppe der rezidivfreien Patienten lag TPS bei einem Patienten (25 %) im Referenzbereich (< 55 U/l), bei zwei Patienten (50 %) im Grenzbereich (55 – 95 U/l) und bei einem Patienten (25%) im pathologischen Bereich (> 95 U/l).

Dies ergab einen Mittelwert von 125 U/l mit einer Standardabweichung von ± 118 U/l. Der Median lag bei 72 U/l mit einer Spannweite von 29 U/l bis 327 U/l.

Tab.16:	
TPS-Werte der rezidivfreien Patienten (n= 4)	
Patient	TPS [U/l]
1	29
2	70
3	75
4	327

Bei der Bestimmung des CEA lagen 100% (n=4) im Referenzbereich bis 5 ng/ml. Die NSE war bei allen Patienten dieser Gruppe kleiner als 12,5 ng/ml also im Normbereich. Es hat sich ja auch bei dieser Gruppe von Patienten um Patienten mit Plattenepithelcarcinom gehandelt.

Tab.17:			
CEA, NSE und TPS im Serum von Patienten nach Therapie eines Bronchialkarzinom ohne Anhalt für ein Rezidiv (n = 4):			
Patient	CEA [ng/ml]	NSE [ng/ml]	TPS [U/l]
1	3,5	8,8	29
2	2,0	8,0	70
3	2,6	8,2	75
4	4,0	7,7	327

Alle vier Patienten waren nach 6,25 Monaten (Spannweite 4 bis 9 Monate) weiter ohne Anhalt für ein Rezidiv und es wurde eine Kontrollmessung von TPS und CEA durchgeführt.

Tab.18:

Kontrollmessung von CEA und TPS im Serum von Patienten mit Bronchialcarcinom ohne Anhalt für Rezidiv (n = 4)

Patient	CEA [ng/ml]	TPS [U/l]
1	1,3	52
2	1,7	47
3	2,8	39
4	3	61

Der Patient mit erhöhtem TPS in der ersten Bestimmung hatte bei der Kontrolle ein TPS im Grenzbereich. Retrospektiv konnte man keine Erklärung für das erhöhte TPS finden.

Gruppe der Patienten mit Bronchialkarzinom und Rezidiv

In der Gruppe der Patienten mit einem Rezidiv (Fernmetastasen in Knochen und Gehirn) war TPS bei drei Patienten (75 %) im pathologischen Bereich. Die TPS-Konzentration im Serum eines Patienten (25 %) lag im Grenzbereich. Es ergab sich ein Mittelwert von 676 U/l mit einer Standardabweichung von ± 587 U/l und einem Median von 580 U/l mit einer Spannweite von 87 U/l bis 1460 U/l.

Tab.19:

TPS-Konzentrationen im Serum von Patienten mit Bronchialkarzinom und Rezidiv (n = 4)

Patient	TPS [U/l]
1	87
2	134
3	1025
4	1460

Bei der Bestimmung von CEA wiesen drei Patienten (75 %) Werte im pathologischen Bereich auf, bei einem Patienten (25 %) lag die CEA-Konzentration im Normbereich.

Die Bestimmung der NSE ergaben in drei Fällen (75%) Serumkonzentrationen im Referenzbereich.

Tab.20:			
CEA, NSE und TPS im Serum von Patienten mit Bronchialkarzinom und Rezidiv (n = 4)			
Patient	CEA [ng/ml]	NSE [ng/ml]	TPS [U/l]
1	22,8	9,9	87
2	2,6	7,4	134
3	35,8	12,1	1025
4	214,0	15,4	1460

CEA, NSE und TPS wurden bestimmt als schon ein Rezidiv klinisch bekannt war. Es war nicht möglich im Rahmen dieser Studie zu sehen ob eventuell TPS früher ein Rezidiv anzeigt als die beiden anderen Tumormarker.

Zusammenfassend ergibt sich für diese Studie zugrundeliegend einen Referenzbereich und Grenzbereich für TPS bis 95 U/l folgende Spezifität und Sensitivität.

Tab.21:		
Spezifität und Sensitivität von TPS, CEA und NSE beim Bronchialkarzinom		
	Spezifität:	Sensitivität:
TPS cut-off 95 U/l	75 %	75 %
CEA cut-off 5 ng/ml	100 %	75 %
NSE cut-off 12,5 ng/ml	100 %	0 %

4.2.3. Kolorektales Karzinom

Zum Vergleich wurden ferner Patienten mit kolorektalem Karzinom im Rahmen dieser Studie untersucht. Das Kollektiv bestand aus vier Patienten, bei denen nach Resektion des Tumors und Bestrahlung durch bildgebende Verfahren und klinische Untersuchungen ein Rezidiv ausgeschlossen werden konnte. Neben TPS wurden als weitere Tumormarker das CEA und CA 19-9 im Serum dieser Patienten bestimmt. In der Studie wurden keine Patienten mit kolorektalem Karzinom und Rezidiv untersucht.

Es fanden sich TPS-Werte mit einer Spannweite von 32 bis 148 U/l bei einem Median von 51 U/l. Das arithmetische Mittel und die Standardabweichung lagen bei 70,5 U/l \pm 45,5 U/l. Zwei der fünf Patienten wiesen TPS-Serumkonzentrationen im Referenz-, einer im Grenz- und ein im pathologischen Bereich auf.

Tab.22: TPS-Werte im Serum von Patienten nach Therapie eines kolorektalem Karzinom ohne Rezidiv (n = 4):	
Patient	TPS [U/l]
1	32
2	46
3	56
4	148

Die Bestimmung des CEA ergab bei allen Patienten Werte im Normbereich (\leq 5 ng/ml).

Bei der Bestimmung von CA 19-9 war in einem Serum mit normalem TPS und CEA ein CA 19-9 Wert leicht erhöht ($>$ 37 U/ml). Unter der Annahme, dass alle Patienten ohne Rezidiv das Colonkarzinom überstanden hatten, lag somit die Spezifität bei 75 % für CA 19-9.

Tab.23:

CEA, CA 19-9 und TPS im Serum von Patienten nach Therapie eines kolorektalem Karzinom ohne Rezidiv (n = 4):

Patient	CEA [ng/ml]	CA 19-9 [U/ml]	TPS [U/l]
1	1,8	24	32
2	1,5	40	46
3	4,1	6	56
4	1,4	8	148

Tab.24:

Darstellung der Spezifität von TPS, CEA und CA 19-9 beim kolorektalem Karzinom

	Spezifität:	Sensitivität:
TPS	75% (für 95 U/l) 75 % (für 125 U/l)	n.b.
CEA	100 %	n.b.
CA 19-9	75 %	n.b.

4.3. Patienten mit Erkrankungen des rheumatischen Formenkreis

4.3.1. Ankylosierende Spondylitis (Morbus Bechterew)

Die Ankylosierende Spondylitis (ASP) ist eine chronisch entzündliche, rheumatische Erkrankung vor allem des Ileosakralgelenks und der Wirbelsäule; sie kann aber auch mit einer Oligoarthritis, seltener mit einer Polyarthritis der Extremitätengelenke einhergehen und extraartikuläre Manifestationen am Auge, in einigen Fällen auch am Herzen und an der Lunge zeigen.

Sowohl Ätiologie als auch Pathogenese der ASP sind bis heute weitgehend unbekannt. Es besteht eine genetische Prädisposition. Als Genprodukt der Klasse-I-Histokompatibilitätsantigene findet sich das HLA B27-Antigen bei über 90% der Patienten, aber nur bei 10% der Kontrollen. Spekuliert wird immer wieder über eine chronische Infektion im kleinem Becken oder im Dickdarm und in den Lymphwegen, die eine Verbindung zwischen dem Infektionsort und dem Ileosakralgelenk herstellen (23, 24).

Wie schon eingangs erwähnt, handelt es sich bei der ASP um ein chronisch entzündliches Geschehen. Aus diesem Grunde werden in der laborchemischen Diagnostik Entzündungsparameter zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs untersucht. Diese sind vor allem die Blutsenkungsgeschwindigkeit, das C-reaktive-Protein und die Leukozyten.

Im akuten Schub kommt es dabei zusätzlich zu proliferativen Veränderungen. Wie in der Einleitung dargestellt, geht die Proliferation bestimmter Zellen mit einer Erhöhung von TPS einher. Daher wurde in dieser Studie anhand von Serumproben von Patienten mit ASP überprüft, ob TPS über die Eigenschaft als Proliferationsmarker bei Tumoren hinaus auch als Proliferationsmarker bei entzündlichen Erkrankungen, wie zum Beispiel bei der ankylosierenden Spondylitis, eingesetzt werden kann.

Um dies zu klären, wurden insgesamt 40 Patienten mit ankylosierender Spondylitis untersucht. Alle Patienten befanden sich in ambulanter Behandlung in der Klinik für Rheumatologie und Balneologie in Bad Nauheim. Bei diesen Patienten konnte mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit eine maligne Erkrankung ausgeschlossen werden, da die Patienten drei Jahre lang nach Bestimmung von TPS klinisch keine Zeichen einer malignen Erkrankung aufwiesen.

Entzündungsmarker bei Patienten mit ASP

Bestimmt wurden bei allen 40 Patienten neben TPS als Entzündungsparameter, CRP, BSG und Leukozyten.

Das CRP gehört zur Klasse der Akutphasenproteine. Es ist ein cyclisches Pentamer von fünf Polypeptidketten, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Es wird in der Leber gebildet. 70-80% der Gesunden zeigen Serumspiegel von weniger als 2 mg/l und 95% der Gesunden Werte < 5 mg/l. Bei verschiedenartigsten Gewebeläsionen und anschließender Entzündung erfolgt innerhalb von 24 Stunden ein massiver Konzentrationsanstieg (22).

Mit der BSG nach WESTERGREN werden globale Veränderungen der Plasmaproteinkomposition erfasst. Die Referenzwerte für die Sedimentationsrate in der ersten Stunde liegen bei Männern bis 8 mm und bei Frauen bis 11 mm (23).

Die Bestimmung des CRP im Serum ergab bei 23 Patienten mit ankylosierender Spondylitis (57,5 %) einen Wert von $>5,0$ mg/l und damit einen pathologischen Befund. Das arithmetische Mittel lag bei 23,8 mg/l mit einer Standardabweichung von $\pm 33,8$ mg/l.

Die Bestimmung der BSG ergab für 29 Patienten (72,5 %) einen Wert im pathologischen Bereich. Hier lag das arithmetische Mittel bei 27,8 mm/h mit einer Standardabweichung von ± 14 mm/h.

Bei der Bestimmung der Leukozyten fand sich bei einem Patienten (2,5 %) ein Wert im pathologischen Bereich > 10 Leukozyten/nl.

4.3.1.1. Ergebnisse der TPS-Bestimmung bei Patienten mit ASP

Die 40 Patienten mit ASP wiesen im Mittel TPS-Konzentrationen von 64 U/l ± 71 U/l auf mit einem Median von 34 U/l. Bei nur 65 % ($n = 26$) der Patienten war der TPS-Spiegel im Referenzbereich (<55 U/l), bei 20 % ($n = 8$) im Grenzbereich und bei 15 % ($n = 6$) im pathologischen Bereich (>95 U/l). Die Einteilung in die drei Bereiche erfolgte nach den Konzentrationsangaben des Herstellers wie sie in der Onkologie Verwendung findet. Die Werte im pathologischen Bereich zeigten eine Spannweite von 99 U/l und 340 U/l mit einem Mittelwert von 206 U/l ± 90 U/l und einem Median von 198 U/l.

Tab.25:

Ergebnisse der TPS-Bestimmung im Serum von Patienten mit ASP (n= 40)

	Referenzbereich n	Grenzbereich n	path. Bereich n
Anzahl der Patienten	26	8	6
Median	29	63	198
Mittelwert und SD	30 ± 8	67 ± 10	206 ± 90

Tab.26:

Verteilung der TPS-Spiegel bei Patienten mit ASP (n= 40)

TPS [U/l]		
Referenzbereich n = 26	Grenzbereich n = 8	path. Bereich n = 6
18	57	100
18	58	129
21	62	132
22	63	265
23	64	272
23	67	340
24	71	
24	92	
24		
26		
26		
29		
29		
29		
29		
31		
31		
33		
33		
33		
34		
35		
38		
45		
48		
53		

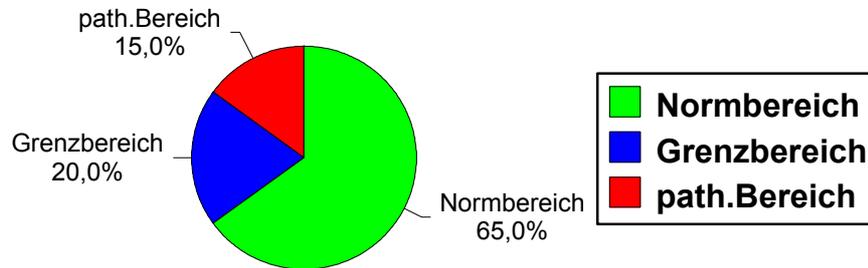


Abb.6: Verteilung der TPS-Spiegel bei Patienten mit ankyloisierender Spondylitis

4.3.1.2. Vergleich TPS und BSG

Da die BSG unspezifisch eine Entzündung anzeigt und TPS die Zell-Proliferation von Gewebe widerspiegelt, wurde überprüft, ob eine Beziehung zwischen beiden Messgrößen besteht. Das Ergebnis ist in Tabelle 27 wiedergegeben.

Tab.27: Vergleichende Betrachtung von TPS und BSG bei Patienten mit ASP (n = 40)			
	BSG path.	BSG normal	Summe:
TPS path.	13 %	2 %	15 %
TPS normal oder grenzwertig	57 %	28 %	85 %
Summe:	70 %	30 %	100 %

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, dass zwischen beiden Messgrößen keine eindeutige Beziehung besteht.

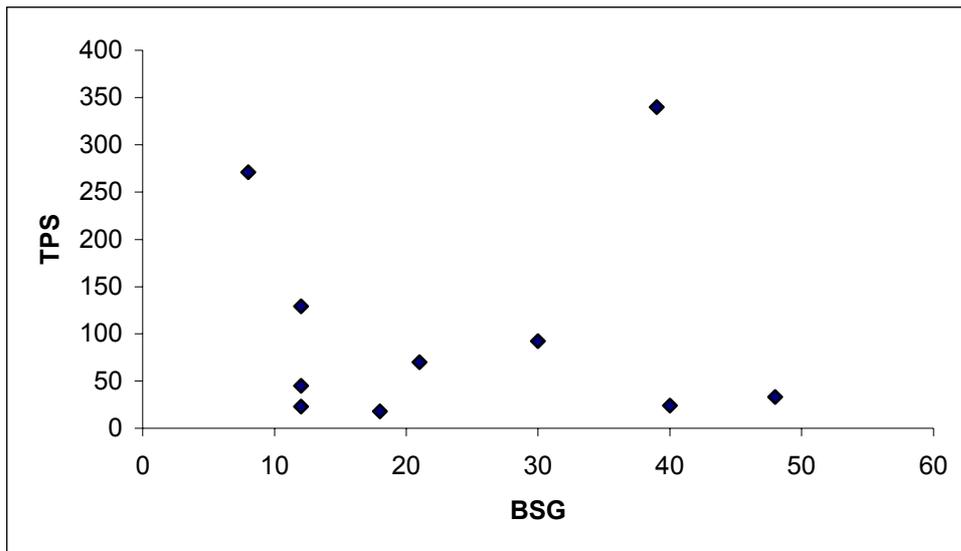


Abb. 7: Darstellung der Korrelation von TPS und BSG bei Patienten mit ASP (n = 40)

Die Formel der Korrelationsgeraden lautet $y = 0,4403x + 54,05$. Der berechnete Korrelationskoeffizient (r) liegt bei $r = 0,09$. Es besteht somit keine Abhängigkeit zwischen den TPS-Spiegeln und der Blutsenkung bei der ASP.

4.3.1.3. Vergleich von TPS und CRP

Ähnlich wie bei der BSG wurden auch die Ergebnisse der CRP Bestimmung mit den Ergebnissen der TPS Bestimmung verglichen. Das Ergebnis ist in Tabelle 28 wiedergegeben.

Tab.28: Vergleichende Darstellung von TPS und CRP bei Patienten mit ASP (n = 40)			
	CRP path.	CRP normal	Summe:
TPS path.	10 %	5 %	15 %
TPS normal	50 %	35 %	85 %
Summe:	60 %	40 %	100 %

Auch hier ist keine eindeutige Beziehung zwischen CRP und TPS zu erkennen.

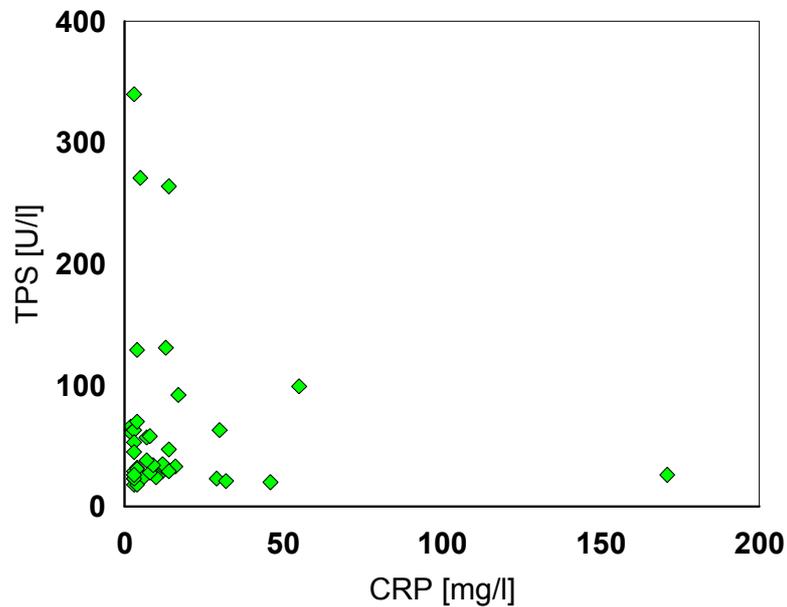


Abb.8: Darstellung CRP versus TPS bei Patienten mit ASP (n = 40)

Die Formel der Korrelationsgeraden lautet $y = -0,0398 x + 17,875$. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten (r) ergab ein negatives Ergebnis von $r = -0,1$. Dies bedeutet, dass auch hier keine Abhängigkeit zwischen den TPS-Spiegeln und dem CRP besteht.

4.3.1.4. Vergleich von CRP und BSG

Die beiden Indikatoren für eine Entzündung, CRP im Serum und BSG, zeigten eine schwache Abhängigkeit voneinander. Eine signifikante Abhängigkeit ließ sich nicht zeigen, was möglicherweise darauf zurückzuführen ist, dass im Rahmen eines akuten Entzündungsschubs das CRP innerhalb von 24 Stunden und die BSG erst mit einer gewissen Latenz von bis zu mehreren Tagen ansteigt (29).

So zeigen bei der ASP ein erhöhtes CRP und eine normale Senkung einen beginnenden Schub an, während ein normales CRP und eine erhöhte Senkung eher einen abklingenden Schub anzeigen.

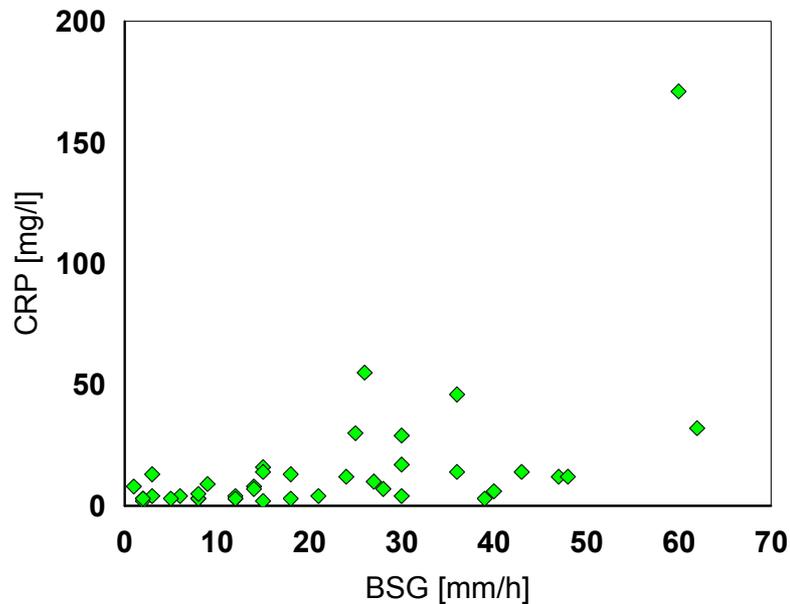


Abb.9: Korrelation von CRP und BSG im Serum von Patienten mit ASP (n = 40)

Zwischen CRP und der BSG bestand eine schwache Abhängigkeit. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten (r) ergab: $r = 0,53$. Die Formel der Korrelationsgeraden lautet $y = 0,9848 x - 4,9504$.

4.3.1.5. Vergleich von TPS, CRP und BSG

Tabelle 29 gibt über die Beziehung von TPS, CRP und BSG Aufschluss.

Tab.29:		
Vergleichende Darstellung von TPS, CRP und BSG im Serum von Patienten mit ASP (n = 40)		
CRP n, BSG n, TPS n	n = 15	37,5 %
CRP n, BSG n, TPS p	n = 2	5,0 %
CRP p, BSG n, TPS n	n = 5	12,5 %
CRP p, BSG n, TPS p	n = 1	2,5 %
CRP p, BSG p, TPS n	n = 12	30,0 %
CRP p, BSG p, TPS p	n = 2	5,0 %
CRP n, BSG p, TPS n	n = 1	2,5 %
CRP n, BSG p, TPS p	n = 2	5,0 %

Von einem erhöhten Taps-Wert wurde bei einer Konzentration von über 95 U/l ausgegangen. CRP galt als pathologisch bei Werten >5 mg/l und von einer erhöhten BSG wurde ausgegangen, wenn bei Männern der Wert für die erste Stunde 8 mm und bei Frauen 11 mm überschritten wurde.

Zwei Konstellationen traten mit besonderer Häufigkeit auf. Zum einen kam mit 37,5 % die Kombination CRP, BSG und TPS im Referenzbereich vor. Zum anderen war die Kombination CRP und BSG im pathologischen Bereich, und TPS im Referenzbereich mit 30% nahezu gleich häufig vertreten.

4.3.1.6. TPS-Verteilung in Bezug auf die Wirbelsäulenklassifikation der ASP

Eine Stadieneinteilung der ASP wurde bei den untersuchten Patienten anhand der Veränderungen der Wirbelsäule und des übrigen klinischen Bildes wie folgt vorgenommen (25):

Stadium I	Prodromal- oder Verdachtsstadium
Stadium II	Stadium der Iliosakralgelenkbeteiligung (frühes präspöndylitisches Stadium)
Stadium III	Stadium mit Nachweis des Wirbelsäulenbefalls
Stadium IV	Vollbild der Erkrankung

Im folgenden wurde überprüft, ob eine Abhängigkeit des TPS-Spiegels vom Stadium der Erkrankung nachweisbar ist. Wie Tabelle 30 zeigt, ist dies nicht der Fall.

Tab.30:		
Verteilung der TPS-Spiegel in Abhängigkeit zum Stadium bei der ASP (n = 40)		
Stadium	TPS im Referenzbereich	pathologische TPS-Spiegel
I	32 %	6 %
II	6 %	6 %
III	19 %	0 %
IV	22 %	9 %
I - IV	79 %	21 %

4.3.2. Chronische Polyarthrit

Eine Vielfalt von Befunden belegt, dass die pathologischen Veränderungen der chronischen Polyarthrit (cP) ihre Grundlage in immunologisch aktiven Entzündungsprozessen haben. Die Erkrankung spielt sich vornehmlich an der Synovialmembran der Gelenke, den Sehnenscheiden und Bursae ab. Darüber hinaus verursacht sie allgemeine Krankheitszeichen und zeigt auch extraartikuläre Manifestationen, wie subkutane Rheumaknoten, Vaskulitis der kleinen, selten der mittelgroßen Arterien und sehr selten Lungen- und Herzbefall (22, 25).

Die Ursache dieser chronischen Entzündung ist letztlich unbekannt. Allerdings wird eine genetische Prädisposition angenommen, da HLA-DR4-Merkmalsträger ein 5 mal höheres Erkrankungsrisiko haben als HLA DR4-Negative (23).

Da es sich auch bei der chronischen Polyarthrit um ein entzündliches Geschehen handelt, ist hier, wie bei der ASP, die Verlaufsbeobachtung mit Hilfe von Entzündungsmarkern möglich. Als Entzündungsindikatoren wurden CRP und BSG bestimmt.

Im Rahmen dieser Studie wurde überprüft, ob TPS als Proliferationsmarker bei der cP erhöht ist.

Insgesamt wurden dazu 54 Patienten untersucht, die stationär in der Klinik für Balneologie und Rheumatologie, Bad Nauheim, behandelt wurden. Alle Patienten, die eines der Ausschlusskriterien erfüllten, wurden nicht in die Studie mit aufgenommen. Als Ausschlusskriterien wurden angesehen: Tumorerkrankungen, Schwangerschaft, Blutspender.

4.3.2.1. Ergebnisse der TPS-Bestimmung

Bei der Bestimmung der TPS-Spiegel im Serum ergab sich folgende Verteilung. Der Median lag bei 57 U/l mit einer Spannweiten von 19 U/l bis 284 U/l. Der Mittelwert lag bei 88 U/l mit einer Standardabweichung von ± 70 U/l. Bei 44 % der untersuchten Patienten (n = 24) lagen die TPS-Spiegel im Referenzbereich bis 55 U/l, bei 30 % der Patienten (n = 16)

lagen die TPS-Konzentrationen im Grenzbereich und 26 % der Patienten (n = 14) wiesen Werte im pathologischen Bereich (>95 U/l) auf.

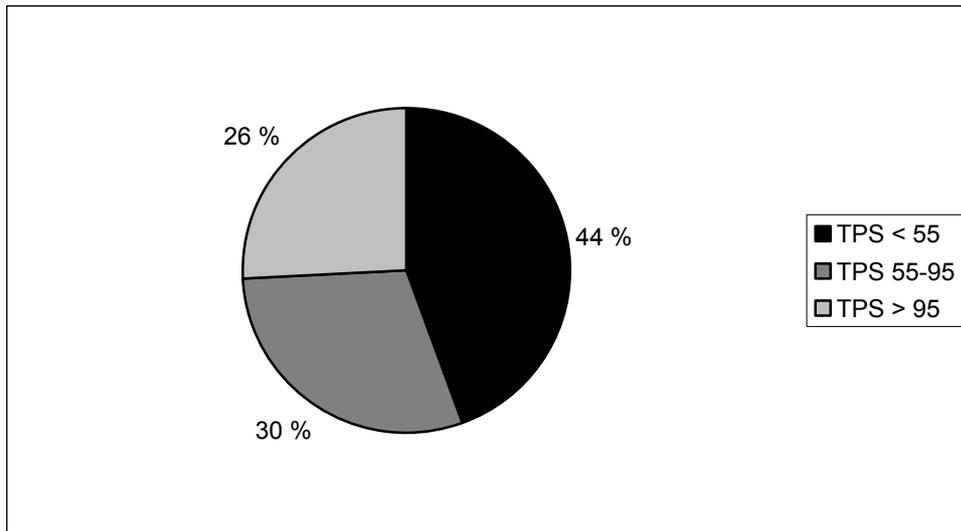


Abb.10: Verteilung der TPS-Konzentrationen im Serum von Patienten mit chronischer Polyarthritis (n = 54).

Tab.31:

Einzelwerte der TPS-Konzentrationen im Serum von Patienten mit cP (n = 54)

TPS [U/l]		
Referenzbereich n = 24	Grenzbereich n = 16	path. Bereich n = 14
19	57	133
20	57	137
22	58	137
25	59	147
27	60	161
28	69	173
29	69	178
31	75	191
31	77	200
32	79	210
32	90	254
33	87	257
35	88	265
35	88	284
36	93	
36	94	
42		
44		
45		
48		
50		
53		
53		
54		

4.3.2.2. Ergebnisse der BSG- und CRP-Bestimmung

Die Bestimmung der Blutsenkungsgeschwindigkeit ergab Werte in einem Bereich von 1 mm/h bis 258 mm/h. Das arithmetische Mittel war 18,3 mm/h mit einer Standardabweichung von $\pm 12,3$ mm/h. Bei 37 % der Patienten (n = 20) fanden sich BSG-Werte, die innerhalb des Normbereichs lagen.

Bei 30 % der Patienten (n = 16) waren die CRP-Konzentrationen im Serum im Normbereich (< 5 mg/l). Das arithmetische Mittel lag bei 13,3 mg/l mit einer Standardabweichung von $\pm 12,1$ mg/l bei einer Spannweite von 2,3 bis 63,5 mg/l.

4.3.2.3. Vergleich von TPS und BSG

Tab.32:
Vergleichende Darstellung von TPS und BSG im Serum von Patienten mit cP (n = 54)

	BSG path.	BSG normal	Summe:
TPS path.	22 %	6 %	28 %
TPS normal und grenzwertig	41 %	31 %	72 %
Summe:	63 %	37 %	100 %

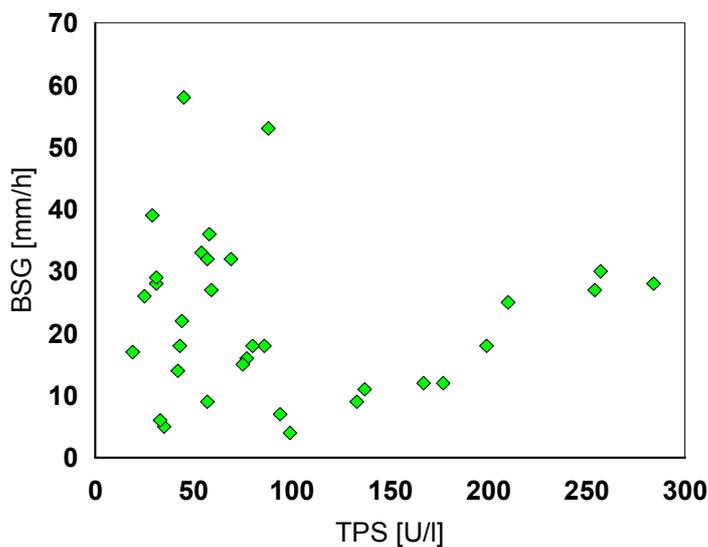


Abb.11: Darstellung der Korrelation zwischen TPS und BSG bei Patienten mit cP (n = 54)

Der Korrelationskoeffizient lag bei 0,17. Es bestand somit allenfalls eine sehr geringe Abhängigkeit. Die Formel der Korrelationsgeraden lautete $y = 0,0263 x + 16,006$.

4.3.2.4. Vergleich von TPS und CRP

Tab.33:
Vergleichende Darstellung von TPS und CRP im Serum von Patienten mit cP (n = 54)

	CRP path.	CRP normal	Summe:
TPS path.	20 %	6 %	26 %
TPS normal und grenzwertig	52 %	22 %	74 %
Summe:	72 %	28 %	100 %

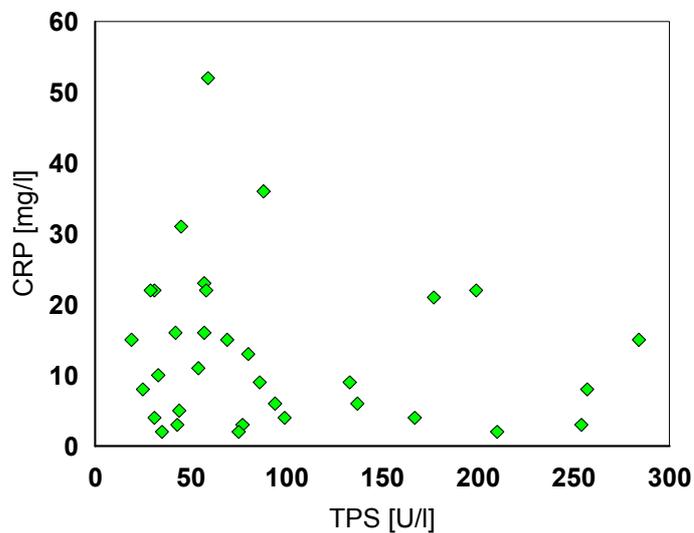


Abb.12: Darstellung der Korrelation von TPS und CRP bei Patienten mit cP (n = 54)

Die Berechnung ergab für den Korrelationskoeffizienten $r = -0,005$. Es bestand somit keine Abhängigkeit zwischen den TPS-Spiegeln und dem CRP bei der chronischen Polyarthrit. Die Formel der Korrelationsgeraden lautete $y = -0,0008 x + 13,397$.

4.3.2.5. Vergleich von CRP und BSG

Tab.34:
Vergleichende Darstellung von CRP und BSG im Serum von Patienten mit cP (n = 54)

	BSG pathologisch	BSG normal	Summe:
CRP pathologisch	46 %	28 %	74 %
CRP normal	13 %	13 %	26 %
Summe:	59 %	41 %	100 %

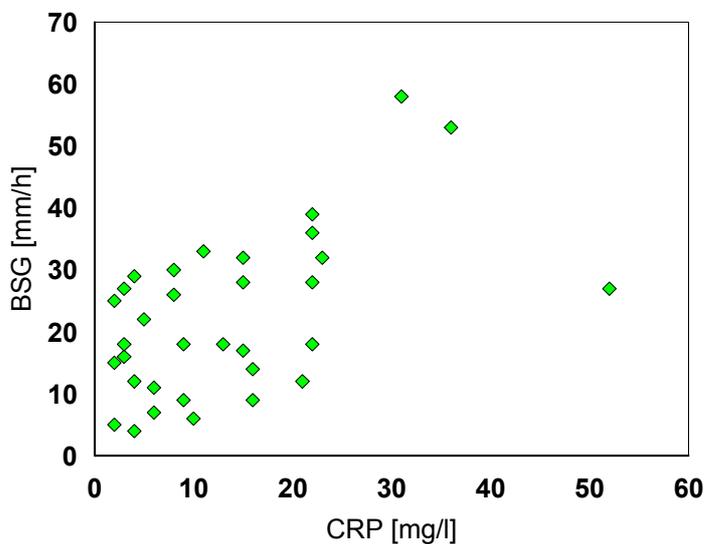


Abb.13: Darstellung der Korrelation von CRP und BSG bei Patienten mit cP (n = 54)

Zwischen CRP und BSG bestand, wie auch schon bei der ASP, eine schwache Abhängigkeit. Der Korrelationskoeffizient betrug 0,52. Die Formel der Korrelationsgeraden lautete $y = 0,5128 x + 11,497$.

4.3.2.6. TPS in Korrelation mit der Stadieneinteilung bei der chronischen Polyarthritits

Bei der chronischen Polyarthritits werden folgende vier Stadien unterschieden (26):

Stadium I: Leichte Osteoporose im Bereich der arthritisch veränderten Gelenke

Stadium II: Zusätzlich vereinzelte Muskelatrophien in der Gelenkumgebung

Stadium III: Zusätzlich Knorpel-, Knochendestruktionen sowie ausgedehnte Muskelatrophie

Stadium IV: Zusätzlich knöchernen Ankylosen

In diese Statistik gingen nur 37 der insgesamt 54 Patienten ein, da retrospektiv nur bei 37 Patienten das Stadium mittels Röntgenuntersuchungen und klinischer Untersuchung zuverlässig festgelegt werden konnte.

Jeder dieser Patienten wurde einer Stadiumklasse zugeteilt. Die TPS-Konzentrationen wurden in Beziehung zum Stadium der Erkrankung betrachtet, um einen möglichen diagnostischen Beitrag von TPS zur Erkennung eines proliferativen Geschehens hierbei zu prüfen.

Das Ergebnis gibt Tabelle 35 wieder, in der für die einzelnen Stadien der Mittelwert, der Median und die Spannweite der TPS-Konzentrationen angegeben ist.

Tab.35:				
Verteilung der TPS-Spiegel im Serum in Abhängigkeit zur Stadieneinteilung von Patienten mit chronischer Polyarthritits (n = 37)				
TPS [U/l]				
Stadium	Median	Spannweite	Mittelwert und SD	Anzahl der Patienten
I	42	33 – 254	110 ± 102	3
II	53	19 – 137	66 ± 37	13
III	45	30 – 200	66 ± 48	10
IV	79	29 – 284	104 ± 69	11

Es fand sich keine eindeutige Beziehung zwischen dem Stadium der Erkrankung und der Höhe des TPS-Spiegel.

Bei der chronischen Polyarthritis finden sich die höchsten proliferativen Entzündungsraten im Stadium I-III, während im Stadium IV kaum mehr mit Proliferation zu rechnen ist. Infolgedessen ist nicht davon auszugehen, dass erhöhte TPS-Werte im Stadium IV gefunden werden. Da entgegen der Erwartung auch im Stadium IV erhöhte TPS-Konzentrationen gefunden wurden, ist fraglich, ob TPS in erster Linie die Proliferation der Erkrankung widerspiegelt.

4.3.2.7. TPS in Bezug zum subjektiven Befinden des Patienten

Aufgrund des subjektiven Befindens der Patienten, wurde eine Einteilung der Patienten in folgende drei folgenden Gruppen vorgenommen:

- I keine bis geringe Schmerzen
- II mittelstarke Schmerzen
- III starke bis sehr starke Schmerzen

Von insgesamt 22 zum Befinden befragte Patienten gaben an: 32 % (n = 7) keine bis geringe Schmerzen (= Gruppe I); 27 % (n = 6) mittelstarken Schmerzen (= Gruppe II). Die restlichen 41 % (n = 9) hatten starke bis sehr starke Schmerzen (= Gruppe III). In der Gruppe I lagen alle TPS-Werte im Referenzbereich der Gesunden oder im Grenzbereich. Bei den Patienten mit mittelstarken Schmerzen lagen 67 % der TPS-Werte im Referenz- oder Grenzbereich. In der Gruppe III, deren Empfinden von sehr starken Schmerzen geprägt war, lagen 44% der TPS-Werte im Referenz- oder Grenzbereich und 56 % im pathologischen Bereich.

Tab.36:			
Verteilung der TPS-Spiegel im Serum in Abhängigkeit zum subjektiven Befinden der Patienten mit chronischer Polyarthritits (n = 22)			
	Verteilung der TPS-Spiegel im Serum		
	Referenzbereich <55 U/l	Grenzbereich 55 – 95 U/l	pathologischer Bereich > 95 U/l
Gruppe I (n = 7)	29 %	71 %	0 %
Gruppe II (n = 6)	17 %	50 %	33 %
Gruppe III (n = 9)	22 %	22 %	56 %

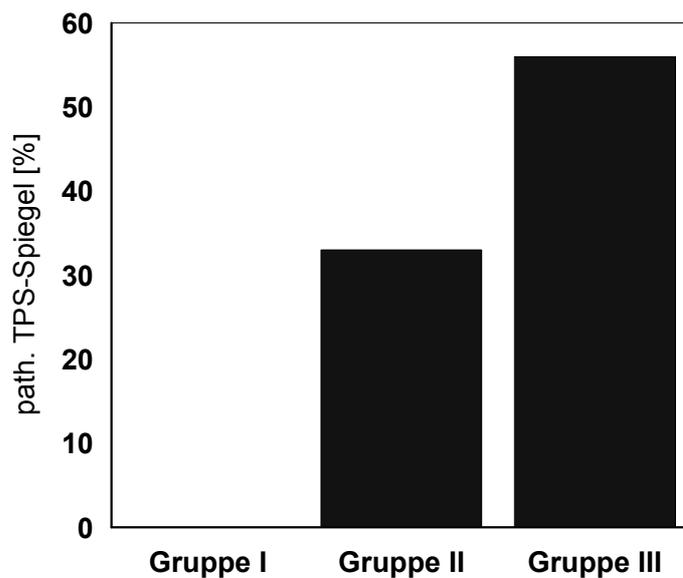


Abb.14: pathologische TPS-Spiegel im Serum (> 95 U/l) in Bezug auf das subjektive Befinden der Patienten (n = 22) mit chronischer Polyarthritits

Wie aus Tab. 36 hervorgeht, steigt die TPS-Konzentration im Serum mit der subjektiven Schwere der Erkrankungssymptome an. Bei Patienten der Gruppen I und II fanden sich bei 100 % bzw. bei 67 % der Fälle die TPS-Spiegel im Referenzbereich oder

Grenzbereich. Bei den Patienten mit starken Schmerzen fanden sich in 56 % der Fälle die TPS-Konzentrationen im pathologischen Bereich. Bei Betrachtung der mittleren TPS-Konzentrationen aller Gruppen fand sich ein positiver Zusammenhang zwischen Schmerzsymptomatik und TPS-Konzentration.

Für die jeweiligen Gruppen ergaben sich folgende Mittelwerte und Standardabweichungen Tab.37:

Tab.37:			
Mittelwert und Standardabweichung von TPS im Serum innerhalb der jeweiligen Gruppen			
		TPS [U/l]	
Gruppe:		Mittelwert:	Standardabweichung:
I	(n = 7)	61	18
II	(n = 6)	87	39
III	(n = 9)	146	84

4.3.3. TPS-Konzentrationen im Serum von allen Patienten mit nicht-malignen chronisch-entzündlichen Erkrankungen

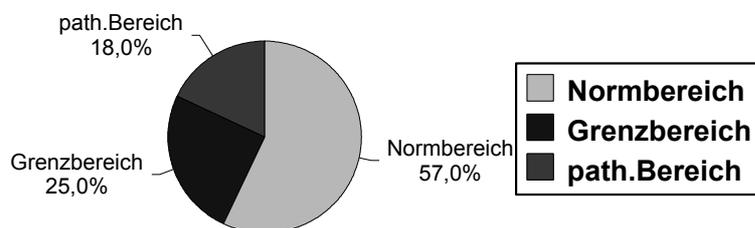


Abb.15: Verteilung der TPS-Spiegel bei allen untersuchten Patienten mit proliferativ-entzündlicher aber ohne maligne Erkrankung (n = 94)

Diesen Prozentzahlen liegen die Referenzbereichsangaben für TPS des Herstellers zu Grunde:
Referenzbereich bis 55 U/l, Grenzbereich von 55 bis 95 U/l und pathologischer
Bereich >95U/l.

5. Diskussion

5.1. Verteilung der TPS-Werte bei benignen und malignen Erkrankungen

Ein Tumormarker soll anhand einer Konzentrationserhöhung im Serum mit hoher Sensitivität das Vorhandensein eines malignen Tumors anzeigen. Bei Gesunden und Patienten mit benignen Erkrankungen soll er demgegenüber nicht erhöht sein und damit eine möglichst hohe Spezifität aufweisen. Für die Ermittlung von Sensitivität und Spezifität, ist es erforderlich, den oberen Grenzwert des Referenzbereichs für Gesunde festzulegen. Dies gilt auch für den Tumormarker TPS. Die Ermittlung eines solchen cut-off-Wertes kann zunächst einmal anhand eines Blutspenderkollektivs erfolgen, wie dies in der vorliegenden Studie erfolgte.

Der vom Hersteller empfohlene Referenzbereich bis 55 U/l und der Grenzbereich von 55 U/l bis 95 U/l erscheint, zumindest nach den in dieser Studie gewonnenen Daten, zu niedrig angesetzt. Wird zur Beurteilung der TPS-Konzentrationen der Referenzbereich des Hersteller herangezogen, so erhält man nämlich eine Sensitivität von nahezu 100 %. Die damit verbundene geringe Spezifität 63 %, bezogen auf Blutspender, macht einen Einsatz als Tumormarker jedoch wenig sinnvoll, da hierdurch mehr als ein Drittel der Gesunden einen pathologischen TPS-Spiegel im Serum aufweisen würden.

In der folgenden Diskussion wurden alle untersuchten Patienten in drei Hauptgruppen unterteilt: Blutspender, Patienten mit nicht-malignen chronisch-entzündlichen Erkrankungen und Patienten mit malignen Erkrankungen. Die beiden zuletzt genannten Hauptgruppen wurden nochmals unterteilt. Die Gruppe der Patienten mit nicht-malignen chronisch-entzündlichen Erkrankungen wurde in Patienten mit Morbus Bechterew und Patienten mit chronischer Polyarthrititis unterteilt. Die Patienten mit malignen Erkrankungen wurden in die Gruppen Mammakarzinom, Bronchialkarzinom und kolorektales Karzinom unterteilt, in jeder dieser Gruppen wurde weiter unterteilt in Patienten mit einem Rezidiv und Patienten ohne klinisch feststellbarem Rezidiv.

5.2. Ermittlung des Cut-off-Wertes mit Hilfe eines Blutspenderkollektiv

Im Rahmen dieser Arbeit wurden insgesamt 49 Serumproben von Blutspender untersucht. Es wurde von jeder Probe jeweils in Doppelbestimmung die TPS-Konzentration bestimmt. Der Mittelwert lag bei 56 U/l mit einer Standardabweichung von ± 35 U/l und einer Spannweite von 17 U/l bis 189 U/l.

Bei Zugrundelegen der vom Hersteller angegebenen Bereiche ergibt sich für einen cut-off-Wert von 55 U/l eine Spezifität von 65 % und bei einem cut-off-Wert von 95 U/l eine Spezifität von 90 %. Will man eine Spezifität von 95 %, auf gesunde Blutspender bezogen, erreichen, müsste der cut-off-Wert bei 125 U/l festgelegt werden.

Tab.38:
Berechnung der Spezifität am Kollektiv der Blutspender (n = 49)

cut-off-Wert [U/l]	sich daraus ergebende Spezifität in Prozent
55	65
95	90
125	95

Aufgrund dieser Ergebnisse wäre es womöglich sinnvoll den cut-off-Wert bei 125 U/l festzulegen.

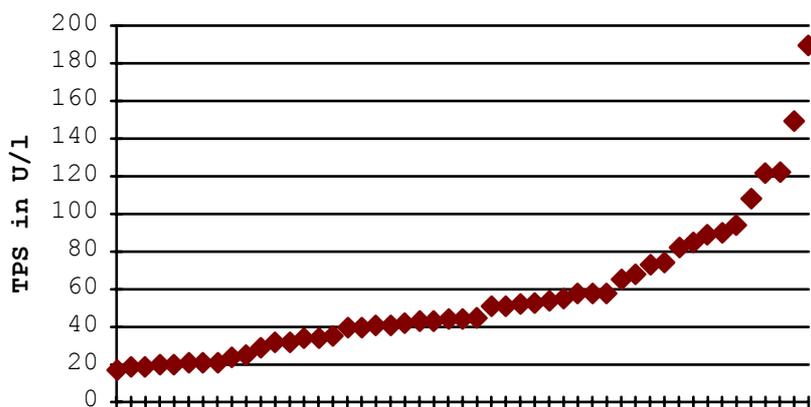


Abb.16: Darstellung der TPS-Werte bei Blutspendern (n = 49)

Bei den 49 untersuchten Blutspendern lagen, wie schon unter Punkt 4.1. erwähnt, 63% im Referenzbereich, 27 % im Grenzbereich und 10 % im pathologischen Bereich. Um eine Erklärung zu finden warum 10 % (n = 5) der Proben im pathologischen Bereich lagen, wurde untersucht, ob nicht die Spendefrequenz oder -häufigkeit einen Einfluss auf die Konzentration von TPS hat. Zu diesem Zwecke wurden die Spendeunterlagen der 5 Spender eingesehen. Es konnte aber keine Korrelation zwischen TPS und der Zeit seit der zuletzt zurückliegenden Spende festgestellt werden. Die letzten Spenden lagen zwischen 3 Monate und 4 Jahre zurück. Auch im Hinblick auf die Spendehäufigkeit konnte keine Korrelation zur TPS-Konzentration hergestellt werden. Aufgrund des besonders strengen Datenschutzes war es sehr schwer, Informationen über die Spender zu erhalten. Dennoch konnte ermittelt werden, dass alle Infektionsparameter (HBs-Ag, HIV, HCV, CMV und LUES) unauffällig waren. Alle Spender haben nach der untersuchten Blutkonserve weitere Blutspenden geleistet. Diese später durchgeführten Untersuchungen waren unauffällig und zeigten auch keine tendenziellen Veränderungen innerhalb des Referenzbereichs. Daraus lässt sich ableiten, dass es sich bei den erhöhten TPS-Werten wahrscheinlich um zeitweise erhöhte Werte gehandelt hat, die keinen Hinweis auf ein malignes Geschehen geben.

Da bei diesem Kollektiv doch immerhin 10 % der TPS-Spiegel im Serum im pathologischen Bereich lagen, kann man TPS kaum zum Screening auf malignen Erkrankungen heranziehen.

Setzt man anstelle des vom Hersteller angegebenen Referenzwerts als alternativen Referenzwert 125 U/l ein, liegen statt 10 % nur noch 4 % der Blutspender mit TPS im pathologischen Bereich, wobei 2 der untersuchten Blutspender mit 122 U/l nur geringfügig unter dieser Grenze fallen würden. Auf Grund der gewonnen Daten scheint es sinnvoll, den neuen Grenzwert für die Zukunft bei 125 U/l festzulegen.

Ein Vergleich dieses cut-off-Wertes mit in anderen Studien bestimmten und verwendeten cut-off-Werten zeigt, dass der in dieser Studie für das Mammakarzinom festgelegte cut-off-Wert, mit diesen Werten vergleichbar ist (30, 31, 32, 38). In den erwähnten Studien liegen die cut-off-Werte zwischen 80 U/l und 156 U/l mit einem Mittelwert 111 U/l und einem Median von 104 U/l.

5.3. TPS bei nicht-malignen proliferativen entzündlichen Erkrankungen

Innerhalb dieser Gruppe wurden insgesamt 94 Patienten untersucht. Davon wiesen 40 Patienten eine Ankylosierende Spondylitis und 59 Patienten eine chronische Polyarthrits auf.

Die TPS-Spiegel der 94 untersuchten Personen waren nur in 53 % der Untersuchungen innerhalb des vom Hersteller mit 55 U/l angegebenen Referenzbereich, in 26 % im Grenzbereich und in 21 % (n = 20) im pathologischen Bereich. Der Mittelwert lag bei 78 U/l mit einer Standardabweichung von 72U/l und einer Spannweite von 18 U/l bis 340 U/l.

Tab.39: Berechnung der Spezifität am Kollektiv der Patienten mit nicht-maligner Erkrankungen (n = 94)	
Cut-off-Wert [U/l]	sich daraus ergebende Spezifität (%)
55	53
95	79
191	90
257	95

Würde man den in Kapitel 5.2. ermittelten cut-off-Wert von 125 U/l heranziehen, erhielte man eine Spezifität von 80 %.

Bei einem cut-off von 55 U/l liegt die Spezifität als Tumormarker bei nur 53 %. Rechnet man dem Grenzbereich den Referenzbereich zu, erhält man eine wesentlich bessere Spezifität von 79 %. Will man die Spezifität von TPS als Tumormarker weiter erhöhen, zum Beispiel auf 90 %, müsste der cut-off Werte auf 191 U/l festgelegt werden. Strebt man eine 95 % Spezifität an, müsste die obere Grenze auf 257 U/l festgelegt werden. Ein cut-off-Wert von 257 U/l ist aber für die Klinik unbrauchbar, da die falsch-negativ Rate bei Tumorpationen zu hoch liegen würde (s.u.).

Bei den untersuchten Patienten mit ASP und cP wurden soweit möglich, Tumorerkrankungen, Schwangerschaften oder Erkrankungen die typischerweise mit Erhöhung des TPS-Werte einhergehen können, ausgeschlossen.

Dieser doch sehr hohe Prozentsatz von falsch-positiven Ergebnissen von TPS als Tumormarker, lässt sich nur dadurch erklären, dass TPS, ähnlich wie TPA, auch von benignen Erkrankungen mit Gewebeproliferation und anderen proliferativen Prozessen im menschlichen Körper beeinflusst wird.

Inaba et al. haben zum Beispiel gezeigt, dass es signifikante Konzentrationsunterschiede von TPS während des Menstruationszykluses gibt. In ihren Untersuchungen stellten sie fest, dass es zu einem signifikanten Anstieg der TPS-Konzentration um den Zeitpunkt der Ovulation (± 3 Tage) kommt. Bei schwangeren Frauen stellten sie fest, dass mit Zunahme der Gestationsdauer die TPS-Konzentration anstieg und im letzten Trimester bei > 130 U/l lag. Zum Zeitpunkt der Entbindung lagen die TPS-Konzentration sogar bei 982 U/l, kurz danach bei 825 U/l. Nach der Entbindung gingen die Konzentrationen von TPS innerhalb von 3 Tagen auf ein Viertel des Ausgangswertes zurück (27).

Ob eine Beziehung zwischen Alter und TPS-Konzentration besteht, ist in der Literatur nicht beschrieben und wurde auch in dieser Arbeit nicht überprüft.

5.3.1 Morbus Bechterew (ASP)

Beim Morbus Bechterew handelt es sich um eine chronisch entzündlich-proliferative Erkrankung aus dem rheumatischen Formenkreis. Da die TPS-Konzentration von der Proliferation von Zellen abhängt, sollte in der vorliegenden Untersuchung nicht nur überprüft werden, ob TPS als Tumormarker bei entzündlichen Erkrankungen falsch hoch sein kann, sondern auch, ob TPS alternativ als Marker zur Beurteilung der proliferativen Aktivität eines Morbus Bechterew eingesetzt werden kann.

Als etablierte Entzündungsmarker gelten bei der ASP die Blutsenkungsgeschwindigkeit und das C-reaktive Protein. Ein Vergleich von TPS mit der BSG (5.1.1.1.) ergab keine eindeutige Beziehung zwischen beiden Kenngrößen. Ebenso brachte der Vergleich von TPS und CRP (5.1.1.2.) keine eindeutige Beziehung. Eine positive

Korrelation bestand erwartungsgemäß zwischen CRP und BSG, wie aus Tab.14 (5.1.1.3.) zu erkennen ist.

Die TPS-Bestimmung ergab 65 % der Werte im Normbereich bis 55 U/l, 20 % im Grenzbereich und 15 % im pathologischen Bereich >95 U/l. Ein geschlechtsspezifischer Unterschied fand sich bei den pathologischen Werten nicht. Von den 6 erhöhten TPS-Spiegeln waren 3 aus Seren von weiblichen Probandinnen. Beim direktem Vergleich der Ergebnisse dieses Kollektivs mit jenen der Blutspender fand sich kein Unterschied hinsichtlich des Mittelwertes von TPS im Serum Tab.40.

Tab. 40:		
Mittelwert und Standardabweichung von TPS im Serum aller Patienten mit ASP (n = 40) und Blutspendern (n = 49)		
	TPS [U/l]	
	ASP	Blutspender
Mittelwert und Standardabweichung	64 ± 71	56 ± 35

Betrachtet man allerdings nur die Mittelwerte der TPS-Konzentrationen im pathologischen Bereich, fällt auf, dass der Mittelwert bei der ASP deutlich höher liegt als bei den Blutspendern Tab.41.

Tab.41:		
Mittelwert und Standardabweichung von TPS bei Patienten mit ASP (n = 6) und Blutspendern (n = 5) deren TPS im Serum im pathologischen Bereich lagen (>95U/l)		
	TPS [U/l]	
	ASP	Blutspender
Mittelwert und Standardabweichung	206 ±± 90	138 ± 29

Ein Erklärungsversuch könnte sein, dass bei der ASP eine erhöhte Proliferation stattfindet und deshalb erhöhte TPS-Werte zu erwarten sind. Da der Morbus Bechterew gerade in den frühen Stadien eine hohe Entzündungsaktivität zeigt, könnte eine Abhängigkeit

des TPS-Spiegels vom Stadium der Erkrankung zu erwarten sein. Wie in Tab.15 (5.1.2.) zu sehen ist, ist dies aber nicht der Fall.

Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse eignet sich TPS möglicherweise als Proliferationsmarker beim Morbus Bechterew, hat aber keine Aussagekraft hinsichtlich Schwere und Stadium der Erkrankung..

Eine mögliche Erklärung der pathologischen TPS-Spiegel ist die Tatsache, dass der Morbus Bechterew oft mit entzündlichen und proliferativen Begleiterkrankungen einhergeht, wie zum Beispiel einer generalisierten Vaskulitis, Iritis, Urethritis oder auch Entzündungen im Darmbereich. Wenn bei den untersuchten Patienten eine oder mehrere dieser Entzündungen vorgelegen haben sollten, könnte dies eine Erklärung für die pathologischen TPS-Spiegel sein. Da diese Untersuchung retrospektiv durchgeführt wurde, war es nicht möglich, genau festzustellen, ob und wenn ja, wer an diesen Begleiterkrankungen gelitten hat und wann diese aufgetreten sind.

5.3.2 Chronische Polyarthrit

Wie beim Morbus Bechterew, handelt es sich bei der chronischen Polyarthrit um eine entzündlich chronische Erkrankung. Bei der cP kommen, ebenso wie beim Morbus Bechterew, die etablierten Entzündungsmarker CRP und BSG zum Einsatz. Im Rahmen dieser Studie wurde untersucht, ob sich TPS bei der cP als Proliferationsmarker zur Stadieneinteilung oder Prognoseeinteilung eignet.

Der Vergleich von TPS mit der Blutsenkungsgeschwindigkeit ergab keine positive Korrelation (5.2.1.1.). Ebenfalls keine positive Beziehung ergab der Vergleich zwischen TPS und CRP (5.2.1.2.). Genauso wie beim Morbus Bechterew fand sich aber eine positive Beziehung zwischen CRP und der BSG.

Anders als beim Morbus Bechterew konnte bei der cP eine leichte Abhängigkeit der TPS-Spiegel vom Stadium der Erkrankung festgestellt werden (Tab.19, 5.2.1.3.). Allerdings ist diese Korrelation nicht statistisch abgesichert und deshalb diagnostisch nicht zuverlässig.

Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse kann daher auch bei der cP TPS nicht als Entzündungsmarker empfohlen werden.

In der hier durchgesehenen Literatur fand sich keine Untersuchung, bei der TPS bei der cP bestimmt wurde. Hingegen wurde in vielen Untersuchungen gezeigt, dass CRP und die BSG sinnvoll in der Diagnostik und Therapie eingesetzt werden können (54, 55, 56, 57).

5.4. TPS bei malignen Erkrankungen

In dieser Gruppe wurden Patienten mit Mammakarzinom ($n = 31$), mit Bronchialkarzinom ($n = 8$) und mit kolorektalem Karzinom ($n = 5$) zusammengefasst. Diese Gruppen wurde nochmals in eine Gruppe der rezidivfreien und eine Gruppe der Patienten mit einem Rezidiv unterteilt.

5.4.1. Patienten mit malignen Erkrankungen und Rezidiv

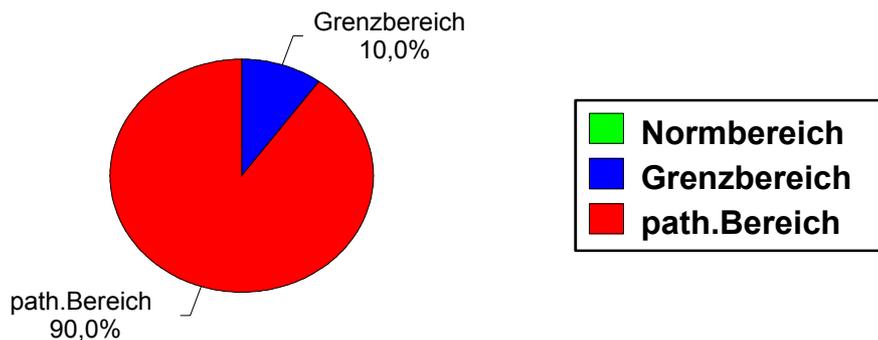


Abb.17: Verteilung aller TPS-Spiegel in der Gruppe der Patienten mit Rezidiv ($n = 9$)

Von den Patienten mit Rezidiv ($n = 9$) lagen bei 8 Patienten TPS-Spiegel im pathologischen Bereich (>95 U/l). Bei einem Patienten lag der Spiegel im Grenzbereich. Dies deutet auf eine hohe Sensitivität von TPS für die Erkennung des fortgeschrittenen Mammakarzinom, Bronchialkarzinom und Colonkarzinom hin. Da die TPS-Werte bei diesen Patienten deutlich erhöht waren, könnte man den cut-off Wert erhöhen, um die Spezifität zu steigern. Würde der Grenzwert bei 55 U/l festgelegt werden, läge die Sensitivität bei 100 %, bei einem Grenzwert von 95 U/l bei 89 % und bei einem oberen Grenzwert von 125 U/l bei 78 %.

Tab.42:

Die Sensitivität bei verschiedenen Grenzwerten:

Grenzwert bis	Sensitivität von TPS:
55 U/l	100 %
95 U/l	89 %
125 U/l	78 %

5.4.2. Patienten mit therapierten malignen Erkrankungen ohne Hinweis auf ein Rezidiv (n = 35)

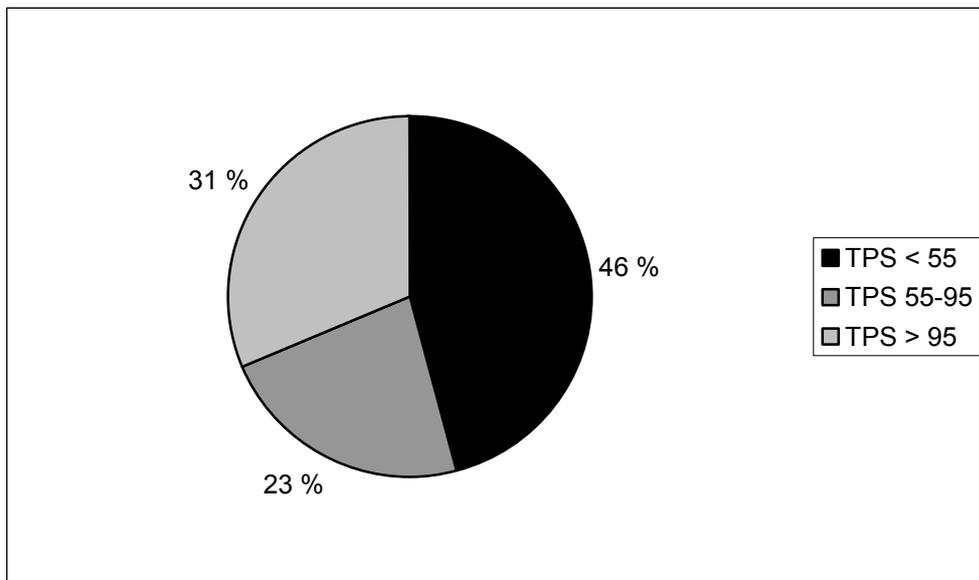


Abb.18: Verteilung aller TPS-Spiegel in der Gruppe der Patienten ohne Rezidiv (n = 35)

Die TPS-Konzentrationen bei den Patienten ohne Rezidiv nach Tumortherapie (n=35) waren in 16 Fällen im Referenzbereich und in 8 Fällen im Grenzbereich, dennoch waren 11 TPS-Spiegel im pathologischen Bereich. Welche Tatsachen zu diesem Ergebnis führten, konnte im Einzelnen nicht definitiv geklärt werden.

5.4.3. Zusammenfassende Beurteilung von TPS beim Mammakarzinom

Alle Patientinnen mit einem Rezidiv hatten auch erhöhte TPS-Werte, die zwischen 120 U/l und 1200 U/l lagen. Würde man den cut-off Wert bei 125 U/l festlegen, dies entspricht dem gewonnenem Referenzwert bei den Blutspendern, ergäbe sich eine Sensitivität von 80 %.

Folgende Tabelle gibt noch einmal Sensitivität und Spezifität von TPS bei verschiedenen cut-off Werten wieder, in Bezug auf die Blutspender:

Tab.44: Darstellung verschiedener cut-off-Werte von TPS bei Patientinnen mit Mammakarzinom und Rezidiv (n = 5):		
cut-off Wert für TPS	Spezifität in Bezug auf Blutspender	Sensitivität
55 U/l	63 %	100 %
95 U/l	90 %	100 %
125 U/l	95 %	80 %
155 U/l	98 %	80 %
205 U/l	100 %	60 %

Nach diesen Ergebnissen wäre die Festlegung eines oberen Grenzwertes auf 125 U/l vertretbar, da man sowohl eine akzeptable Sensitivität, als auch ein Spezifität, bezogen auf die Blutspender, erhält. Die Grenzwerte von 125 U/l (95% Spezifität) und 95 U/l (90 % Spezifität) entsprechen auch ungefähr den in der Literatur angegebenen Grenzwerten mit entsprechender Spezifität. Eskelinen et al. arbeiteten mit einem cut-off-Wert von 108 U/l, bei einer Spezifität von 90 % (30). In einer anderen Arbeit legten Eskelinen et al. den cut-off bei einer Spezifität von 90 % bei 156 U/l und bei einer Spezifität von 95 % bei 279 U/l fest (31). Andere Autoren setzten den cut-off-Wert niedriger an. Giai et al. erreichten bei einem cut-off-Wert von 80 U/l eine Spezifität von 95 % (32). Van Dalen erreichte sogar eine Spezifität von 95 % mit einem cut-off-Wert von 56 U/l. Das entspricht nahezu dem vom Hersteller des Testkits angegebenen Grenzwert (33).

Allerdings muss angemerkt werden, dass es sich bei dem Kollektiv der Tumorpatienten, das in dieser Studie untersucht wurde, um Patientinnen handelte, die alle Fernmetastasen und dementsprechend vermutlich eine größere Tumormasse aufwiesen. Da TPS neben der Tumorgöße die Proliferationsrate eines Tumors widerspiegelt, kann man die Ergebnisse dieser Arbeit nur auf Patientinnen mit Fernmetastasen anwenden, denn wie sich die TPS-Werte bei Patientinnen mit einem kleinem Lokalrezidiv verhalten, liess sich der Studie nicht entnehmen. Mehrere Autoren beschreiben, dass TPS bei Patientinnen mit Mammakarzinom und Fernmetastasen sehr hohe Werte erreicht und auch früher erhöht ist als CEA oder CA 15-3 (32, 33, 34, 35). O'Hanlon et al. berichten aber auch, dass die Höhe der TPS nicht mit der Anzahl der befallenen Lymphknoten korreliert (34). Womöglich haben diese Patienten geringere TPS-Konzentrationen und es müsste ein anderer, wahrscheinlich kleinerer, Grenzwert festgelegt werden. Bei der Beurteilung der TPS-Spiegel sind noch weitere Faktoren miteinzubeziehen. Zum Beispiel hat der Menstruationszyklus einen Einfluss auf die Höhe der TPS-Spiegel (37, 27). Keinen Einfluss hat hingegen das Alter der Patientin oder der histologische Typ des Mammakarzinoms (36).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass man bei Patientinnen mit Fernmetastasen eines Mammakarzinoms mit einem cut-off Wert von 125 U/l mit einer Sensitivität von 80 % Metastasen erfassen kann.

Die Bestimmung von **CA 15-3** im Rahmen dieser Studie ergab folgendes Ergebnis. Bei einem cut-off Wert von 25 U/ml lagen die Werte aller Patientinnen im pathologischen Bereich.

Demnach wäre die Wertigkeit von TPS und CA 15-3 gleich. Allerdings zeigte das CA 15-3 eine wesentlich bessere Spezifität bezogen auf das Kollektiv der Patientinnen mit Mammakarzinom ohne Rezidiv. Bei einem oberen Grenzwert von 25 U/ml lagen 96 % der als tumorfrei geltenden Patientinnen ohne Rezidiv im Referenzbereich. Nach den Ergebnissen dieser Studie ist das CA 15-3 mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 96 % dem TPS vorzuziehen, das ja, wie schon oben beschrieben, bei einer Sensitivität von 100 % nur eine Spezifität, bezogen auf die Blutspender, von 90 % hat.

Der ungeeignetste Tumormarker für das Mammakarzinom war in dieser Studie das CEA. Legt man beim CEA den cut-off Wert bei 5 ng/ml fest, liegt die Sensitivität bei 60 %. Die Spezifität liegt bei diesem Grenzwert bei 100%. Bei Zugrundelegung des für Raucher bestimmten cut-off-Wertes von 10 ng/ml, erhält man eine Sensitivität von 40 % und eine Spezifität von 100 %.

Tab. 45:
Darstellung der Spezifität und Sensitivität von TPS, CA 15-3 und CEA bei Patientinnen mit Mammacarcinom

Marker	Spezifität (bezogen auf Blutspender)	Sensitivität
TPS (cut-off 125 U/l)	95 %	80 %
CA 15-3 (cut-off 25 U/ml)	96 %	100 %
CEA (cut-off 5 ng/ml)	100 %	60 %

Nachstehende Tabelle zeigt die Spezifität und Sensitivität der drei Tumormarker TPS, CA 15-3 und CEA in kombiniertem Einsatz beim Mammakarzinom:

Tab.46:
Darstellung der Spezifität und Sensitivität von TPS (mit einem cut-off-Wert von 125 U/l), CA 15-3 und CEA in Kombination beim Mammakarzinom (n = 31)

Kombination der Marker	Spezifität	Sensitivität
TPS und CA 15-3	70 %	100 %
TPS und CEA	75 %	80 %
CA 15-3 und CEA	95 %	100 %
TPS, CA 15-3 und CEA	70 %	100 %

Auch bei der kombinierten Anwendung von Tumormarkern beim Mammakarzinom ergab die Arbeit, dass die Kombination von CA 15-3 und CEA mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 95 % am besten für die Diagnostik beim Mammakarzinom geeignet ist. Dieses Ergebnis deckt sich mit einer Vielzahl von Ergebnissen aus anderen Studien, die TPS, CA 15-3 und CEA verglichen haben. Willsher et al. fanden keine Verbesserung der Sensitivität durch Hinzunahme von TPS zu den etablierten Markern CA 15-3 und CEA (39). Schuurmann et al. beschreiben dagegen, dass sich die Sensitivität durch die

Kombination von CA 15-3 und TPS erhöhen lässt (41). Eskelinen et al. berichten, dass CA 15-3 der einzige Marker beim Mammakarzinom sei, der statistisch signifikant mit dem Stadium der Erkrankung zu assoziieren sei (40). Pronk et al. berichten, dass CA 15-3 ($P = 0.0001$) exakter als TPS ($P = 0.0005$) eine Veränderung des Tumorwachstums anzeige. Er hält aber eine Kombination von TPS mit CA 15-3 für durchaus sinnvoll (42).

Alle Patientinnen mit Mammakarzinom mit Rezidiv hatten Fernmetastasen in Leber, Haut , Knochen und Hirn. TPS war bei allen im pathologischen Bereich. Das arithmetische Mittel lag bei 415 U/l, dargestellt in Tab. 7. Van Dalen, O'Hanlon et al. und Blijlevens et al. beschreiben, dass TPS, bei Patientinnen mit Fernmetastasen, im Vergleich mit CA 15-3 und CEA signifikant höher sei (33, 34, 35). In dieser Studie war CA 15-3 allerdings auch bei allen untersuchten Patientinnen im pathologischen Bereich. Es war aber nicht notwendigerweise ein hoher Taps-Wert mit einem besonders hohem CA 15-3, oder umgekehrt, assoziiert. Bei nur zwei der 5 Patientinnen mit Fernmetastasen war CEA im pathologischen Bereich.

5.4.4. Zusammenfassende Beurteilung von TPS beim Bronchialkarzinom

Für die Überwachung des Bronchialkarzinoms werden zur Zeit das CEA, die Neuronen-spezifische Enolase, kurz NSE, sowie neuerdings Cyfra 21, für das Bronchialkarzinom, als Tumormarker verwendet (22). Im Rahmen dieser Studie wurde Cyfra 21 nicht bestimmt, da es erst nach Abschluss der Studie eingeführt wurde.

An einem kleinem Patientenkollektiv sollte untersucht werden, ob TPS auch beim Bronchialkarzinom einsetzbar ist und durch TPS die Sensitivität verbessert werden kann.

Zu diesem Zweck wurden 8 Patienten mit einem Bronchialkarzinom, vom Plattenepithelkarzinomtyp, untersucht. 4 der Patienten galten zum Untersuchungszeitpunkt als rezidivfrei. Die restlichen 4 hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung ein Rezidiv.

Im Kollektiv der Patienten mit Bronchialkarzinom ohne Rezidiv lag eine TPS-Konzentration im Referenzbereich (<55 U/l), lagen zwei im Grenzbereich und lag eine im

pathologischen Bereich (>95 U/l). Da zum Zeitpunkt der Bestimmung und auch im Zeitraum von 3 Monaten nach der TPS-Bestimmung bei diesen Patienten kein Rezidiv aufgetreten ist, sollte hier eigentlich keine Erhöhung von Tumormarkern vorliegen. Eine mögliche Erklärung des einen pathologischen Wertes (327 U/l) war ein seinerzeit bekanntes Ulcus duodeni et ventriculi. Bei diesem Patienten erfolgte 5 Monate später eine Nachbestimmung die eine TPS-Konzentration von 61 U/l ergab.

Im Kollektiv der Patienten mit Bronchialkarzinom und Rezidiv lag eine Probe im Grenzbereich (<95 U/l) und lagen drei im pathologischen Bereich (>95 U/l)

Für beide Kollektive wurden für TPS, bei verschiedenen Konzentrationen, die Sensitivität und Spezifität bestimmt. Das Ergebnis gibt folgende Tabelle wieder.

Tab. 47: Die Sensitivität bei Patienten mit Bronchialcarcinom:		
Grenzwert für TPS in U/l	Spezifität bezogen auf Blutspender	Sensitivität
55 U/l	63 %	100 %
95 U/l	90 %	75 %
125 U/l	95 %	75 %
155 U/l	98 %	50 %
205 U/l	100 %	50 %

Als weiterer Tumormarker wurde in dieser Gruppe NSE untersucht. Zwar lag für diesen Tumormarker die Spezifität bei 100%, die Sensitivität allerdings bei 0 %, dies ist erklärbar dadurch dass es sich bei den Patienten mit einem Rezidiv um Personen handelt, bei denen histologisch ein Plattenepithelkarzinom festgestellt wurde und nicht ein kleinzelliges Lungen Karzinom. Da NSE vor allem eine sehr gute Sensitivität beim kleinzelligen

Bronchialkarzinom hat, ist die gemessene Sensitivität von 0 % weder verwunderlich noch aussagekräftig.

Der dritte Marker, der gemessen wurde, war das CEA. Das CEA hatte in diesem Kollektiv eine Spezifität von 100 % und eine Sensitivität von 75 %, bei einem cut-off-Wert 5 ng/ml. Im Vergleich zu TPS und NSE hatte somit CEA die beste Spezifität bei einer nicht schlechteren Sensitivität (Tab. 18).

Das Kollektiv, das im Rahmen dieser Studie untersucht wurde, war zu klein, um allgemeingültige Aussagen treffen zu können. Dennoch kann man im Rahmen dieser Studie sagen, dass der Einsatz von TPS beim Bronchialkarzinom durchaus sinnvoll ist. Allerdings lässt sich anhand der Zahlen nicht sicher sagen, ob es sinnvoll ist, TPS alleine oder in Kombination mit CEA zu bestimmen.

In vielen Studien wurden NSE, TPS und CYFRA 21-1 auf ihre Sensitivität und Spezifität hin untersucht. Stieber et al. zeigten, dass CYFRA 21-1 im Vergleich zu den anderen Markern am sensitivsten für alle nichtkleinzelligen Lungenkarzinome ist. NSE ist weiterhin der sensitivste Marker für das kleinzellige Lungenkarzinom (43). Pujol et al. fanden in ihren Untersuchungen heraus, dass CYFRA 21-1 sowohl beim kleinzelligen, als auch beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom geeigneter ist als TPS (49). Stieber et al. zeigten hingegen, dass man die Sensitivität beim kleinzelligen Lungenkarzinom durch die Kombination von NSE mit CYFRA 21-1 (CYFRA 21-1 + NSE: 62%) und beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom durch die Kombination von CYFRA 21-1 und TPA (CYFRA 21-1 + TPA: 77%) erhöhen kann (44). Ähnliche Ergebnisse liefern auch Giovanella et al. in ihrer Studie (48).

Pujol et al. betrachteten TPS alleine beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom. Sie fanden bei einem cut-off-Wert von 140 U/l eine Sensitivität von 36 % bei einer Spezifität von 90 %. Wegen dieser geringen Sensitivität halten Pujol et al. den Einsatz von TPS beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom für ungeeignet (45).

Van der Gaast et al. hingegen stellten in ihren Untersuchungen fest, dass TPS beim nichtkleinzelligen Lungenkarzinom sinnvoll eingesetzt und zusammen mit dem Stadium der Erkrankung und der Histologie als prognostischer Faktor verwendet werden kann (46).

Giovanella et al. fanden eine höhere Sensitivität für CYFRA 21-1 als für TPS, in Bezug auf alle Stadien des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms. Die Sensitivität von TPS beim large cell carcinoma war besser, als die von CYFRA 21-1 (47).

Im Rahmen dieser Studie wird deutlich, obwohl nur ein sehr kleines Kollektiv betrachtet wurde, dass TPS beim Bronchialkarzinom bedingt hilfreich ist. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Ergebnissen aus anderen Studien, die den Einsatz von TPS beim Lungenkarzinom untersucht haben (43, 44, 46, 47). NSE wird aber immer noch als der geeignetste Marker beim kleinzelligen Lungenkarzinom angesehen (43). CYFRA 21-1 scheint die höchste Sensitivität beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom zu haben (49).

5.4.5. Zusammenfassende Beurteilung von TPS beim Kolorektalem Karzinom

Wie schon unter Punkt 4.2.3. beschrieben, lag der TPS-Spiegel eines Patienten im pathologischen Bereich. Klinisch war dieser Patient zum Zeitpunkt der Bestimmung und drei Monate danach tumorfrei. Der Patient litt an einer chronischen granulomatösen Entzündung im Darmbereich. Dies könnte für die Erhöhung des TPS-Spiegels verantwortlich gewesen sein. CA 19-9 war bei diesem Patienten ebenfalls erhöht.

Vergleicht man die TPS-Werte mit CEA und CA 19-9 kann man sagen, dass das CEA hier der beste Marker war. Gefolgt von CA 19-9. Als ungeeignetster Marker dieser Studie schnitt das TPS ab. CEA war in einem Fall erhöht. CA 19-9 in zwei Fällen. Um eine allgemeine Aussage zu treffen, war das Kollektiv zu klein ($n = 4$). Man kann aber aufgrund dieser Ergebnisse annehmen, dass beim kolorektalem Karzinom das CEA und das CA 19-9 besser geeignet waren als das TPS.

Plebani et al. zeigten in ihrer Studie, dass TPA und TPS (67 % und 70 %) die sensitivsten Marker beim Colonkarzinom sind. CEA, CA 19-9 und TPA werden dabei vor allem vom Tumorstadium beeinflusst, nicht dagegen TPS. CEA wird auch von der Tumordifferenzierung beeinflusst, das gleiche gilt auch für TPS. Sie bewiesen aber in ihrer

Studie, dass CEA am sensitivsten ein Rezidiv anzeigt (52). Nakayama et al. hielten die Kombination von CEA mit CA 19-9 für geeignet, ein Rezidiv frühzeitig zu erkennen (51). Carpelan-Holmstrom et al. berichten, dass TPS nur sinnvoll im Stadium Dukes D eingesetzt werden kann (53).

5.4.6. Zusammenfassende Beurteilung der Patienten mit malignen Erkrankungen

Zusammenfassend kann man nach den Ergebnissen dieser Studie sagen, dass der Grenzwert des Herstellers von 95 U/l zu niedrig angesetzt ist. Aus den hier gewonnenen Daten ist ein oberer Referenzwert von 125 U/l für TPS als Tumormarker vorzuschlagen, bei dem die Spezifität bei 74 % und die Sensitivität bei 78 % liegen würde.

Tab. 48: Spezifität und Sensitivität von TPS bei Patienten mit malignen Erkrankungen		
Grenzwert:	Spezifität:	Sensitivität:
55 U/l	46 %	100 %
95 U/l	69 %	89 %
125 U/l	74 %	78 %

6. Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, TPS bei verschiedenen benignen und malignen Erkrankungen zu bestimmen und die Ergebnisse auszuwerten.

Bei der Betrachtung aller gewonnenen Werte stellte sich heraus, dass der vom Hersteller angegebene Grenzwert für TPS von 95 U/l zu niedrig war. Nach den Ergebnissen dieser Studie sollte der Grenzwert bei 125 U/l festgelegt werden.

In der Gruppe der malignen Erkrankungen, die in dieser Studie mit Colonkarzinom, Bronchialkarzinom und Mammakarzinom untersucht wurden, erwies sich TPS beim Mammakarzinom als geeignet und beim Bronchialkarzinom als bedingt geeignet.

Der Versuch TPS als Entzündungsmarker bei entzündlichen Erkrankungen einzusetzen, stellte sich, zumindest beim Morbus Bechterew und der chronischen Polyarthritis, als unbrauchbar heraus.

Zusammenfassend ist der sinnvolle Einsatz von TPS vor allem beim Mammakarzinom angezeigt. Es scheint eine Kombination von TPS mit CA 15-3 am geeignetsten und der Kombination CEA und TPS überlegen. Speziell bei Patientinnen mit Fernmetastasen scheint der Einsatz von TPS sinnvoll zu sein.

Ebenso wird der TPS-Spiegel wahrscheinlich von vielen physiologischen und pathophysiologischen Vorgängen beeinflusst, so dass ein Screening mit TPS auf Tumoren keinesfalls sinnvoll ist und bei einem pathologischen TPS-Wert auch nicht-maligne Erkrankungen als Ursache hierfür ausgeschlossen werden müssen. Zum anderem ist nochmals darauf hinzuweisen, dass im Rahmen einer Schwangerschaft sehr hohe Werte zu erwarten sind.

Weiter ist zu beachten, dass im Fall hoher TPS-Werte die Leberenzyme bestimmt werden sollten, da Lebererkrankungen hohe TPS-Konzentrationen verursachen können (28).

Da es auch bei Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis zu Erhöhungen der TPS-Konzentrationen kam, ist gerade bei Patienten mit Erkrankungen aus diesem Bereich und gleichzeitiger Tumorerkrankung besondere Vorsicht geboten. Gerade hier ist die Eignung von TPS als Tumormarker möglicherweise eingeschränkt. Daher ist TPS nur dann zur

Verlaufsbeurteilung von Tumorerkrankungen heranzuziehen, wenn keine anderen verlässlichen Tumormarker zur Verfügung stehen.

7. **Literaturverzeichnis**

1.

R. Lamerz

Tumormarker Prinzipien und Klinik

Deutsches Ärzteblatt 86, 771-777 (April 1989)

2.

R. Lamerz

Klinische Relevanz von Tumormarkern

Wiener klinische Wochenschrift, 465 (Juli 1989)

3.

S. von Kleist

Was sind Tumormarker, und was können sie?

Wiener klinische Wochenschrift, 459-463 (Juli 1989)

4.

Pschyrembel

Klinisches Wörterbuch

de Gruyter Verlag Berlin New York, 1531, Auflage 256 (1990)

5.

Ole P. Børner, E. Paus, Kjell Nustad, Liv Theodorsen

Tumormarkøranalyser - nyttig verktøy ved riktig bruk

Tidsskrift for Den norske lægeforening, 3317 - 3320 (1994)

6.

B. Bjørklund

On the nature and clinic use of Tissue Polypeptide Antigen

Tumor Diagnostik 1, 9 - 20 (1980)

7.

B Bjørklund, Bjørklund V

Specificity and basis of the tissue polypeptide antigen

Cancer-Detect-Prev, 41 - 50 (1983)

8.

Nathrath WB, Heidenkummer P, V Bjørklund, B Bjørklund

Distribution of tissue polypeptide antigen (TPA) in normal human tissue:
Immunohistochemical study on unfixed, methanol-, ethanol-, and formalin-fixed tissue

J-Histochem-Cytochem, 99 - 109 (1985)

9.

Beham A, Weybora W, Lackinger E, Denk H, V Bjørklund, B Bjørklund

Distribution of TPA and Zytokeratins in gastrointestinal karzinomas as revealed by
immunohistochemistry

Virchows-Arch-[A], 641 - 655, (1986)

10.

B. Bjørklund

Tumor Markers TPA, TPA-S and Zytokeratins A Working Hypothesis

Tumordiagnostik und Therapie, 78 - 80 (1992)

11.

B. Bjørklund, V. Bjørklund

Biochemische und morphologische Grundlagen von TPA: Fortschritte in Richtung auf einen allgemeinen Marker für aktive Tumoren durch monoklonale Kartierung
Tumordiagnostik, Leonberg, 14 - 29 (1987)

12.

Madersbacher S, Gregor N, Theyer G, Steiner G, Marberger M

TPS as a useful epithelial proliferation and tumor marker
American Uro.Ass. Annual Meeting, Washington (1992)

13.

Steiner G

TPS- Ein Proliferationsmarker

Symposium "Zwei Jahre TPS-Assay" Bad Nauheim, 17 - 20 (22.und 23.6 1992)

14.

Van Dalen

TPA, TPS und Zytokeratine: die aktuelle Situation

Symposium "Zwei Jahre TPS-Assay" Bad Nauheim, 35 - 36 (22.und 23.6.1992)

15.

Hermann Biermann GmbH

Testbeschreibung zum TPS-ELISA

Beki Diagnostics (Februar 1993)

16.
Ivan M. Roitt, Jonathan Brostoff, David K. Male
Kurzes Lehrbuch der Immunologie, Deutsche Übersetzung von Ihor Harabacz
Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 333, 2.Auflage 1991
17.
Behringwerke AG
Testbeschreibung zu NA Latex CRP Reagenzien
Marburg (November 1992)
18.
Boehringer Mannheim Immundiagnostica
Enzymun-Test CEA, Testbeschreibung
Mannheim, (Juni 1993)
19.
Boehringer Mannheim Immundiagnostica
Enzymun-Test CA 19-9, Testbeschreibung
Mannheim (Juli 1993)
20.
Kabi Pharmacia
NSE RIA Radioimmunoassay, Testbeschreibung
Uppsala, Sweden (December 1992)
21.
Boehringer Mannheim Immundiagnostica
Enzymun-Test CA 15-3, Testbeschreibung
Mannheim (Juli 1993)

22.

H. Greiling, A.M. Gressner

Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie

Schattauer Verlag Stuttgart New York, 2.Auflage, 123f, 152, 153-154, 174, 1016
(1989)

23.

Classen, Diehl, Kochsiek

Innere Medizin

Urban & Schwarzenberg Verlag München-Wien-Baltimore, 2.Auflage, 411-413, 415-
418, 1439 (1993)

24.

Riede, Schäfer, Wehner

Allgemeine und spezielle Pathologie

Thieme Verlag Stuttgart New York, 2.Auflage, 1063 - 1064 (1989)

25.

Kurt Fehr, Wolfgang Miehle, Manfred Schattenkirchner, Karl Tillmann

Rheumatologie in Praxis und Klinik

Thieme Verlag Stuttgart New York, 7.1, 12.3 (1989)

26.

G.Herold

Innere Medizin

Georg Herold Köln, 480 (1993)

27.

Inaba N., Fukasawa I., Okajima Y., Ota Y., Tanaka K., Matsui H., Iwasaki H., Sato N., Sudo H., Bjørklund B. et-al

Immunoradiometrical measurement of tissue polypeptide specific antigen (TPS) in normal, healthy, nonpregnant and pregnant Japanese women

Asia-Oceania-J-Obstet-Gynecol., 459-466 (Dec.1993)

28.

Bremer K., Kizing F., Richter K., Bremer G., Klinler W.,

Tissue polypeptide specific antigen (TPS), ein neuer spezifischer Tumormarker für die Proliferationsaktivität menschlicher Karzinome

Klinische Wochenschrift, 203-204, (1991)

29.

Klaus L. Schmidt

Checkliste Rheumatologie

Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 9 (1991)

30.

Eskelinen M., Hippelainen M, Salmela E, Paajanen H., Alhava E., Syrjanen K.

A prospective study of tissue polypeptide specific antigen (TPS) in breast cancer diagnostic.

Anticancer Res. (Greece) Nov-Dec 1992 12 (6B) p2033-6 ISSN: 0250-7005

31.

Eskelinen M., Hippelainen M, Salmela E, PaaJanen H., Alhava E., SyrJanen K.
Clinical value of serum tumour markers TPA, TPS, TAG 12, CA 15-3 and MCA in
breast cancer diagnosis; results from a prospective study
Anticancer Res. (Greece) Mar-Apr 1994 14 (2B) p 699-703 ISSN: 0250-7005

32.

Giai M., Roagna R., Ponzone R., Biglia N., Sgro L., Perona M., Sismondi P
TPS and CA 15-3 serum values as a guide for treating and monitoring breast cancer
Patients.
Anticancer Res. (Greece) Mars-Apr 1996 16 (2) p875-81 ISSN:0250-7005

33.

van Dalen A
TPS in breast cancer - a comparative study with carcinoembryonic antigen and
CA 15-3.
Tumour Biol. (Switzerland) 1992 13 (1-2) p10-7 ISSN: 1010-4283

34.

O'Hanlon DM., Kerin MJ., O'Boyle C., Grimes H., Given H
Tissue polypeptide specific antigen (TPS) in breast cancer - an initial evaluation
Eur. J Surg. Oncol. (England) Feb 1996 22 (1) p38-41 ISSN: 0748-7983

35.

Blijlevens NM:, Oosterhuis WP., Oosten HR., Mulder NH.
Clinical value of TPS, CEA and CA 15-3 in breast cancer patients
Anticancer Res. (Greece) Nov-Dec 1995 15 (6B) p2711-6 ISSN: 0250-7005

36.

Karaloglu D., Yasasever V., Erturk N., Dalay N.

The value of TPS in breast cancer

Eur. J Gynaecol. Oncol. (Italy) 1995 16 (5) p363-7 ISSN: 0392-2936

37.

Giovagnoli MR., Valli C., Vecchione A.,

Immunohistochemical expression of tissue polypeptide specific (TPS) antigen in normal and neoplastic Tissue

Anticancer Res. (Greece) Mar-Apr 1994 14 (2B) p635-41 ISSN: 0250-7005

38.

Vibert HG, Houston AS, Wilkins GP, Kemp PM, Macleod MA

CA549 and TPS patterns in the diagnosis and staging of patients with breast carcinoma.

Int. J Biol. Markers (ITALY) Oct-Dec 1996 11 (4) p198-202 ISSN: 0393-6155

39.

Willsher PC, Beaver J, Blamey RW, Roberson JF

Serum tissue polypeptide specific antigen (TPS) in breast cancer patients: comparison with CA 15-3 and CEA.

Anticancer Res. (GREECE) Jul-Aug 1995 15 (4) p1609-11 ISSN: 0250-7005

40.

Eskelinen M, Kataja V, Hamalainen E, Kosma VM, Penttila I, Alhava E

Serum tumour markers CEA, AFP, CA 15-3 and Neu in diagnosis of breast cancer.

Anticancer Res. (GREECE) Mar-Apr 1997 17 (2B) p1231-4 ISSN: 0250-7005

41.

Schuurman JJ, Bong SB, Einarsson R

Determination of serum tumor markers TPS and CA 15-3 during monitoring of treatment in metastatic breast cancer patients.

Anticancer Res. (GREECE) Jul-Aug 1996 16 (4B) p2169-72 ISSN: 0250-7005

42.

Pronk LC, Stoter G, van Putten WL, de Wit R

The correlation of CA 15-3 and TPS with tumor course in patients with metastatic breast cancer.

J Cancer Res. Clin. Oncol. (GERMANY) 1997 123 (2) p128-32 ISSN: 0171-5216

43.

Stieber P, Dienemann H, Hasholzner U, Muller C, Poley S, Hofmann K, Fateh-Moghadam A

Comparison of Zytokeratin fragment 19 (CYFRA 21-1), tissue polypeptide antigen (TPA) and tissue polypeptide specific antigen (TPS) as tumour markers in lungcancer

Eur. J Clin. Chem. Biochem. (GERMANY) Oct 1993 31 (10) p689-94 ISSN: 0939-4974

44.

Stieber P, Dienemann H, Hasholzner U, Fabricius PG, Schambeck C, Weinzierl M, Poley S, Samtleben W, Hofmann K, Meier W, et al.

Comparison of CYFRA 21-1, TPA and TPS in lung cancer, urinary bladder cancer and benign diseases.

Int. J Biol. Markers (ITALY) Apr-Jun 1994 9 (2) p82-8 ISSN: 0393-6155

45.

Pujol JL, Cooper EH, Grenier J, Purves DA, Lehmann M, Ray P, Aouta MD,
Bashir M, Godard P, Michel FB

Clinical evaluation of serum tissue polypeptide-specific antigen (TPS) in non-small
cell lung cancer.

Eur. J Cancer (ENGLAND) 1994 30A (12) p1768-74 ISSN: 0959-8049

46.

van der Gaast A, Schoenmakers CH, Kok TC, Blijenberg BG, Hop WC, Splinter TA
Prognostic significance of tissue polypeptide-specific antigen (TPS) in patients with
advanced non-small cell lung cancer.

Eur. J Cancer (ENGLAND) 1994 30A (12) p1783-6 ISSN: 0959-8049

47.

Giovanella L, Ceriani L, Bandera M, Rimoldi R, Beghe B, Roncari G

Tissue polypeptide specific antigen (TPS) and Zytokeratin 19 fragment (CYFRA 21.1)
immunoradiometric assay in non small cell lung cancer evaluation.

Q J Nucl. Med (ITALY) Dec 1995 39 (4) p285-9

48.

Giovanella L, Ceriani L, Bandera M, Beghe B, Roncari G

Evaluation of the serum markers CEA, NSE, TPS and CYFRA 21.1 in lung
cancer

Int. J Biol. Markers (ITALY) Jul-Sep 1995 10 (3) p156-60 ISSN: 0393-6155

49.

Pujol JL, Grenier J, Parrat E, Lehmann M, Lafontaine T, Quantin X, Michel FB
Zytokeratins as serum markers in lung cancer: a comparison of CYFRA 21-1 and TPS.
Am J Respir. Crit. Care Med (UNITED STATES) Sep 1996 154 (3 Pt 1) p725-33
ISSN
1073-449X.

50.

Bodenmuller H
The biochemistry of CYFRA 21-1 and other Zytokeratin-tests
Scand J Clin. Lab Invest Suppl. (NORWAY) 1995 221 p60-6 ISSN: 0085-591X

51.

Nakayama T, Watanabe M, Teramoto T, Kitajima M
Slope analysis of CA 19-9 and CEA for Predicting recurrence in colorectal
cancer patients
Anticancer Res. (GREECE) Mar-Apr 1997 17(2B) p1379-82 ISSN:0250-7005

52.

Plebani M, De Paoli M, Basso D, Roveroni G, Giacomini A, Galeotti F, Corsini A.
Serum tumor markers in colorectal cancer staging, grading, and follow-up.
J Surg. Oncol. (UNITED STATES) Aug 1996 62(4) p239-44 ISSN: 0022-4790

53.

Carpelan-Holmstrom M, Haglund C, Lundin J, Alfthan H, Stenman UH, Roberts PJ
Independent prognostic value of preoperative serum markers CA 242, specific tissue
polypeptide and human chorionic gonadotrophin beta, but not of carcinoembryonic
antigen or tissue polypeptide antigen in colorectal cancer
Br J Cancer (ENGLAND) Sep 1996 74(6) p925-9 ISSN:0007-0920

54.

Blackburn WD Jr

Validity of acute phase proteins as markers of disease activity

J Rheumatol. Suppl. (CANADA) Oct 1994 42 p9-13 ISSN: 0380-0903

55.

Wolfe F

Comparative usefulness of C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in patients with rheumatoid arthritis

J Rheumatol. (CANADA) Aug 1997 24(8) p1477-85 ISSN: 0315-162X

56.

Galeazzi M, Morozzi G, Veronesi M, Ronconi S, Magi B, Bini L, Marcolongo R.

Usefulness of the determination of C reactive protein and other acute proteins in rheumatoid arthritis.

Recenti. Prog. Med (ITALY) Nov 1995 86(11) p456-62 ISSN: 0034-1193

57.

Balci K, Erdogan F, Bayrak S

A practical test and its value in rheumatoid arthritis

Indian J Med Sci. (INDIA) Feb 1989 43(2) p32-5 ISSN:0019-5359

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dr. N. Katz für die Aufnahme in das Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie und seine ständige Unterstützung bedanken.

Herrn Dr. Uwe Lange gilt mein besonderer Dank für seine freundliche Mitarbeit und für die fruchtbaren Diskussionen.

Ebenfalls möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Schmidt und Herrn Oberarzt Dr. Berliner sehr herzlich bedanken, die mir durch ihre Unterstützung ermöglichten, die Kapitel Morbus Bechterew und Rheumatoide Arthritis überhaupt zu beginnen.

Weiterhin gilt mein Dank den Damen des Instituts für Klinische Chemie und des RIA-Labors der Justus-Liebig-Universität, die immer Zeit hatten und mich freundlich unterstützten.

Schließlich danke ich meinen Eltern, deren Unterstützung mir das Studium überhaupt ermöglichte, meiner Schwester Monika, die mir bei der Erstellung der Graphiken half, und meiner damaligen Freundin und jetzigen Ehefrau Gudrun für ihr Verständnis.

Conclusion:

The aim of this study was to test TPS in different benign and malignant diseases.

The upper cut-off for TPS of 95 U/l as recommended by the Kid producer, seems to be too low. After testing TPS in this study, the cut-off should be 125 U/l in order to obtain a good specificity and sensitivity.

In the group of patients with malignant diseases: colon cancer, lung cancer and breast cancer, TPS seems to be a good marker in breast cancer and a useful marker in lung cancer.

The most useful application of TPS seems to be in breast cancer, especially in combination with CA 15-3. TPS and CA 15-3 seem to be better marker to follow these patients than the combination CEA and CA 15-3.

TPS is not a useful screening-tool, because of the influence of various physiological and patho-physiological processes.

In the group of patient with benign diseases: chronic polyarthritis and ankylosing spondylitis, TPS seems inadequate to follow the inflammatory process.

Liver diseases can cause elevation of the TPS concentration. Inflammatory diseases can cause high TPS concentration. This is important in patients who have both an inflammatory as well as malignant disease. In these TPS should only be used in the absence of an alternative tumour-marker.

Lebenslauf

Vor- und Zuname	Peter Wilhelm Hatlen-Rebhan geb. Rebhan	
Geburtsdatum und -ort	13 März 1968 in München	
Familienstand	Verheiratet mit Gudrun Hatlen	
Staatangehörigkeit	deutsch	
Eltern	Rosi und Klaus Rebhan	
Schulausbildung	1974 - 1978	Grundschule Bogenhausen, München
	1978 - 1988	Luitpold Gymnasium, München
Bundeswehr	Juli 1988 – September 1989	Sanitätseinheit in Brannenburg
Hochschulstudium	1990 - 1997	Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität in Giessen
	1996 - 1997	Praktisches Jahr am Kreiskrankenhaus in Wetzlar
	April 1997	Abschluss des Studiums der Humanmedizin mit dem 3.Staatsexamen mit der Note -gut- (1,83)
Berufserfahrung	Juni 1997 – Dezember 1998	Arzt im Praktikum in der Innere Medizinische Abteilung am Krankenhaus in Stavanger und Haugesund, Norwegen.
	1999	Assistenzarzt in der radiologischen Abteilung am Krankenhaus in Haugesund, Norwegen.
	Januar 2000 – März 2001	Assistenzarzt in der Inneren Medizinischen Abteilung am Krankenhaus in Haugesund, Norwegen.
	Seit April 2001	Assistenzarzt in der Inneren Medizinischen Abteilung (Pulmonologi, Hämatologi und Gastroenterologi) am Universitätskrankenhaus in Trondheim, Norwegen
Fremdsprachen	Norwegisch Englisch	