

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. K. Friese

**Nachweis von bekannten und neuen Tumormarkern
im Serum von Patientinnen mit Ovarialkarzinom
und benignen Erkrankungen des Ovars**

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

vorgelegt von

Anamur Lan Schumacher
aus Heidelberg

München 2008

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. rer. nat. Udo Jeschke

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Hans-Joachim Stemmler
Priv. Doz. Dr. Michael Vogeser

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr. Ioannis Mylonas

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 05.06.2008

Mit Dankbarkeit meinen lieben Eltern gewidmet,
die mich in meinen Vorhaben unterstützten.

3.2.5 PankoMab.....	45
3.2.6 CEA.....	46
3.2.7 hCG.....	47
3.2.8 GdO89.....	48
3.2.9 GdO90.....	49
3.2.10 Glycodelin O in differenzierter Betrachtung der benignen Befunde....	50
3.2.11 Vergleich der signifikanten Marker.....	52
3.3 Korrelationen.....	53
3.3.1 CA 125.....	53
3.3.2 CA 15.3.....	53
3.3.3 CA 27.29.....	53
3.3.4 CA 19.9.....	54
3.3.5 PankoMab.....	54
3.3.6 CEA.....	54
3.3.7 HCG.....	54
3.3.8 GdO89.....	54
3.3.9 GdO90.....	54
<u>4. Diskussion</u>	56
4.1 Unterschiede zwischen malignen und benignen Befunden.....	56
4.1.1 Membranständige Tumormarker	56
4.1.1.1 Cancer Antigen 125 (CA 125).....	56
4.1.1.2 CA 125 im Vergleich mit MUC1-Markern.....	57
4.1.1.2.1 CA 15-3 und CA 27.29 im Vergleich.....	58
4.1.1.2.2 CA 19-9 im Vergleich.....	58
4.1.1.2.3 Beurteilung von PankoMab	59
4.1.1.3 Beurteilung von CEA.....	60
4.1.2 Sezernierte Tumormarker	61
4.1.2.1 Glycodelin.....	61
4.1.2.2 hCG.....	62
4.2 Korrelationen zwischen Tumormarkern, Kombinationsmöglichkeiten.....	63
4.2.1 Korrelationen mit CA 125.....	64
4.2.2 Korrelation der Muzine untereinander.....	64
4.2.3 Korrelation mit CEA.....	65
4.2.4 Korrelation mit hCG.....	65
4.2.5 Korrelationen mit Glycodelin-O.....	66
4.3 Zusammenfassung und Ausblick dieser Arbeit.....	67
<u>5. Literaturverzeichnis</u>	68
<u>6. Anhang</u>	75
6.1 Abkürzungsverzeichnis.....	75
6.2 Abbildungsverzeichnis.....	76
6.3 Tabellenverzeichnis.....	77
6.4 Bezugsquellenverzeichnis.....	78
<u>Danksagung</u>	79
<u>Curriculum Vitae</u>	80

Zusammenfassung

Einleitung:

Maligne Erkrankungen des Ovars, insbesondere das am häufigsten vorkommende epitheliale Ovarialkarzinom sind bislang nicht im Frühstadium der Erkrankung diagnostizierbar. Zudem kann eine zuverlässige Differenzierung zwischen benignen und malignen Tumoren vor dem Einsatz operativer Diagnostik nicht durchgeführt werden. Die vorliegende Studie wurde daher mit der Fragestellung konzipiert, über die Bestimmung bekannter und neuer Tumormarker im Serum neue Möglichkeiten für die Etablierung eines oder mehrerer Differenzierungsmarker zu finden.

Im Serum der Patientinnen wurden die Muzin-Marker CA 125, CA 15-3, CA 27.29, CA 19-9 und PankoMab bestimmt, außerdem das Carcinoembryonale Antigen (CEA), humanes Choriongonadotropin (hCG) und Glycodelin.

Patientinnen, Material und Methoden:

Die Bestimmung der Tumormarkerspiegel erfolgte in 120 Seren von Patientinnen der 1. Frauenklinik mit Verdacht auf Ovarialkarzinom. Die Blutabnahme fand präoperativ statt, nach Zentrifugation wurden die Seren tiefgefroren gelagert, und mittels Immunoassay die Marker detektiert (Sandwich-ELISA, kompetitiver EIA).

Ergebnisse:

Anhand der histologischen Befunde wurden n=44 Patientinnen der malignen, n=76 Patientinnen der benignen Gruppe zugeteilt.

CA 125, CA 15-3, CA 27.29, hCG und Glycodelin zeigten in der Differenzierung zwischen benigne und maligne signifikante Unterschiede im Median. CA 125, CA 15-3, CA 27.29 und hCG waren bei malignen Tumoren signifikant erhöht, Glycodelin waren bei benignen Tumoren signifikant höher. PankoMab zeigte knapp signifikant erhöhte Werte bei benignen Tumoren. In der Spearman Korrelation korrelierten einige der Muzine hochsignifikant miteinander (CA 125, CA 15-3, CA 27.29, CA 19-9), CA 125 korrelierte signifikant mit CA 15-3, CA 27.29 und hCG, PankoMab konnte hochsignifikante Korrelationen aufweisen (CA 15-3, CA 27.29, CEA), Glycodelin korrelierte negativ mit CA 125, und positiv mit CA 27.29 und CA 19-9.

Diskussion:

Innerhalb dieser Studie sollte untersucht werden, ob eine erweiterte Bestimmung von Tumormarkern bei benignen und malignen Erkrankungen des Ovars zur Differenzierung beider Erkrankungen dienen kann. Die signifikanten Unterschiede

des Markers CA 125 und zusätzlich der Marker CA 15-3, CA 27.29 und hCG sind als neue Option zu Differenzierung bei beiden Erkrankungen dabei positiv zu werten. Insbesondere könnten auf Grundlage der Korrelationsberechnungen mehrere der untersuchten Marker, wie auch PankoMab und Glycodelin in Kombinationsbestimmung eingesetzt werden und somit ein zusätzliches Differenzierungspotential bei der Unterscheidung von malignen und benignen Erkrankungen des Ovars bieten.

1. Einleitung

1.1 Ovarialkarzinom

1.1.1 Ätiologie und Epidemiologie

Das Ovarialkarzinom steht in Deutschland mittlerweile an siebter Stelle in der Rangfolge der Inzidenz (nach Brustkrebs, Darmkrebs, Leukämien und Lymphomen, Karzinom des Corpus uteri, Magenkrebs und Bronchialkarzinom) und ist somit nach dem Endometriumkarzinom der zweithäufigste maligne Genitaltumor der Frau (1).

Die Mortalitätsrate des Ovarialkarzinoms ist die höchste aller gynäkologischen Tumoren. Es gehört nach Brustkrebs, Darmkrebs, Bronchialkarzinom, Magenkarzinom, Leukämien und Lymphomen und Pankreaskarzinom zu den acht häufigsten Krebstodesursachen in Deutschland (17). Die 5-Jahres-Überlebensrate (Gesamtüberleben) beträgt 45%, die 10-Jahres-Überlebensrate (Gesamtüberleben) 35% (1, 2, 16)

Die Ätiologie des Ovarialkarzinoms ist bisher noch zum größten Teil ungeklärt. Es gibt jedoch einige Anhaltspunkte bezüglich Risikofaktoren und der möglichen Beeinflussung dieser.

Das Ovarialkarzinom ist ein maligner Tumor des Keimepithels des Ovars. Epitheliale Tumore des Ovars entstammen der die Ovarien umhüllenden Zellschicht. Da diese Epithelzellen nach der Ovulation für die Regeneration der Oberfläche des Ovars verantwortlich sind, besitzen sie eine natürliche hohe Proliferationsrate. So scheinen in der Pathogenese des Ovarialkarzinoms Verletzungen des Oberflächenepithels während der Ovulation eine Rolle zu spielen.

Das damit verbundene Risiko der malignen Entartung steigt mit der zunehmenden Zahl an Ovulationen an. Hierbei scheint die medikamentöse Ovulationshemmung eine protektive Wirkung zu haben (Tab. 1.1).

Ein weiterer Risikofaktor stellt das Lebensalter dar. Mit zunehmendem Alter steigt auch die Inzidenz des Ovarialkarzinoms an (Abb. 1.1).

Mehr als 48 Prozent aller Ovarialkarzinome treten bei Frauen ab dem 65. Lebensjahr auf. Pro Jahr erkranken nach Schätzungen der WHO weltweit knapp 200000 Frauen an einem Ovarialkarzinom (60). Hierbei zeigen sich jedoch erhebliche Unterschiede

bezüglich der Inzidenz und Mortalität zwischen den so genannten ‚less developed countries‘ und ‚more developed countries‘. Im internationalen Vergleich sind die absolute und altersstandardisierte Inzidenz und Mortalität in den ‚less developed countries‘ deutlich höher (60).

Risikofaktor	geschätztes relatives Risiko
höheres Lebensalter	3
Wohnort in Nordamerika oder Nordeuropa	2-5
höheres Bildungsniveau und Einkommen	1,5-2
weiße Rasse	1,5
Anamnese mit Sterilitätstherapie	2-5
frühe Menarche	1,5
späte Menopause	1,5-2
Status nach Hysterektomie	0,5-0,7
Verwendung oraler Kontrazeptiva	0,3-0,5
Ovarialkarzinom in der Verwandtschaft	3-4

Tabelle 1.1: Risikofaktoren des Ovarialkarzinoms (nach Ozols et al., 1997)*

*Die relativen Risiken variieren je nach Studie und Referenzgruppe

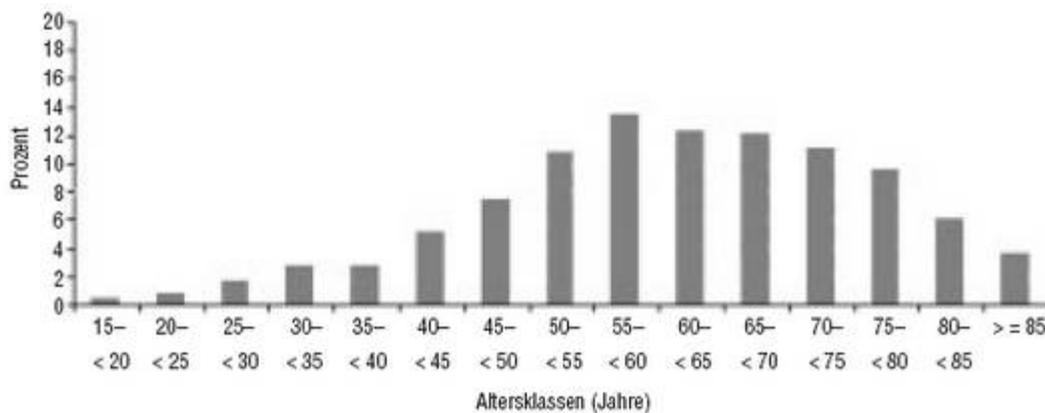


Abbildung 1.1: Altersverteilung bei Diagnosestellung maligner Ovarialtumoren (ab 1988 bis 2002, Region: n = 2308).

aus: Engel J., H.G., Schubert-Fritschle G., *Epidemiologie maligner Ovarialtumoren*. MANUAL Maligne Ovarialtumoren. 2004, Munich: Tumorzentrum München

1.1.2 Histologische Differenzierungsformen

Histologisch werden die malignen Ovarialtumoren in folgende Hauptgruppen eingeteilt (nach WHO (41)).

- **Oberflächenepithel-Stromatumoren (90%)**
zu diesen gehören die serösen, muzinösen , endometroiden und klarzelligigen Tumoren
- **Keimstrangstromatumoren (bis 3%)**
- **Keimzelltumoren (1-3%)**
 - Gonadoblastom (selten)
 - Keimzell-Keimstrangstroma-Tumor (selten)
 - Tumoren des Rete ovarii
 - Mesotheliale Tumoren
 - Tumoren unsicherer Histogenese und verschiedene Tumoren
 - Gestationale trophoblastische Erkrankungen
 - Weichgewebstumoren, nicht ovarspezifisch
 - Maligne Lymphome, Leukämien und Plasmozytome
 - Unklassifizierbare Tumoren
 - Metastasen

Etwa 90% aller malignen Ovarialtumoren sind epithelialen Ursprungs. Der Malignitätsgrad der Ovarialkarzinome ist einerseits vom Subtyp, andererseits vom Differenzierungsgrad abhängig.

Mit einer günstigen Prognose sind die so genannten Borderline- oder LMP-Tumoren (Grenzfälle der Malignität; low malignant potential), die hochdifferenzierten muzinösen und endometroiden Adenokarzinome, die klarzelligen Karzinome, ferner auch die nicht-epithelialen Keimzell- und Granulosatumoren behaftet.

Ungünstig und mit einer sehr frühen abdominellen Ausbreitung vergesellschaftet sind undifferenzierte und seröse Karzinome.

1.1.3 Stadieneinteilung

Die Stadieneinteilung hängt von dem makroskopischen Operationsbefund und dem histologischen Befund ab.

1.1.4 Früherkennung und Prognose

Bei 70% der Patientinnen wird aufgrund der meist unauffälligen bis asymptomatischen Klinik die Diagnose erst in den fortgeschrittenen Stadien FIGO (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique) III und IV gestellt. Die Gesamt-5-Jahres-Überlebensraten sind daher mit 45% sehr niedrig. Dagegen ist die Prognose der früheren Tumorstadien wesentlich günstiger.

Eine Früherkennung ist weder im individuellen Fall noch im Screening-Verfahren mit den bisherigen diagnostischen Mitteln und möglichst gering invasiven Methoden effektiv möglich. Mit der Einführung zuverlässiger Screeningmethoden könnte eine Verbesserung der Therapiemöglichkeiten, der Therapieergebnisse, der Gesamtprognose und letztendlich auch eine Abnahme der Inzidenz durch eine effektive Früherkennung präinvasiver Tumorstadien erreicht werden (69).

Die Ansprüche an Screeningmethoden sind hoch: Sowohl eine hohe Sensitivität als auch Spezifität sind notwendig, ganz besonders wäre in Anbetracht der niedrigen Prävalenz des Ovarialkarzinoms eine Spezifität von über 99% erforderlich.

Von besonderem Interesse ist außerdem eine Differenzierungsmöglichkeit zwischen benignen und malignen Raumforderungen der Adnexe. Bislang wird jede verdächtige tumoröse Masse am Ovar operativ exploriert. Mit einer zuverlässigen Differenzierungsmöglichkeit könnte der Einsatz operativer Verfahren individuell angegangen werden und womöglich einigen Patientinnen erspart bleiben.

Für den Einsatz als Differenzierungs- bzw. Screeningverfahren kommen folgende Verfahren in Frage:

- die Bestimmung von Tumormarkern
- die Transvaginalsonographie
- die Farbdopplersonographie als additives Verfahren

1.2 Tumormarker – Begriffsdefinition

Tumormarker sind Substanzen, die von malignen Tumorzellen direkt gebildet werden oder Tumorzellen induzieren die Synthese des Markers in Nicht-Tumorzellen. Treten Tumormarker in erhöhter Konzentration im Blut oder in anderen Körperflüssigkeiten (humorale Tumormarker) bzw. in oder auf Zellen (zelluläre Tumormarker) auf, ermöglichen sie Rückschlüsse auf das Vorliegen, den Verlauf und die Prognose einer Tumorerkrankung.

Strukturell können Tumormarker onkofetale Antigene, mit monoklonalen Markern erkennbare Kohlenhydratepitope, Enzyme, Isoenzyme, andere onkogene Produkte und Rezeptoren sein.

Aufgaben eines Tumormarkers

Ein idealer Tumormarker sollte folgende Aufgaben erfüllen können:

- Eignung zum Tumorscreening
- gute Organspezifität
- Aussagen über die Tumorprogredienz, Tumorstadium (Markerkonzentration im Serum korreliert mit der Tumorzellmasse)
- Früherkennung eines Rezidivs/Metastasierung
- sensitive, standardisierbare und reproduzierbare Bestimmungsmethode
- 100%ige Sensitivität (keine falsch-negativen Ergebnisse)
- 100%ige Spezifität (keine falsch-positiven Ergebnisse)
- kosteneffektiv

1.3 Verwendete Tumormarker und ihre Einteilung

Die in der vorliegenden Studie verwendeten Tumormarker lassen sich in zwei Hauptgruppen einteilen:

- Die membranständigen Tumormarker, welche in gescheddeter Form im Serum nachweisbar sind CA125, CA15-3, CA19-9, CA27.29, PankoMab, CEA
- Die frei sezernierten Tumormarker hCG, und Glycodelin

1.3.1 Membranständige Tumormarker

Muzine

CA125, CA15-3, CA19-9, CA27.29 und TA-MUC-1 (PankoMab) zählen zu den Epitopen von membrangebundenen Glykoproteinen der Muzingruppe, welche durch spezifische monoklonale Antikörper detektiert werden können.

Es sind verschiedene Gruppen der Muzine bekannt. Physiologischerweise werden sie von Drüsenepithel gebildet. Eine Hochregulierung der Muzinexpression findet sich häufig bei neoplastischen Vorgängen.

MUC1

MUC1 wird als humanes epitheliales Muzin bezeichnet. Die Tumomarker CA15-3, TA-MUC-1, CA27.29 und CA19-9 sind Epitope der MUC1-Muzingruppe.

Muzine sind am besten bekannt als Hauptbestandteil von Mucus. Sie sind hochmolekulare, glykosylierte Glycoproteine (250-500kDa), welche zum einen zellmembrangebunden auf epithelialen Zellen von Brustdrüsen, Speicheldrüsen, Verdauungstrakt, Respirationstrakt, Nieren, Blase, Prostata, Uterus und Rete testis vorkommen und zum anderen an den genannten Orten sezerniert werden (22).

Die große Vielfalt der Muzinantigene kommt durch die unterschiedliche Zusammensetzung der Epitope zustande. Hierbei werden Peptidepitope von Kohlenhydratepitopen unterschieden. Für die Detektion bestimmter Antigene hat die Spezifität dieser Epitope und deren Charakterisierung entscheidende Bedeutung (62, 63).

Das reife Molekül ist über eine transmembranöse Domäne in der Zelloberfläche verankert. Der größte Teil wird jedoch extrazellulär exprimiert. Der extrazelluläre Anteil überragt in seiner Länge die meisten anderen an der Zelloberfläche exprimierten Makromoleküle. Die genaue physiologische Funktion der MUC1-Muzine wird noch diskutiert, als Marker vieler Karzinome haben sie jedoch große Bedeutung (62, 63).

Der Zusammenhang zwischen Muzinen und Malignität ist gut dokumentiert. Neben erhöhter Synthese bzw. Sekretion von Muzinen ist wahrscheinlich eine in malignen

Zellen veränderte Glykosylierung verantwortlich für viele immunologische Unterschiede zwischen malignem und normalem epithelialeem Gewebe (11-13).

In malignen Zellen ist die Expression von MUC1 erhöht und ihr Vorkommen ist nicht mehr nur auf die Zelloberfläche begrenzt. Von der Zelloberfläche losgelöste MUC1-Proteine gelangen in die Blutzirkulation. Über die serologische Bestimmung dieser Moleküle über monoklonale Antikörper im Immunoassay kann eine Einschätzung der Tumormasse vorgenommen werden, zudem können über wiederholte Bestimmungen Verlaufsparmeter wie Wiederauftreten der Krankheit, Progression bzw. Ansprechen auf Therapie beobachtet werden (62, 63) .

MUC16

CA125 ist nach neueren Erkenntnissen ein Epitop der Gruppe der MUC16-Glykoproteine (80, 81) .

1.3.1.1 Cancer Antigen 125 (CA 125)

CA 125 ist ein hochmolekulares Glykoprotein (MUC16) mit einem Molekulargewicht von ca 1000 kDa. Das Epitop ist auf dem Protein MUC16 lokalisiert (80, 81) .

CA 125 kommt postnatal hauptsächlich auf epithelialen Zellen von Ovar, Tube und Endometrium vor. CA 125 wird aber auch in geringen Mengen von Epithelien der Bronchien oder des Kolons gebildet. Mehrere benigne Erkrankungen können vermutlich aufgrund einer Stimulation der serösen Oberfläche mit einer Erhöhung des CA 125 vergesellschaftet sein (21).

CA 125 wird in der klinischen Routine als Verlaufsmarker der Wahl beim Ovariakarzinom eingesetzt. Die diagnostische Sensitivität von CA 125 beim Ovariakarzinom beträgt in etwa 85% (28, 52, 78), jedoch findet man nur in 50% der Fälle im FIGO Stadium I eine erhöhte CA 125 Serumkonzentration (78).

Es liegt eine gute Korrelation zwischen Tumormasse und Höhe sowie Häufigkeit erhöhter Serumwerte vor. Bei Normalwerten nach Operation oder Chemotherapie kann jedoch nicht auf Tumorfreiheit geschlossen werden (78) , jedoch kann in der Verlaufsbestimmung ein Ansprechen auf die Therapie festgestellt werden. Eine

weitere Kontrolle des Markers drei Monate nach abgeschlossener Therapie ermöglicht eine relativ zuverlässige Aussage zu Therapieerfolg oder –Misserfolg (50).

Eine CA 125-Bestimmung ist nur sinnvoll in Serum-abhängigen Körperflüssigkeiten, sie ist wenig sinnvoll in Sekreten, da in Sekreten gesunder Frauen (Zervixsekret, Ovarialflüssigkeit) mittlere Werte > 10.000 U/ml gemessen werden.

1.3.1.2 Cancer Antigen 15-3 (CA 15-3)

CA 15-3 ist ein hochmolekulares (300-450 kDa) Kohlehydratepitop, das mit zwei monoklonalen Antikörpern, 115D8 (30) und DF3 (46), MUC1 detektiert. Es wird in Schleimhautzellen gebildet und findet sich in deren Exkretionsprodukten. Das Epitop wurde als bestimmte Glykosylierungsform des „Polymorphen epithelialen Muzin“ (PEM), synonym mit MUC1-Genproduktion, identifiziert (15, 72, 76) .

CA 15-3 findet man bevorzugt in malignen Tumoren der Mamma und wird in der Tumornachsorge bei Mammakarzinomen eingesetzt. Beim Mammakarzinom steigt die Inzidenz erhöhter Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom klinischen Stadium von 20-40% (Stadium I) auf 60-85% (Stadium IV).

Allerdings ist es auch bei benignen Brustveränderungen zu finden sowie zu einem geringen Prozentsatz von ca. 10-20% im normalen Milchgangsepithel (46). Eine ausreichende Spezifität und Sensitivität zum Brustkrebs-Screening kann CA 15-3 bislang nicht aufweisen.

Auch bei Malignomen anderer Organe ist das CA15-3 im Serum nachweisbar, so z.B. bei Ovarialkarzinomen (71% der Patientinnen) (77), Endometriumkarzinomen, kolorektalen Karzinomen, Bronchialkarzinomen, Melanomen und Lymphomen. Außerdem gelingt auch der Nachweis im Normalgewebe der Speichel- und Schweißdrüsen (27) .

1.3.1.3 Cancer Antigen 27.29 (CA 27.29)

CA27-29 ist ein Muzin-Epitop, dessen Immunoassay dasselbe MUC1-Antigen detektiert wie CA 15-3, allerdings kompetitiv über einen Peptidantikörper (43). Dieses Antigen ist ein Glykoprotein (Molekulargewicht 300-450 kDa), das einen Kohlenhydratanteil von über 50% besitzt. Die Anzahl der Tandemrepeats und der Grad der Glykosylierung ist von Person zu Person variabel, so dass die Struktur von CA27.29 sehr heterogen ist. In malignen Zellen ist CA27.29 auf der gesamten Zelloberfläche überexprimiert und die gesteigerten Mengen werden in die Zirkulation abgesondert. Tumore, die glanduläre Organe befallen, können hohe CA27.29 Konzentrationen im Serum hervorrufen.

Der monoklonale Antikörper B27.29 bindet spezifisch an Peptidepitope und weist eine hohe Affinität zu MUC1 aus Urin, Milch, ZR57-Zellen (Mammakarzinom-Zelllinie) auf (62).

Bislang konnte dieser Marker erfolgreich in der Nachsorge bei Patientinnen mit Mamma-Ca eingesetzt werden. Aufgrund größerer Spezifität und Sensitivität gegenüber dem CA15-3 (24) hat er diesen mittlerweile im klinischen Einsatz nahezu verdrängt. Für die Früherkennung von Brustkrebs sind die Eigenschaften des Markers jedoch noch nicht ausreichend.

1.3.1.4 Cancer Antigen 19-9 (CA 19-9)

CA19-9 wird auch als sialyliertes Lewis^a Blutgruppenantigen bezeichnet. Dieses Tetrasaccharid (36 kDa) ist ein Kohlenhydratpitop welches auf verschiedenen Glykoproteinen zu finden ist, unter anderem als Epitop des hochmolekularen Membranprotein H-CanAg (600-800 kDa), auf dem Apoprotein MUC1; außerdem ist es als Epitop des Apoproteins Leukosialin des Glykoproteins L-CanAg welches von Zellen sezerniert wird detektierbar (79).

CA19-9 ist der Tumormarker der Wahl für Pankreaskarzinome, hepatobiliäre Karzinome und Magenkarzinome. Als Zweitmarker wird er beim kolorektalen

Karzinom und beim Ovarialkarzinom zur Diagnostik und zur Verlaufsbestimmung in der Nachsorge eingesetzt. Zudem sind auch bei zahlreichen benignen Erkrankungen von Pankreas, Gallenwegen und Leber erhöhte CA19-9 Werte im Serum zu finden.

Zu den weiteren Eigenschaften des Moleküls gehört die Erkenntnis, dass das sialyl Lewis Antigen eine große Bedeutung in der Adhäsion von Karzinomzellen an das Endothel und der damit assoziierten Bildung von Metastasen hat (79) .

Da das CA 19-9 Epitop Blutgruppeneigenschaften besitzt, kann es bei Personen mit der Blutgruppenkonstellation Lewis-a/b negativ, welche bei ca. 5% der Bevölkerung vorkommt, nicht nachgewiesen werden.

Für die Studie sollte dieses Antigen sowohl quantitativ gemessen als auch vergleichend und korrelativ hinzugezogen werden.

1.3.1.5 PankoMab

PankoMab ist ein neuer monoklonaler Antikörper welcher an das tumorspezifische Antigen TA-MUC-1 bindet. Im Vergleich zu den anderen MUC1 Antikörper weist PankoMab die höchste Abhängigkeit vom Glykosylierungsgrad auf und besitzt die höchste additive Bindungskapazität. Somit ist eine hohe Spezifität bezüglich der Erkennung von Tumor-MUC1-Epitopen gegeben (9) .

PankoMab bindet verstärkt an membrangebundene Antigene, im Gegensatz zu den übrigen beschriebenen MUC1 Antikörpern weist PankoMab eine verminderte Affinität zu zirkulierenden Muzinen auf.

Charakteristisch für PankoMab ist seine ADCC, die ‚Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity‘ (9) .

1.3.1.6 Carcinoembryonales Antigen (CEA)

CEA ist ein einkettiges Polypeptid aus 641 Aminosäuren. Es gehört zur Gruppe der tumorassoziierten onkofetalen Antigene und fast eine heterogene Familie von Glykoproteinen mit Molekulargewichten von 175-200 kDa zusammen, die sich im Kohlenhydratgehalt und ihrer Aminosäuresequenz unterscheiden. Die Gene dieser Zelloberflächenglykoproteine finden sich sowohl in normaler, als auch in erkrankter Kolonschleimhaut. CEA wird vor allem auf Zellen der Darmmukosa, des exokrinen Pankreas und der Leber exprimiert.

Über die biologische Funktion des CEA ist noch wenig bekannt, jedoch wird angenommen, dass es eine Rolle bei der interzellulären Erkennung, der Regulation der Immunantwort und Metastasierung kolorektaler Karzinome spielt. Seine Bezeichnung geht auf die frühere Annahme zurück, dass CEA zunächst ausschließlich in gastrointestinalen Tumoren und im fetalen Verdauungstrakt gefunden wurde (25).

Als Tumormarker jedoch ist CEA sehr organunspezifisch. Unter den malignen Tumoren ist die diagnostische Sensitivität für das kolorektale Karzinom und das medulläre Schilddrüsenkarzinom am höchsten, jedoch können Adenokarzinome fast aller Organe CEA exprimieren (67);. Das Expressionsmuster kann sowohl von Tumor zu Tumor als auch innerhalb eines Tumors sehr stark variieren. So weisen alleine schon verschiedene Typen von Mammakarzinomen bezüglich CEA verschiedene Expressionsmuster auf. Etwa ein Drittel der lobulären und fast 90% der duktaalen Mammakarzinome exprimieren CEA (23).

Erhöhte Konzentrationen wurden neben neoplastischen Erkrankungen auch in einer ganzen Reihe gutartiger Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes und anderer Organe gefunden. So wird auch bei Patienten mit chronisch obstruktiver Lungenerkrankung, entzündlichen Darmerkrankungen, Divertikulitis, Pankreatitis, entzündlichen Lebererkrankungen etc. CEA in dem betroffenen Gewebe gebildet. Auch bei Rauchern können Spiegel gefunden werden, wie sie bei Patienten mit

metastasierendem Kolonkarzinom vorkommen können (19). Bei gutartigen Erkrankungen sind Werte von über 10 ng pro ml jedoch selten zu finden.

Die Wertigkeit der CEA-Bestimmung liegt in der Prognosestellung, Statusbestimmung und Verlaufskontrolle.

In der gynäkologischen Onkologie hat CEA vermutlich eine prognostische Bedeutung bei Ovarialtumoren mit niedrig malignem Potential. Vor allem bei muzinösen Borderlinetumoren des Ovars konnten bereits erhöhte Werte des CEA im betroffenen Gewebe beobachtet werden (14).

1.3.2 Sezernierte Tumormarker

1.3.2.2 Humanes Choriongonadotropin (hCG) und seine freie β -Kette (β -hCG)

Humanes Choriongonadotropin (hCG) ist ein zweikettiges Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von 37 kDa. Messbare Spiegel im Blut und Urin werden normalerweise nur während der Schwangerschaft gefunden. Es wird physiologisch vom Plazentagewebe, den Synzytiotrophoblasten produziert und sezerniert, sobald die befruchtete Eizelle in der Gebärmutter implantiert ist. Das hCG stabilisiert das Corpus Luteum während der frühen Phase der Schwangerschaft.

Bei postmenopausalen Frauen wurde eine geringe hypophysäre Sekretion nachgewiesen.

Als Tumormarker wird die Bestimmung von hCG im Serum zur Verlaufskontrolle und Prognose bei Keimzelltumoren eingesetzt.

Sehr hohe hCG -Spiegel im Serum treten bei Blasenmolen und Chorionkarzinomen auf (97%). Das Serum- hCG kann auch bei Adenokarzinomen des Pankreas, Inselzelltumoren, Tumoren des Dick- und des Dünndarms, Hepatomen, Magenkarzinomen, Lungenkarzinomen, Mammakarzinomen, renalen Karzinomen und Ovarialkarzinomen erhöht sein.

Auch bei niereninsuffizienten Patienten kann die Konzentration an hCG im Serum erhöht sein, da die renale Eliminierung vermindert ist.

Das Protein besteht im Wesentlichen aus zwei Untereinheiten, der alpha (α)- und der beta (β)-Kette. Die α -Untereinheit ist immunologisch nahezu identisch für hCG, LH, FSH und TSH. Obwohl die α -Untereinheit im Serum unter verschiedenen physiologischen und pathologischen Bedingungen nachgewiesen wird, bedarf die klinische Bedeutung der Bestimmung der freien α -Untereinheit des hCG noch der Klärung.

Die β -Untereinheit bestimmt die biologische Funktion und immunologische Identität des intakten hCG-Moleküls. Einige Tumoren, insbesondere die nicht-trophoblastischen Tumoren, sezernieren nur die freie β -Kette.

Für den Einsatz als Tumormarker muss das verwendete Testsystem daher sowohl das intakte hCG als auch die freie β -Untereinheit erfassen (48).

Bei gynäkologischen Tumoren wird die Bestimmung von hCG im klinischen Alltag als Tumormarker bei Molenschwangerschaft und Chorionkarziom eingesetzt (48). Als Marker kann hCG hochspezifisch maligne Ergüsse, wie Aszites und Pleuraergüsse von benignen unterscheiden, hat aber für einen Tumormarker keine ausreichende Sensitivität (49). Im Ovarialkarzinom ist die Genexpression des beta-hCG erhöht, im gesunden Gewebe hingegen fehlt sie. Dies ist ein Hinweis dafür, dass ovarielles Karzinomgewebe humanes Choriongonadotropin bildet (57, 58).

1.3.2.3 Glycodelin

Unter dem Namen Glycodelin werden die seit um die 1970er und 1980er bekannten Proteine PP14, CAG und placental α 2-microglobulin zusammengefasst. Glycodelin wird frei sezerniert. Es kann durch einen Peptidantikörper detektiert werden (61).

Glycodelin ist ein Glykoprotein der reproduktiven Achse aus der Lipocalinreihe (71) mit einem Molekulargewicht von 28kDa und besteht aus zwei identischen Untereinheiten welche nichtkovalent gebunden sind. Es enthält einen Kohlehydratanteil von 17,5% (6). Die Konfiguration dieses Kohlehydratanteils, insbesondere seine unterschiedliche Glykosylierung bestimmt die Eigenschaften der Isoformen des Glycodelin.

Hinsichtlich ihrer Glykosylierungsform und dem Ort der Expression konnten bereits verschiedene Formen des Glycodelin identifiziert und benannt werden.

Glycodelin wird zyklusabhängig im Endometrium und auch in der Dezidua während der Schwangerschaft gebildet (36). Es hat kontrazeptive (53) und immunsuppressive (7, 64) Eigenschaften, es kann aus dem Fruchtwasser bestimmt werden (65) und wird daher als Glycodelin-A, „Amniotic fluid glycodelin“, bezeichnet. Glycodelin-S bezeichnet die Isoform des Glycodelin aus Seminalplasma. Es ist somit ein „männliches“ Glycodelin. Zahlreiche Untersuchungen zu den Unterschieden zwischen Gd-A und Gd-S konnten wertvolle Hinweise zur Bedeutung der geschlechtsspezifischen Glykosylierung für die Eigenschaften des Glykoproteins liefern (10, 44, 56).

Weitere Syntheseorte des Glycodelin sind das Eileiterepithel (37, 47, 68), Zellen der Hämatopoese im menschlichen Knochenmark (40), normales Gewebe der Brust sowie bei Mammakarzinomen (34, 38) und weiteres Drüsengewebe zum Beispiel im Lungenparenchym und in ekkrinen Schweißdrüsen (38).

Glycodelin als eine weitere Isoform kann auch in den Ovarien sezerniert werden. Eine ovarielle Glycodelinexpression wurde erstmals 1996 untersucht und nachgewiesen (39). Glycodelin kommt sowohl im normalen als auch im neoplastischen Gewebe der Ovarien vor. Bezüglich des Expressionsmusters konnten zwischen dem gesunden Ovar und tumorösen Gewebe deutliche Unterschiede festgestellt werden. Vor allem in serösen Epithelien, sowohl bei benignen als auch malignen Tumoren findet eine hohe Expression von Glycodelin statt. Im normalen Oberflächenepithel des Ovars wird kein Glycodelin exprimiert, sein Vorkommen ist im gesunden Ovar zyklusabhängig auf folliculäre Zellen und auf Zellen des Corpus luteum beschränkt (39).

In Studien unserer Arbeitsgruppe zeigte sich bereits eine dem Glycodelin-A ähnliche Hemmung der Leukozytenproliferation, welche sich vor allem in höherer Konzentration bemerkbar macht.

Welche Aussage nun das Vorkommen von sezerniertem Glycodelin im Serum bei benignen und malignen Erkrankungen des Ovars hat soll in der vorliegenden Studie geklärt werden.

Tumormarker	Typ	Molekulargewicht	monoklonale Antikörper
CA 125	Glykoprotein MUC16	200-2000 kDa	OV185
CA 15-3	Glykoprotein MUC1	300-450 kDa	115D8, DF3
CA 27.29	Glykoprotein MUC1	300-450 kDa	B27.29 Peptidantikörper
CA 19-9	Glykolipid MUC1, Blutgruppenantigen, ubiquitär	36 kDa	anti-CA19-9-Ak
TA-MUC1	Glykoprotein MUC1	>500 kDa	PankoMab
CEA	Glykoprotein	175-200 kDa	anti-CEA-Ak
HCG	Glykoproteohormon , sezerniert	37 kDa	hCG-Ak
Glycodelin	Glykoprotein, frei sezerniert	28 kDa	GdO89, GdO90 Peptidantikörper

Tabelle 1.2: Übersicht über die Tumormarker und ihre Eigenschaften

1.4 Fragestellung

Es ist von großem klinischem Interesse, einen Ovarialtumor in seiner Dignität einschätzen zu können – unter Anwendung möglichst gering invasiver Methoden.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, einen Weg zur Differenzierung maligner und benigner Erkrankungen des Ovars zu finden, indem sowohl bekannte und bereits etablierte als auch neue Tumormarker in Serumproben bestimmt wurden.

Folgende Fragen dazu waren für uns interessant:

- Gibt es einen Marker der eindeutig zwischen maligne und benigne unterscheidet?
- Gibt es eine Kombination/Korrelation zwischen mehreren Markern, die eine eindeutige Differenzierung erlauben?

Die Fragestellung zur Durchführung dieser Studie war somit vor allem geprägt von der Motivation, einen oder mehrere neue Tumormarker zu etablieren und letztendlich einer zuverlässigen Screening-Diagnostik den Weg zu ebneten.

2. Patientinnen, Material und Methoden

2.1 Patientinnen

Das zu untersuchende Kollektiv stellten sowohl prämenopausale als auch postmenopausale Patientinnen der 1.Universitätsfrauenklinik der LMU München dar. Einschlusskriterium war hierbei der klinische Verdacht auf einen Ovarialtumor mit Operationsindikation, wobei der klinische Befund durch den operativen Eingriff (Laparoskopie bzw. Laparatomie) ergänzt und die darauf folgende histologische Untersuchung des entnommenen Gewebes auf Malignität hin geprüft werden sollte. Das Serum wurde präoperativ abgenommen und nach der Zentrifugation (bei Raumtemperatur) sofort bei -80° Celsius tiefgefroren. Der histologische Befund diente später als Grundlage für die Zuordnung zur malignen bzw. benignen Untersuchungsgruppe. Im Zeitraum von 2003 bis 2006 ermittelten wir somit aus 120 Proben insgesamt:

44 Seren von Patientinnen mit malignem histologischen Befund

76 Seren von Patientinnen mit benignem histologischen Befund

Maligne Befunde

Histologie

Bezüglich der histologischen Einteilung waren das seröse Ovarialkarzinom, das muköse und das endometroide Ovarialkarzinom vertreten, hier zeigt sich ein typisches Verteilungsmuster mit einer Häufung des Ovarialkarzinoms vom serösen Typ (vgl. Abbildung 3.1).

FIGO-Stadien

Die Patientinnen mit malignen Befunden befanden sich in unterschiedlichen FIGO-Stadien (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique) allerdings lagen lediglich n=27 Befunde mit eindeutiger FIGO-Einteilung vor, davon zusammengefasst n=3 im Stadium FIGO I, n=4 im FIGO Stadium II, n=19 Patientinnen im FIGO Stadium III und n=4 Patientinnen befanden sich zum Zeitpunkt der Diagnose im FIGO Stadium IV.

Benigne Befunde

Zu den benignen Befunden zählten wir zum einen die Retentionszysten, zu welchen die Inklusionszyste, Follikelzyste, Corpus-luteum-Zyste, Endometriumzyste und die einfache seröse Zyste gehören. Zum anderen untersuchten wir Patientinnen mit benignen Tumoren, welche postoperativ den histologischen Befund eines serösen Zystadenoms, muzinösen Zystadenoms, serösen Zystadenofibroms, muzinösen

Zystadenofibroms, Brennertumors, Teratoms, Fibroms oder einer Paraovarialzyste zeigten.

Sonstige Befunde

Bei den übrigen Befunden handelte es sich im jeweiligen Fall um Peritonealkarzinose bei Zustand nach Mamma-Ca beidseits; Verdacht auf Magenkarzinom mit Krukenberg-Tumor der Ovarien und Peritonealkarzinose, mit Aszites; Vulva Carcinoma in situ, VIN III; Metastatische Infiltration beider Ovarien mit Peritonealkarzinom, $p=0,039$, e bei Zustand nach Mamma-CA links (1999).

Diese Proben wurden nicht in die statistische Auswertung miteinbezogen.

2.2 Material und Methoden

Mittels Immunometrischer Analyseverfahren wurden die Marker bestimmt. Hierbei wurde für die Marker CA15-3, CA125, CA19.9, CEA, hCG und CA27.29 ein maschinelles ELISA-Sandwich-Verfahren angewandt. PankoMab und Glycodelin wurden mittels EIA bestimmt.

2.2.1 ELISA (Enzyme-linked-Immunsorbent-Assay, Sandwich-Verfahren) schematisch

Die ELISA-Bestimmungen erfolgten vollautomatisiert über das Chemilumineszenzverfahren.

Es handelt sich um einen Festphasen-, sequenziellen Zweischnitt-, Chemilumineszenz-, Immunometrischen Assay.

Das Sandwich-ELISA-Verfahren verwendet zwei Antikörper, die beide spezifisch an das nachzuweisende Antigen binden. Hierbei ist es wichtig, dass beide Antikörper an unterschiedlichen Stellen an das Antigen binden, da sie sich sonst gegenseitig behindern würden. Der erste Antikörper (coating-Antikörper) wird an eine feste Phase (Mikrotiterplatte oder beschichtete Kugeln) gebunden. Das Serum mit dem nachzuweisenden Antigen wird hinzugefügt und über eine definierte Zeit inkubiert.

Während der Inkubationsphase bindet der an die Platte bzw. Kugeln gebundene Antikörper das in der Probe vorhandene Antigen und immobilisiert dieses.

Nach Ablauf der Inkubationsphase wird die Platte gewaschen. Die ungebundenen Bestandteile der Probe werden dadurch entfernt und zurück bleibt nur das am Coating-Antikörper gebundene Antigen.

Im nächsten Schritt wird ein Detektions-Antikörper zugegeben, an dessen Ende ein Enzym (Meerrettichperoxidase (HRP), Alkalische Phosphatase (AP) oder Glucoseoxidase (GOX)) gebunden ist. Dieser zweite Antikörper bindet ebenfalls an das Antigen und es entsteht der Antikörper-Antigen-Antikörper Komplex welcher dem Verfahren den Namen Sandwich-ELISA gibt, das Antigen ist zwischen die beiden Antikörper wie in einem Sandwich gepackt.

Durch erneutes Waschen der Platte wird der überschüssige zweite Antikörper ausgewaschen und dann ein Chromogen (z.B. p-Nitrophenylphosphat (pNPP) für AP) zugegeben. Die alkalische Phosphatase spaltet den Phosphatrest vom farblosen Nitrophenylphosphat ab und es entsteht p-Nitrophenol, welches schwach gelb ist.

Diese Reaktion kann über Extinktionsmessung in einem Photometer verfolgt werden. Die Intensität der Farbe ist dabei proportional zu der Konzentration des entstandenen Nitrophenols und damit auch proportional zu der Konzentration des zu bestimmenden Antigens in der Probe (schematische Darstellung s. Abbildung 2.1)

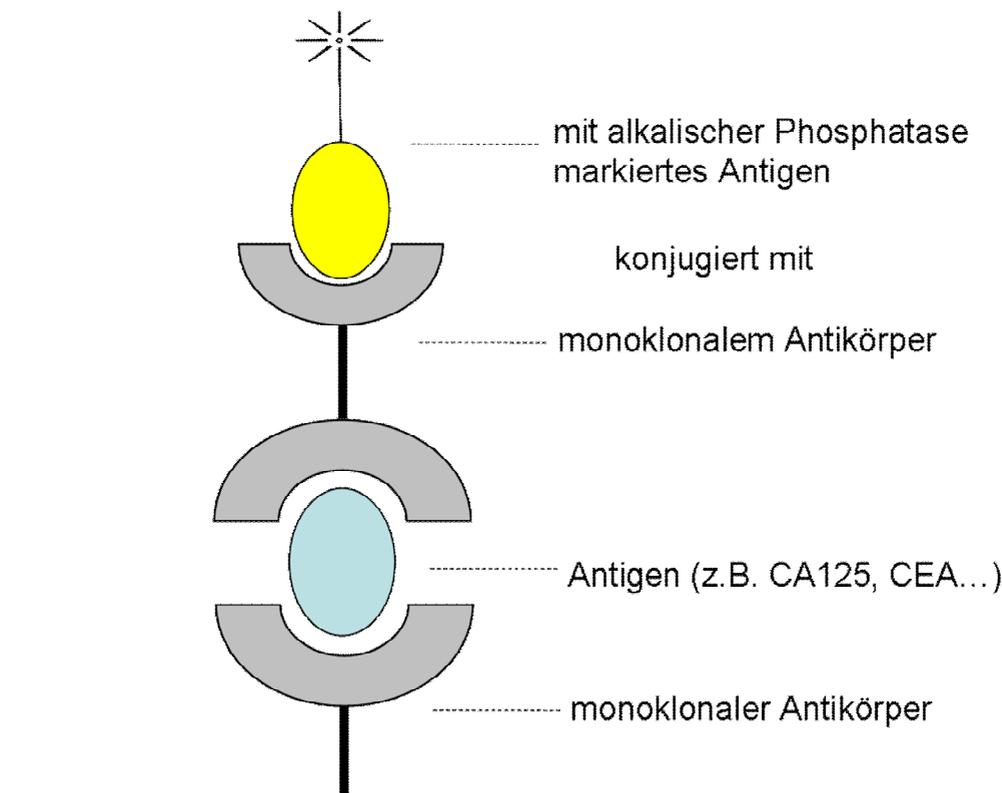


Abbildung 2.1: Sandwich-ELISA Aufbauschema

Geräte

CA 125, CA15-3, CA19-9, CEA, hCG: IMMULITE 2000 der Firma DPC Biermann
CA 27.29: ST AIA-PACK 27.29 der Firma TOSOH BIOSCIENCE

2.2.1.1 Bestimmung von CA 125 mit IMMULITE 2000 OM-MA

IMMULITE 2000 OM-MA ist ein Festphasen, Zwei-Phasen Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 2x30 min.

Der im IMMULITE 2000 OM-MA zum Immobilisieren verwendete monoklonale Antikörper (Maus) wurde durch Immunisierung mit einem Gemisch humaner Muzine gewonnen, die aus einem Kollektiv epithelialer Ovarialkarzinome isoliert wurden. Er erkennt eine repetitive Proteindeterminante im Zentrum des CA 125 Antigens. Dieser Antikörper ist spezifisch gegen ein Epitop gerichtet, das mit dem Epitop für den monoklonalen Antikörper M11 zusammenfällt oder unmittelbar benachbart ist. Der monoklonale Antikörper ist gegen das CA125-Antigen affinitätsgereinigt, wodurch das resultierende Antiserum mit mehreren Epitopen dieses Antigens reagiert.

Mit dem IMMULITE 2000 Testsystem zur Bestimmung von OM-MA erzielte Ergebnisse von > 21 U/ml gelten als erhöht und Ergebnisse von < 21 U/ml als normal.

Die für das IMMULITE 2000 Testsystem für OM-MA verwendete Maßeinheit (U/ml) wurde willkürlich gewählt. Da keine standardisierten Referenzeinheiten existieren, sollten keine quantitativen Vergleiche zwischen unterschiedlichen Bestimmungstechniken für CA 125 angestellt werden.

Gesunde Probanden:

Gesunde Probanden	< 21 U/ml	≥ 21 – < 50 U/ml	≥ 50 – < 100 U/ml	≥ 100 U/ml	n
Frauen	64	0	0	0	64
< 50 Jahre	50	0	0	0	50
≥ 50 Jahre	14	0	0	0	14
Männer	28	0	0	0	28

Patienten:

Patienten	< 21 U/ml	≥ 21 – < 50 U/ml	≥ 50 – < 100 U/ml	≥ 100 U/ml	n
Ovarialkarzinom	36	10	7	43	96
Nichtkarzinomatöse Befunde					
GI	5	0	1	0	6
GU	7	0	0	1	8
Sonstige	40	4	0	0	44
Karzinomatöse Befunde					
Brust	11	2	1	0	14
GI	3	2	1	0	6
GU	4	1	2	4	11
Sonstige	9	3	0	6	18

Tabelle 2.1: Referenzwerte CA125 im IMMULITE 2000 OM-MA

Material:

Coating-Antikörper: Kugeln, beschichtet mit monoklonalem anti-CA125-Antikörper (Maus)
 Detection-Antikörper: Alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalen anti-CA125-Antikörpern (Kaninchen) in Pufferlösung.

Referenzwerte:

64 Serumproben von klinisch unauffälligen erwachsenen Frauen (Alter: 17-86 Jahre) wurden an zwei klinischen Standorten mit dem IMMULITE-Testsystem zur Bestimmung von OM-MA untersucht. Die Ergebnisse bewegten sich zwischen 1,9 und 16,3 U/ml, der Median betrug 4,8 U/ml.

Messbereich: bis 500 U/ml

Analytische Sensitivität: 1 U/ml

High-Dose-Hook-Effekt: Keiner bis zu 80 000 U/ml

Spezifität: Keine Kreuzreaktionen mit AFP, CA19-9, Cisplatin, Cyclophosphamid, Doxorubicinhydrochlorid, 5-Fluorouracil, Mitomycin C, Vincristin.
 Beobachtete/Erwartete Kreuzreaktivität mit CA 15.3: 0,41%, mit CEA: 0.05%

Beeinträchtigung:

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 192 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Tabelle 2.2 IMMULITE 2000 OM-MA

Precision (U/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	5.6	0.22	3.9%	0.61	11%
2	23	1.1	4.8%	1.2	5.2%
3	41	1.8	4.4%	1.9	4.6%
4	92	3.7	4.0%	4.7	5.1%
5	111	4.5	4.1%	5.0	4.5%
6	184	8.2	4.5%	9.2	5.0%
7	292	12	4.1%	15	5.1%
8	394	20	5.1%	21	5.3%

Specificity

Compound ¹	Amount Added ²	Apparent U/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
AFP	10,000 IU/mL	ND	ND
CA15-3	1,753 U/mL	7.1	0.41%
CA19-9	4,000 U/mL	ND	ND
CEA	10,000 ng/mL	4.8	0.05%
Cisplatin	100 µg/mL	ND	ND
Cyclophosphamide	1,000 µg/mL	ND	ND
Doxorubicin hydrochloride	100 µg/mL	ND	ND
5-Fluorouracil	1,000 µg/mL	ND	ND
Mitomycin C	100 µg/mL	ND	ND
Vincristine	1,000 ng/mL	ND	ND

ND: not detectable.⁵

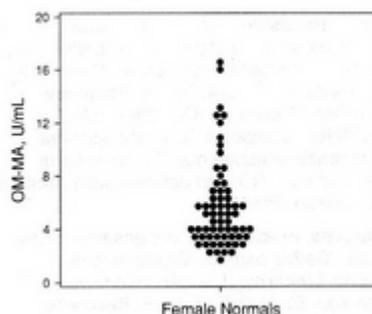
Linearity (U/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	99	—	—
	4 in 8	53	50	106%
	2 in 8	27	25	108%
2	8 in 8	103	—	—
	4 in 8	57	52	110%
	2 in 8	30	26	115%
3	8 in 8	118	—	—
	4 in 8	65	59	110%
	2 in 8	35	30	117%
4	8 in 8	137	—	—
	4 in 8	68	69	99%
	2 in 8	35	34	103%
5	8 in 8	16	17	94%

Recovery (U/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	11	—	—
	A	52	62	84%
	B	97	108	90%
	C	172	215	80%
2	—	18	—	—
	A	66	68	97%
	B	114	115	99%
	C	206	221	93%
3	—	45	—	—
	A	90	94	96%
	B	136	140	97%
	C	230	247	93%
4	—	67	—	—
	A	116	115	101%
	B	157	161	98%
	C	245	268	91%

Expected Values



Beschreibung:

Precision:

¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴Standardbereich, ⁵Variationskoeffizient

Linearity: ¹Verdünnung,

²Beobachten(B), ³Erwarten(E), ⁴%B/E, ⁵8 in 8.

Recovery: ¹Lösung,

²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴%B/E.

Specificity: ¹Verbindung,

²zugesetzte Menge,

³Ausgewiesene Konzentration,

⁴%Kreuzreaktivität, ⁵NN:nicht nachweisbar

aus: IMMULITE 2000 OM-MA (PIL2KOP-10, 2005-07-06)

2.2.1.2 Bestimmung von CA 15-3 mit IMMULITE 2000 BR-MA

Der IMMULITE 2000 BR-MA ist ein immunometrischer Assay zur Bestimmung des CA 15-3 im Serum. CA15-3 ist der Tumormarker der Wahl für das Mammakarzinom.

Der IMMULITE 2000 BR-MA ist ein sequenzieller zwei Schritt Chemilumineszenz-immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 2 x 30 min.

Material:

Coating-Antikörper: Kugeln, beschichtet mit Anti-Ligand Detection-Antikörper: Alkalische Phosphatase konjugiert mit anti-CA15-3-Antikörpern (monoklonal, Maus) in Pufferlösung.

	n	Mittelwert	Median	95%ile	>38 U/ml n (%)
Pre-Menopausal	119	20,5	20,2	36,5	4 (3%)
Post-Menopausal	102	24,3	22,8	46,8	8 (8%)
Gesamt	221	22,3	21,6	38,4	12 (5%)

Tabelle 2.3: Referenzwerte CA 15-3 im IMMULITE 2000 BR-MA

Referenzwerte:

221 Proben von gesunden Frauen wurden in zwei Kliniken im Nordosten und Süden der USA gesammelt. Bei 119 von 221 (54%) handelte es

sich um prämenopausale, bei 102 von 221 (46%) um postmenopausale Frauen. Mit dem IMMULITE BR-MA wurden Werte zwischen 6,4 U/ml und 58 U/ml ermittelt.

Messbereich: bis 300 U/ml

Analytische Sensitivität: 1 U/ml

High-Dose-Hook-Effekt: Keiner bis zu 80 000 U/ml

Spezifität: Keine Kreuzreaktionen mit AFP, CA19-9, Cisplatin, Cyclophosphamid, CA15-3, CEA, Doxorubicinhydrochlorid, 5-Fluorouracil, Mitomycin C, Vincristin.

Beeinträchtigung:

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 381 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Tabelle 2.4 IMMULITE 2000 BR-MA

Precision (U/mL)

	Within-Run ¹			Total ²	
	Mean ³	SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	9.0	0.44	4.9%	0.59	6.5%
2	22.2	0.82	3.7%	1.00	4.5%
3	26.0	1.20	4.6%	1.40	5.4%
4	37.4	1.65	4.4%	1.83	4.9%
5	127	5.97	4.7%	6.86	5.4%
6	180	8.3	4.6%	11.5	6.4%

Recovery (U/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	51	—	—
	A	71	66	108%
	B	90	87	103%
	C	131	124	106%
2	—	116	—	—
	A	131	128	102%
	B	144	149	97%
	C	175	186	94%
3	—	125	—	—
	A	129	137	94%
	B	160	158	101%
	C	185	195	95%
4	—	233	—	—
	A	232	239	97%
	B	249	260	96%
	C	293	297	99%
5	—	236	—	—
	A	238	242	98%
	B	255	263	97%
	C	277	300	92%

Linearity (U/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	16 in 16 ⁵	65.2	—	—
	8 in 16	43.2	44.5	97%
	4 in 16	33.7	34.1	99%
	2 in 16	26.9	28.9	93%
	1 in 16	25.1	26.3	95%
2	16 in 16	162	—	—
	8 in 16	90.5	93.0	97%
	4 in 16	55.2	58.4	95%
	2 in 16	42.1	41.0	103%
	1 in 16	30.8	32.4	95%
3	16 in 16	209	—	—
	8 in 16	111	117	95%
	4 in 16	68.1	70.1	97%
	2 in 16	46.7	46.9	100%
	1 in 16	32.9	35.3	93%
4	16 in 16	286	—	—
	8 in 16	155	155	100%
	4 in 16	91.2	89.3	102%
	2 in 16	58.6	56.5	104%
	1 in 16	39.4	40.1	98%

Specificity

Compound ¹	Amount Added ²	% Cross reactivity ³
5-Fluorouracil	1,000 µg/mL	ND
AFP	5,000 IU/mL	ND
CA125	10,000 U/mL	ND
CA19-9	2,000 U/mL	ND
CEA	5,000 ng/mL	ND
Cisplatin	100 µg/mL	ND
Cyclophosphamide	1,000 µg/mL	ND
Doxorubicin hydrochloride	100 µg/mL	ND
Mitomycin-C	100 µg/mL	ND
Vincristine	1 µg/mL	ND

ND: not detectable.⁴

Beschreibung:

Precision:

¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴Standardbereich, ⁵Variationskoeffizient

Linearity: ¹Verdünnung,

²Beobachten(B), ³Erwarten(E), ⁴%B/E, ⁵16 in 16.

Recovery: ¹Lösung,

²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴%B/E.

Specificity: ¹Verbindung,

²zugesetzte Menge,

³%Kreuzreaktivität, ⁴NN:nicht nachweisbar

aus: IMMULITE 2000 BR-MA (PIL2KBR-12, 2005-04-05)

2.2.1.3 Bestimmung von CA 19-9 mit IMMULITE 2000 GI-MA

Der im Test verwendete monoklonale Antikörper für GI-MA reagiert spezifisch mit dem sialylierten Lewis^a Blutgruppenantigen (CA19-9).

Der IMMULITE 2000 GI-MA ist ein Festphasen-, sequenzieller Zweischnitt-, Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 2 x 30 min.

Material:

Coating-Antikörper: Kugeln, beschichtet mit Anti-CA19-9-Antikörper: monoklonal, Maus.

Detection-Antikörper: Alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit anti-CA19-9-Antikörpern (monoklonal, Maus) in Pufferlösung.

Referenzwerte:

In einer vorläufigen Studie wurden Seren von 70 erwachsenen Männern und Frauen in offensichtlich gesundem Zustand mit dem IMMULITE GI-MA Assay gemessen. Die Ergebnisse reichen von „nicht nachweisbar“ bis zu 33 U/ml (höchster gemessener Absolutwert) mit einem Median von 5,1 U/ml.

Messbereich: bis 1000 U/ml

Analytische Sensitivität: 1 U/ml

High-Dose-Hook-Effekt: Keiner bis zu 50 000 U/ml

Spezifität: Keine Kreuzreaktionen mit CA 15-3, CA 125, CEA.

Beeinträchtigung:

Bilirubin: Konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 512 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Tabelle 2.5 IMMULITE 2000 GI-MA

Interassay Precision (U/mL)				Linearity (U/mL)				Recovery (U/mL)			
	Mean ¹	SD ²	CV ³	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	24	1.4	5.8%	1	8 in 8 ⁵	21	—	1	—	19	—
2	49	3.4	6.9%		4 in 8	10	11	A	41	38	108%
3	65	4.1	6.3%		2 in 8	4.7	5.3	B	65	68	96%
4	99	5.4	5.5%		1 in 8	1.8	2.6	C	115	118	97%
5	198	12	6.1%	2	8 in 8	20	—	2	—	53	—
					4 in 8	9.1	10	A	72	70	103%
					2 in 8	4.3	5.0	B	96	100	96%
					1 in 8	1.8	2.5	C	153	150	102%
				3	8 in 8	52	—	3	—	56	—
					4 in 8	27	26	A	78	73	107%
					2 in 8	12	13	B	105	103	102%
					1 in 8	5.6	6.5	C	149	153	97%
				4	8 in 8	64	—	4	—	119	—
					4 in 8	29	32	A	137	133	103%
					2 in 8	14	16	B	169	163	104%
					1 in 8	6.1	8.0	C	225	213	106%
				5	8 in 8	129	—	5	—	221	—
					4 in 8	59	65	A	231	230	100%
					2 in 8	28	32	B	267	260	103%
					1 in 8	13	16	C	308	310	99%
				6	8 in 8	240	—				
					4 in 8	110	120				
					2 in 8	51	60				
					1 in 8	28	30				

Intraassay Precision (U/mL)			
	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	24	1.2	5.0%
2	46	2.4	5.2%
3	65	2.7	4.2%
4	97	4.6	4.7%
5	201	15	7.5%

Specificity		
Compound ¹	Amount Added ²	% Cross reactivity ³
CA125	1,000 U/mL	ND ⁴
CA15-3	720 U/mL	ND
CEA	1,000 ng/mL	ND

ND: Not detectable. ⁴

Beschreibung:

Intraassay Precision:

¹Mittelwert, ²Standardabweichung, ³ CV(Variationskoeffizient).

Interassay Precision:

¹Mittelwert, ²Standardabweichung, ³ CV(Variationskoeffizient).

Linearity: ¹Verdünnung, ²Beobachtet(B), ³Erwartet(E), ⁴%B/E, ⁵8 in 8.

Recovery: ¹Probe, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴%B/E.

Specificity: ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³%Kreuzreaktivität,

⁴NN:nicht nachweisbar

aus: IMMULITE 2000 GI-MA (PIL2KGI-12, 2005-04-05)

2.2.1.4 Bestimmung von CEA mit IMMULITE 2000 CEA

Der IMMULITE 2000 CEA ist ein Festphasen-, sequenzieller Zweischnitt-, Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 2 x 30 min.

Material:

Coating-Antikörper: Kugeln, beschichtet mit Anti-CEA-Antikörper (monoklonal, Maus).

Detection-Antikörper: Alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalem anti-CEA-Antikörper (Kaninchen) in Pufferlösung.

Referenzwerte:

Gruppe	Median	95%- Perzentile	Einheit	n
Männl. Raucher	2,1	6,2	ng/ml	153
Männl. Nichtraucher	1,1	3,4	ng/ml	226
Weibl. Raucher	1,3	4,9	ng/ml	81
Weibl. Nichtraucher	0,8	2,5	ng/ml	262

Tabelle 2.6

Referenzwerte CEA im IMMULITE CEA (basierend auf einer Referenzwertstudie in Europa)

Patientenkollektiv	n	Median	95%- Perzentile
Gesunde			
Nichtraucher	86	1,2	4,1
Raucher	67	2,1	9,8
Nichtmaligne Erkrankungen			
Lungenkrankheiten	32	2,8	11,2
Nierenkrankheiten	19	1,5	6,3
Hepatitis	47	1,9	8,5
Schilddrüsenkrankheiten	65	1,1	4,9
Andere nichtmaligne Krankheiten	80	1,9	13,6

Maligne Erkrankungen

Blasen-Ca	27	1,5	83,1
Mamma-Ca	46	4,1	2 230
Kolorektal-Ca	944	5,1	849
Ösophagus-Ca	44	4,5	323
Lungen-Ca	52	4,8	355
Ovarial-Ca	50	1,3	24,6
Nieren-Ca	39	1	3,5
Pankreas-Ca	19	19,4	495
Magen-Ca	25	56,5	277
Prostata-Ca	29	1,2	13,2
Anal-Ca	21	1,4	23,8
Andere Krebsarten	86	2	233

Tabelle 2.7

Referenzwerte CEA im IMMULITE CEA (basierend auf einer weiteren Studie in den USA)

Messbereich: bis 550 ng/ml

Analytische Sensitivität: 0,15 ng/ml

High-Dose-Hook-Effekt: Keiner bis zu 250 000 ng/ml

Spezifität: Hochspezifischer Anti-CEA-Antikörper, keine Kreuzreaktionen mit AFP, Ferritin, Dextransulfat, Hyaluronsäure, Heparinnatrium, HCG, PAP, PSA, Prolactin, Chondroitinsulfat.

Beeinträchtigung:

Bilirubin: Konjugiertes Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 381 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Tabelle 2.8 IMMULITE 2000 CEA

Precision (ng/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	6.0	0.18	3.0%	0.58	9.8%
2	15.8	0.58	3.7%	1.2	7.6%
3	54	1.48	2.7%	2.45	4.5%

Specificity

Compound ¹	ng/mL Added ²	% Cross reactivity ³
Chondroitin sulfate	270,000	ND
Dextran sulfate	50,000	ND
Hyaluronic acid	500,000	ND
Heparin sodium	6,000,000	ND
AFP	10,000	ND
Ferritin	10,000	ND
HCG	10,000	ND
PAP	1,000	ND
PSA	1,000	ND
Prolactin	500	ND

ND: not detectable.⁴

Recovery (ng/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	23	—	—
	A	141	148	95%
	B	220	230	96%
	C	283	301	94%
2	—	73	—	—
	A	189	195	97%
	B	274	277	99%
	C	333	348	96%
3	—	85	—	—
	A	200	207	97%
	B	276	289	96%
	C	328	360	91%
4	—	117	—	—
	A	238	237	101%
	B	329	319	103%
	C	388	390	99%

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	16 in 16 ⁵	12	—	—
	8 in 16	5.8	6.0	97%
	4 in 16	2.8	3.0	93%
	2 in 16	1.4	1.5	93%
	1 in 16	0.7	0.8	88%
2	16 in 16	26	—	—
	8 in 16	13	13	100%
	4 in 16	6.3	6.5	97%
	2 in 16	3.1	3.3	94%
	1 in 16	1.5	1.6	94%
3	16 in 16	44	—	—
	8 in 16	22	22	100%
	4 in 16	11	11	100%
	2 in 16	5.2	5.5	95%
	1 in 16	2.4	2.8	85%
4	16 in 16	145	—	—
	8 in 16	75	73	103%
	4 in 16	38	36	106%
	2 in 16	19	18	106%
	1 in 16	9.4	9.1	103%
5	16 in 16	243	—	—
	8 in 16	130	122	107%
	4 in 16	62	61	102%
	2 in 16	30	30	100%
	1 in 16	14	15	93%

Beschreibung:

Precision:

¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴SD(Standardbereich),

⁵CV(Variationskoeffizient)

Linearity: ¹Verdünnung, ²Beobachtet(B), ³Erwartet(E), ⁴%B/E, ⁵8 in 8.

Recovery: ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴%B/E.

Specificity: ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³%Kreuzreaktivität,

⁴NN:nicht nachweisbar

aus: IMMULITE 2000 BR-MA (PIL2KBR-12, 2005-04-05)

2.2.1.5 Bestimmung von hCG mit IMMULITE 2000 hCG

Der IMMULITE 2000 hCG ist ein Festphasen-, sequenzieller Zweischnitt-, Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 x 30 min.

Material:

Coating-Antikörper: Kugeln, beschichtet mit Anti-hCG-Antikörper: monoklonal, Maus.
 Detection-Antikörper: Alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalen anti-hCG-Antikörpern in Pufferlösung.

Referenzbereich:

Für den Einsatz als Tumormarker liegt die obere Referenzbereichsgrenze für HCG im Serum bei gesunden Männer und prämenopausalen Frauen bei ca. 5 U/l, und für postmenopausale Frauen ca. 10 U/l.

Tabelle 2.9: IMMULITE 2000 hCG

Precision (mIU/mL)						Recovery (mIU/mL)				Linearity (mIU/mL)						
		Within-Run ¹			Total ²											
	Mean ³	SD ⁴	CV ⁵	SD	CV	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴			
1	6.5	0.43	6.6%	0.48	7.4%	1	—	270	—	1	16 in 16 ⁵	204	—	—		
2	103	3.3	3.2%	4.6	4.5%	A	339	322	105%		8 in 16	100	102	98%		
3	239	7.6	3.2%	11.1	4.6%	B	597	543	110%		4 in 16	50	51	98%		
4	438	13	3.0%	21	4.8%	C	1,770	1,774	100%		2 in 16	24	26	92%		
5	3,120	79	2.5%	150	4.8%	2	—	554	—		1 in 16	12	13	92%		
						A	617	592	104%	2	16 in 16	552	—	—		
						B	913	812	112%		8 in 16	273	276	99%		
						C	2,114	2,043	103%		4 in 16	134	138	97%		
						3	—	949	—		2 in 16	68	69	99%		
						A	984	967	102%		1 in 16	33	35	94%		
						B	1,290	1,188	109%	3	16 in 16	1,144	—	—		
						C	2,610	2,419	108%		8 in 16	556	572	97%		
											4 in 16	267	286	93%		
											2 in 16	140	143	98%		
											1 in 16	70	72	97%		
										4	16 in 16	2,088	—	—		
											8 in 16	1,020	1,044	98%		
											4 in 16	503	522	96%		
											2 in 16	240	261	92%		
											1 in 16	119	131	91%		

Specificity				
	Amount Added (ng/mL) ¹	Apparent Concentration (ng/mL) ²	% Cross-reactivity ³	
FSH	26.8	ND	ND	
LH	16.5	ND	ND	
TSH	860	ND	ND	

ND: not detectable.⁴

β-HCG WHO 75/551 ng/mL	Apparent HCG Concentration				Cross-reactivity
	HCG mIU/mL	HCG ng/mL*	β-HCG ng/mL [†]		
42.2	825	88.8	53.7	127%	
84.4	1,579	170	103	122%	
169	2,789	300	182	108%	
338	4,803	517	313	93%	

*mIU HCG/mL x 0.10769 → ng HCG/mL
 †ng HCG/mL x 0.605 → ng β-HCG/mL

Expected Values During Pregnancy

Beschreibung:

Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴SD(Standardabweichung), ⁵CV(Variationskoeffizient)
Linearity: ¹Verdünnung, ²Beobachtet(B), ³Erwartet(E), ⁴%B/E, ⁵16 in 16.
Recovery: ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴%B/E.
Specificity: ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³%Kreuzreaktivität, ⁴NN:nicht nachweisbar
Expected Values During Pregnancy: Schwangerschaftswoche

aus: IMMULITE 2000 BR-MA (PIL2KBR-12, 2005-04-05)

2.2.1.6 Bestimmung von CA 27.29 mit ST AIA-PACK 27.29

Das ST AIA-PACK 27.20 ist eine zweistellige immunoenzymometrische Analyse, die vollständig im AIA-PACK durchgeführt wird. In der Testprobe vorhandenes CA 27.29 wird durch einen monoklonalen Antikörper gebunden, der auf magnetischen Perlen und einem Enzym-Gekennzeichneten monoklonalen Antikörper im AIA-PACK immobilisiert wird. Die magnetischen Perlen werden gewaschen, um ungebundene Stoffe zu entfernen, und dann mit einem fluorogenischen Substrat – 4-Methylumbelliferyl-Phosphat (4MUP) – inkubiert. Die Menge des Enzym-Gekennzeichneten monoklonalen Antikörpers, die sich mit den Perlen verbinden, ist direkt proportional zur CA 27.29-Konzentration in der Probe. Es wird eine Standardkurve erstellt, und unbekannte Probenkonzentrationen werden mittels dieser Kurve berechnet.

Referenzbereich:

Der hier aufgeführte Bereich wurde mittels Serumproben von 200 anscheinend gesunden Personen ermittelt.

Durchschnitt: 11,3 U/ml

Bereich: 6,0 – 23,5 U/ml

Präzision:

- Der Variationskoeffizient während des Analyselaufs wurde anhand von zwei Kontrollproben bei 10 wiederholten Bestimmungen ermittelt.

10 Wdh	Durchschnitt	Standardabweichung	Variationskoeffizient
Kontrolle L	41,3 U/ml	0,9 U/ml	2,2%
Kontrolle H	300,9 U/ml	4,1 U/ml	1,4%

- Der Variationskoeffizient während des Analyselaufs wurde anhand von zwei Kontrollproben bei 21 wiederholten Bestimmungen ermittelt.

21 Wdh	Durchschnitt	Standardabweichung	Variationskoeffizient
Kontrolle L	40,4 U/ml	0,9 U/ml	2,2%
Kontrolle H	301,0 U/ml	6,5 U/ml	2,2%

Spezifität:

Die folgenden Substanzen wurde durch Zugabe zu CA 27.29-haltigen Humansenen (266 U/ml) auf eine Kreuzreaktivität hin untersucht.

Antigen	Zugabe	Erfassung (%)
CEA	300 ng/ml	99,6
AFP	300 ng/ml	98,6
CA19-9	300 U/ml	101,3
CA 125	300 U/ml	100,2

Sensitivität:

Die minimal erkennbare ST CA 27.29-Konzentration wird auf 0,10 U/ml geschätzt, was 2 U/ml im Originalserum entsprechen (Verdünnungsfaktor 21). Die minimal erkennbare Konzentration ist definiert als die CA 27.29-Konzentration, die der Fluoreszenzrate entspricht, die zwei Standardabweichungen von der durchschnittlichen Fluoreszenzrate von 20 Wiederholungen des Kalibrators darstellt.

Beeinträchtigung:

Bilirubin: Konjugiertes Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 18,2 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse der Analyse.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 412 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse der Analyse.

Lipämie: Triglycerid führt in Konzentrationen bis zu 1667 mg/dl zu keiner Beeinträchtigung der Analyse

2.2.2 EIA (kompetitiver Enzym-Immuno-Assay)

Zur Bestimmung von Glycodelin und TA-MUC-1 wurde ein kompetitiver Immunoassay angewendet. Hierbei wird ein markiertes Kompetitor-Antigen, eine synthetische Verbindung, die dem Analyten strukturell ähnlich ist und auch am Antikörper bindet, eingesetzt. Nach Inkubation mit der Probe verdrängen die im Serum vorhandenen Antigene (z.B. Glycodelin) die bereits gebundenen markierten Antigene kompetitiv. Das Signal ist hier indirekt und nicht direkt proportional zur Analyt-Konzentration (schematische Darstellung s. Abbildung 2.2)

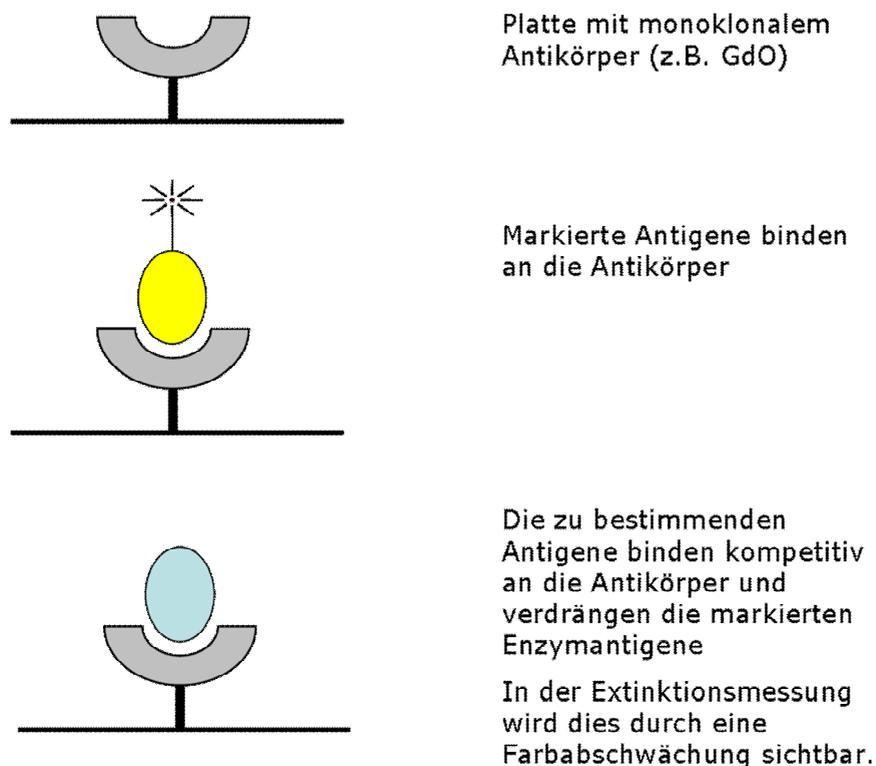


Abbildung 2.2: EIA (Enzym-Immuno-Assay, kompetitiv) Aufbauschema

Glycodelin wurde über zwei monoklonale Peptidantikörper gemessen, GdO89 und GdO90.

Für die Detektion des TA-MUC1 wurde der monoklonale Antikörper PankoMab eingesetzt.

2.2.2.1 Bestimmung von PankoMab durch die Glycotope GmbH

PankoMab ist ein neuer, ausgesprochen starker und spezifischer anti-Tumor-Antikörper, welcher von GlycoDesign und GlycoEngineering von der Firma Glycotope zur Krebstherapie entwickelt wurde. Zielantigen ist das konformative firmeneigene TA-MUC1 zu welchem PankoMab eine Affinität von 10^{-9} aufweist.

Da sich der Antikörper aktuell noch in Erprobung befindet, sind keine standardisierten Referenzwerte bekannt. Im normalen Serum beträgt die Konzentration des Markers im Median 14 U/ml (vgl. Abb. 2.3).

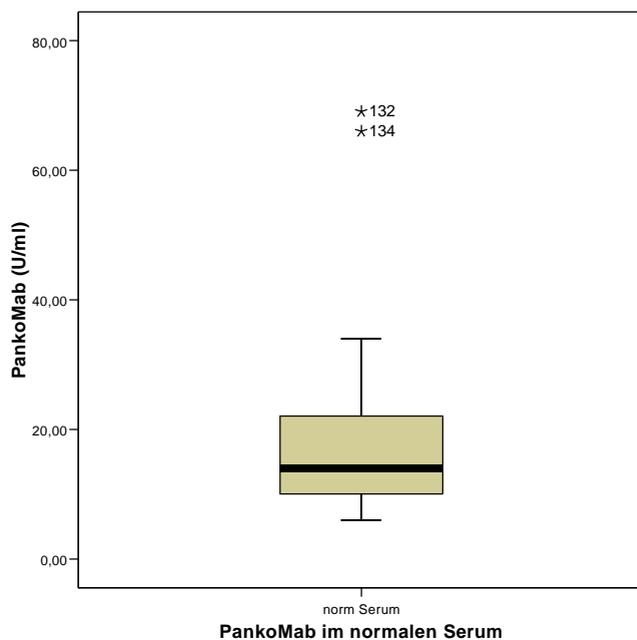


Abbildung 2.3: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der PankoMab Konzentrationen im normalen Serum (in U/ml). Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Percentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Percentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

2.2.2.2 Bestimmung von Glycodelin mit Santa Cruz sc-12290 und sc-12289

Peptidantikörper für Glycodelin der Firma Santa Cruz Biotechnology: affinitätsgereinigter monoklonaler Antikörper (Ziege) gegen eine Peptidsequenz am C-Ende des humanen Glycodelin.

„GdO90“: 12290PB 0,5 ng/mL

„GdO89“: 12289PB 2,0 ng/mL

mit POD-Streptavidin 1:4000 Stopp nach 2 min

		OD	SD	%SD	% relative Bindung
Standard	peptid 6ng/ml	0,181	0,005	2,7	28
Normalserum	normal pool2				
Pool2		0,584	0,035	6,1	90
Serum 1	m1a	0,612	0,013	2,2	95
Serum 2	m7	0,581	0,007	1,2	90
Serum 3	m22	0,599	0,022	3,7	93
Serum 4	u1	0,589	0,005	0,8	91
Serum 5	u4	0,549	0,023	4,1	85
Serum 6	u9	0,562	0,018	3,1	87
Serum 7	s2	0,564	0,009	1,6	87
Serum 8	s4	0,565	0,003	0,5	87
Serum 9	s6	0,554	0,016	2,9	86
Serum 10	b1	0,557	0,006	1,0	86
Serum 11	b7	0,409	0,002	0,5	63
Serum 12	b35	0,570	0,011	1,9	88
Fruchtwasser	Amnion	0,381	0,018	4,6	59
ohne Serum	ohne	0,647	0,023	3,6	100
ohne PB	blank	0,007	0,001	20,2	1

Tabelle 2.10

Ermittlung der Optical Density (OD), der Standardabweichung (SD), der prozentualen Standardabweichung (%SD), und der relativen Bindung in Prozent für den Immunoassay mit dem Peptid-Antikörper **GdO89**

Verdünnung: 1:2

		OD	SD	%SD	% relative Bindung
Standard	peptid 1,5 ng/ml	0,180	0,012	6,7	29
Normalserum	normal pool2				
Pool2		0,579	0,013	2,3	93
Serum 1	m1a	0,628	0,029	4,6	100
Serum 2	m7	0,518	0,001	0,3	83
Serum 3	m22	0,557	0,014	2,5	89
Serum 4	u1	0,575	0,001	0,1	92
Serum 5	u4	0,454	0,030	6,5	73
Serum 6	u9	0,494	0,004	0,7	79
Serum 7	s2	0,589	0,008	1,3	94
Serum 8	s4	0,556	0,002	0,4	89
Serum 9	s6	0,529	0,017	3,2	85
Serum 10	b1	0,552	0,010	1,8	88
Serum 11	b7	0,461	0,018	4,0	74
Serum 12	b35	0,542	0,019	3,5	87
Fruchtwasser	Amnion	0,663	0,002	0,3	106
ohne Serum	ohne	0,625	0,015	2,5	100
ohne PB	blank	0,007	0,001	20,2	1

Tabelle 2.11

Ermittlung der Optical Density (OD), der Standardabweichung (SD), der prozentualen Standardabweichung (%SD), und der relativen Bindung in Prozent für den Immunoassay mit dem Peptid-Antikörper **GdO90**

Verdünnung: 1:2

Der EIA mit den Glycodelinantikörper werden noch nicht klinisch eingesetzt, die Bestimmung dient wissenschaftlichen Zwecken.

2.2.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm SPSS durchgeführt. Der Mann-Whitney-U-Test für nichtparametrische unabhängige Stichproben diente dem Vergleich der Mittelwerte. Ein Wert von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikantes Ergebnis betrachtet. Die Korrelationsanalyse wurde durch Ermittlung des Rangkorrelationskoeffizienten von Spearman (Spearman's rho) durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Histologische Befunde

3.1.1 Maligne Befunde

Alle erhobenen Befunde konnten dem häufigsten Typ des Ovarialkarzinoms, den Oberflächenepithel-Stromatumoren zugeordnet werden. Dabei traten das seröse, muzinöse und endometroide Ovarialkarzinom in unterschiedlicher Häufigkeitsverteilung auf.

Die statistische Verteilung des histologischen Typs der malignen Ovarialtumoren aus der vorliegenden Studie zeigt eine hohe Anzahl seröser Karzinome (n=28), einen geringen Anteil an muzinösen Karzinomen (n=1) und die Anzahl der endometroiden Karzinome (n=15) (s. Abb. 3.1).

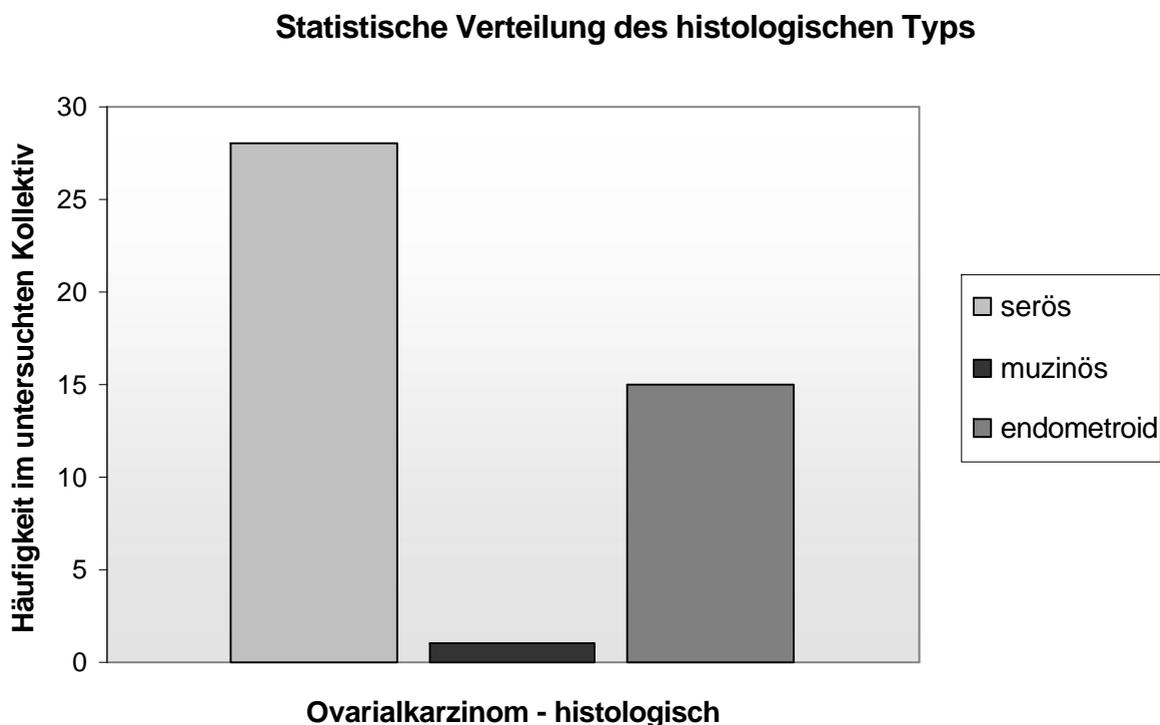


Abbildung 3.1

Abbildung 3.1 zeigt die statistische Verteilung des histologischen Typs aller ermittelten histologischen Befunde (n=44). Seröses Ovarialkarzinom: n= 28; Muzinöses Ovarialkarzinom: n=1; Endometroides Ovarialkarzinom: n=15.

3.1.2 Benigne Befunde

Die benignen Befunde (n=76) wurden anhand der histologischen Ergebnisse in zwei weitere Hauptgruppen eingeteilt (Abb. 3.2). Damit ergab sich die Gruppe der „Retentionszysten“ (n=32), zu welchen die Inklusionszysten, Follikelzysten, Corpus-Luteum-Zysten, Endometriumzysten und die einfachen serösen Zysten zählen. Zu der Gruppe der „echten“ Tumoren (n=38) zählen das seröse Zystadenom, das muzinöse Zystadenom, das seröse Zystadenofibrom, das muzinöse Zystadenofibrom, Brenner-Tumoren, das Teratom und das Fibrom. In die Auswertung der benignen Befunde gingen zudem benigne, nicht näher klassifizierte Befunde mit ein (n=6)

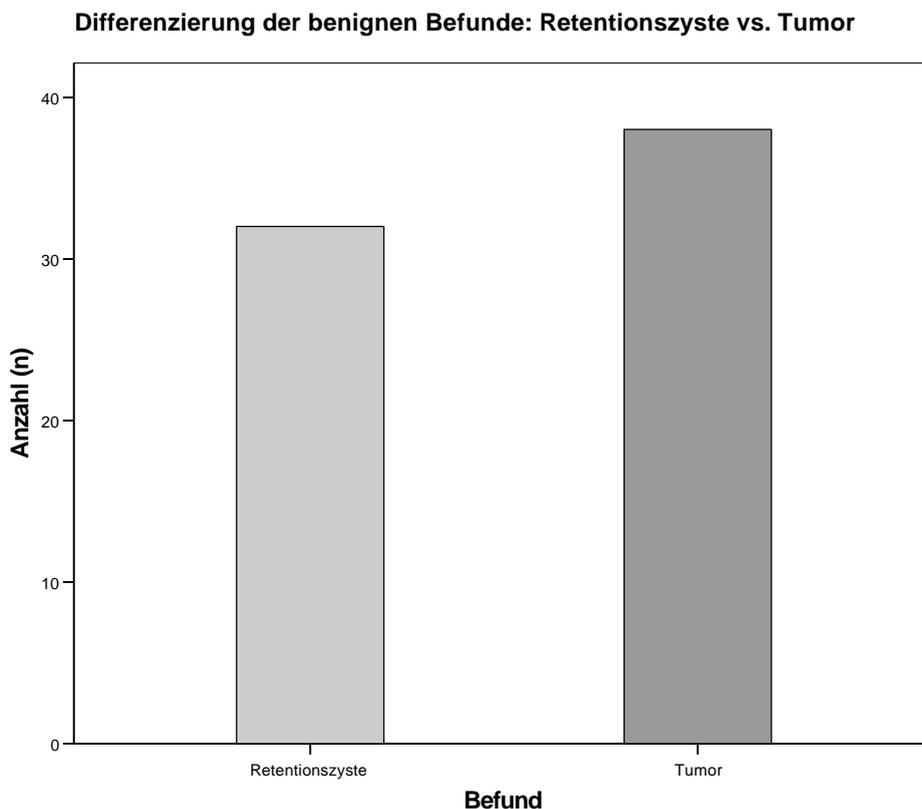


Abbildung 3.2

Abbildung 3.2 zeigt die Häufigkeit der zwei Untergruppen der benignen Befunde: Retentionszysten (n=32) und „echte“ Benigne Tumoren (n=38).

3.2 Untersuchungen von Tumormarkern bei benignen und malignen Befunden

3.2.1 CA 125

Der Unterschied im Nachweis von CA 125 im Serum ist zwischen der benignen und der malignen Gruppe im Mann-Whitney-Test signifikant ($p=0,000$). Hierbei ist im Serum der Patientinnen mit malignen Tumoren der Nachweis von CA125 im Median signifikant höher als bei den Patientinnen mit benignen Tumoren. Der Median von CA125 beträgt 341 U/ml für maligne Befunde, für benigne Befunde beträgt er 9 U/ml.

Dignität	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
CA 125 maligne	40	90,43	3617,00
benigne	74	39,70	2938,00
Gesamt	114		

Statistik für Test^a

	CA 125
Mann-Whitney-U	163,000
Wilcoxon-W	2938,000
Z	-7,820
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,000

a. Gruppenvariable: Dignität

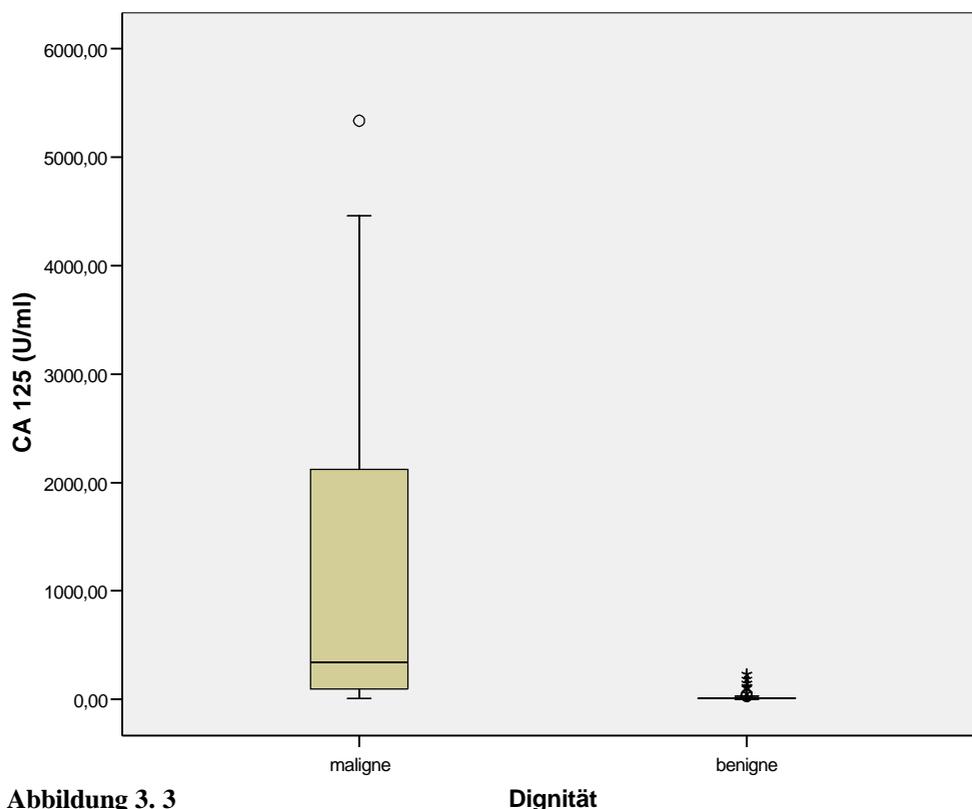


Abbildung 3. 3

Dignität

Abbildung 3.3: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der Ca125 Konzentrationen im Serum (in U/ml) von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

3.2.2 CA 15-3

Der Unterschied im Nachweis von CA 15-3 im Serum ist zwischen der benignen und der malignen Gruppe im Mann-Whitney-Test ebenfalls signifikant ($p=0,000$). Bei Patientinnen mit malignen Tumoren ist die Konzentration von CA15-3 im Serum im Median signifikant höher als bei den Patientinnen mit benignen Tumoren. Der Median von CA15-3 beträgt 46 U/ml für maligne Befunde, für benigne Befunde beträgt er 21 U/ml.

CA 15-3	Dignität	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
CA 15-3	maligne	40	72,88	2915,00
	benigne	74	49,19	3640,00
	Gesamt	114		

	CA 15-3
Mann-Whitney-U	865,000
Wilcoxon-W	3640,000
Z	-3,652
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,000

a. Gruppenvariable: Dignität

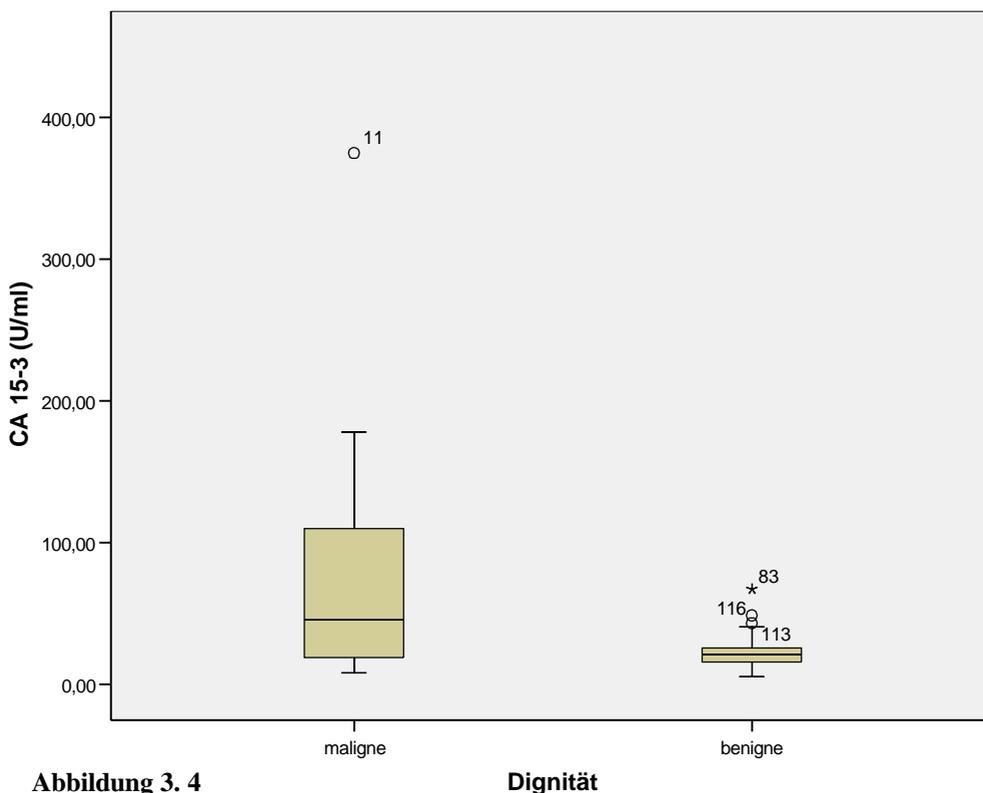


Abbildung 3.4: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der Ca15-3 Konzentrationen im Serum (in U/ml) von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Percentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Percentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

3.2.3 CA 27-29

Die Bestimmung von CA 27-29 im Serum der Patientinnen ergab in der statistischen Auswertung im Mann-Whitney-Test einen signifikanten Unterschied ($p=0,000$) zwischen der Konzentration bei benignen und der Konzentration bei malignen Befunden. Hierbei ist die Serumkonzentration bei malignen Tumoren im Median signifikant höher als bei benignen Tumoren. Der Median von CA 27-29 beträgt 37 U/ml für maligne Befunde, für benigne Befunde beträgt er 16 U/ml.

Ränge				Statistik für Test ^a		
CA 27-29	Dignität	N	Mittlerer Rang	Rangsumme	CA 27-29	
	maligne	39	70,67	2756,00	Mann-Whitney-U	832,000
	benigne	72	48,06	3460,00	Wilcoxon-W	3460,000
	Gesamt	111			Z	-3,533
					Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,000

a. Gruppenvariable: Dignität

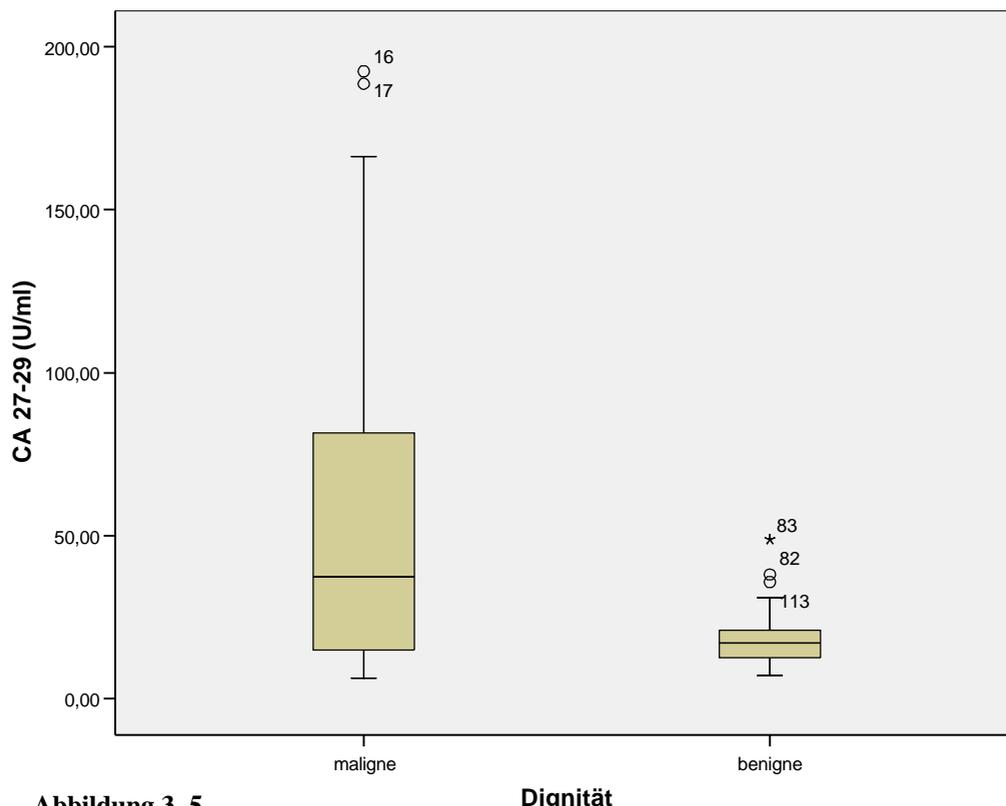


Abbildung 3. 5

Abbildung 3.5: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der Ca27.29 Konzentrationen im Serum (in U/ml) von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

3.2.4 CA 19-9

Die Bestimmung von CA 19-9 in den Serumproben ergab im Mann-Whitney-Test keinen signifikanten Unterschied bei Seren maligner und benigner Befunde ($p=0,667$). Der Median von CA 19-9 beträgt 8 U/ml für maligne Befunde, für benigne Befunde beträgt er 7 U/ml.

Ränge				Statistik für Test ^a		
CA 19-9 U/ml	Dignität	N	Mittlerer Rang	Rangsumme	CA 19-9 U/ml	
	maligne	39	58,82	2294,00	Mann-Whitney-U	1372,000
	benigne	74	56,04	4147,00	Wilcoxon-W	4147,000
	Gesamt	113			Z	-,431
					Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,667

a. Gruppenvariable: Dignität

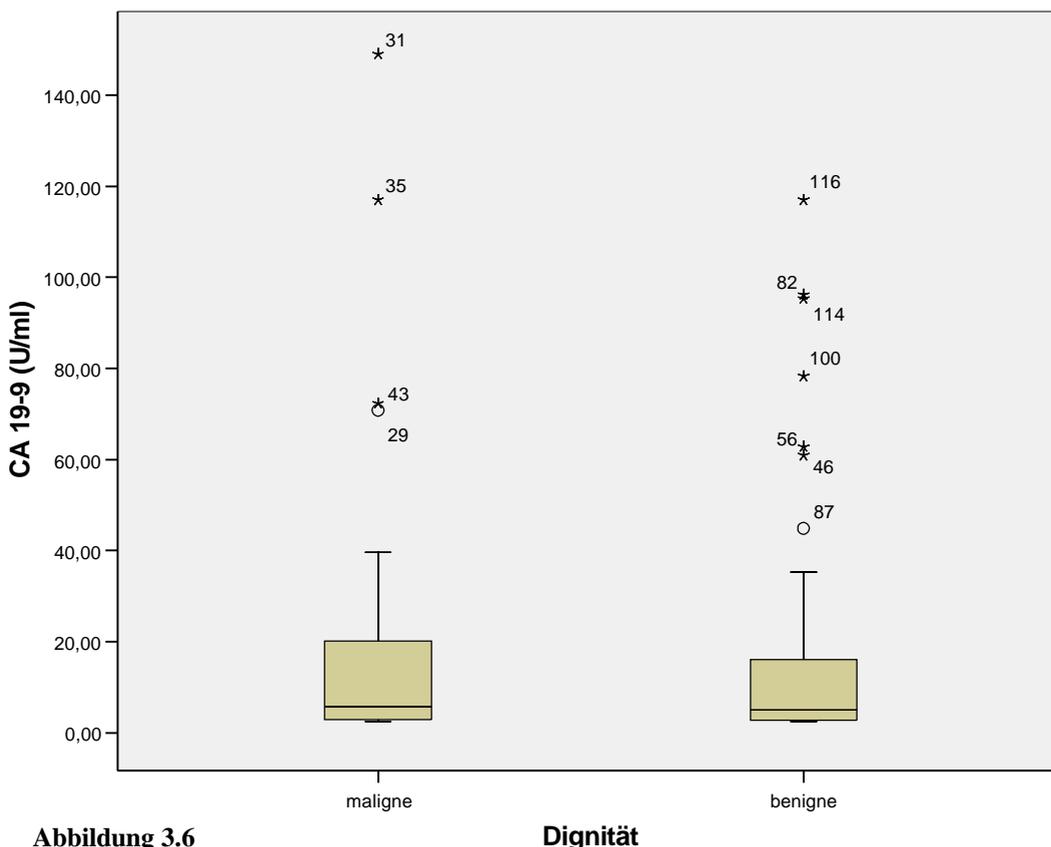


Abbildung 3.6: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der Ca19-9 Konzentrationen im Serum (in U/ml) von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge)

3.2.5 PankoMab

Die Bestimmung von PankoMab im Serum der Patientinnen ergab in der statistischen Auswertung im Mann-Whitney-Test einen signifikanten Unterschied ($p=0,051$) zwischen der Konzentration bei benignen und der Konzentration bei malignen Befunden. Hierbei ist die Serumkonzentration bei benignen Tumoren im Median signifikant höher als bei malignen Tumoren. Der Median von PankoMab beträgt 22 U/ml für maligne Befunde, für benigne Befunde beträgt er 31 U/ml.

Ränge					Statistik für Test ^a	
PankoMab	Dignität	N	Mittlerer Rang	Rangsumme		PankoMab
PankoMab	maligne	42	51,63	2168,50	Mann-Whitney-U	1265,500
	benigne	77	64,56	4971,50	Wilcoxon-W	2168,500
	Gesamt	119			Z	-1,955
					Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,051

a. Gruppenvariable: Dignität

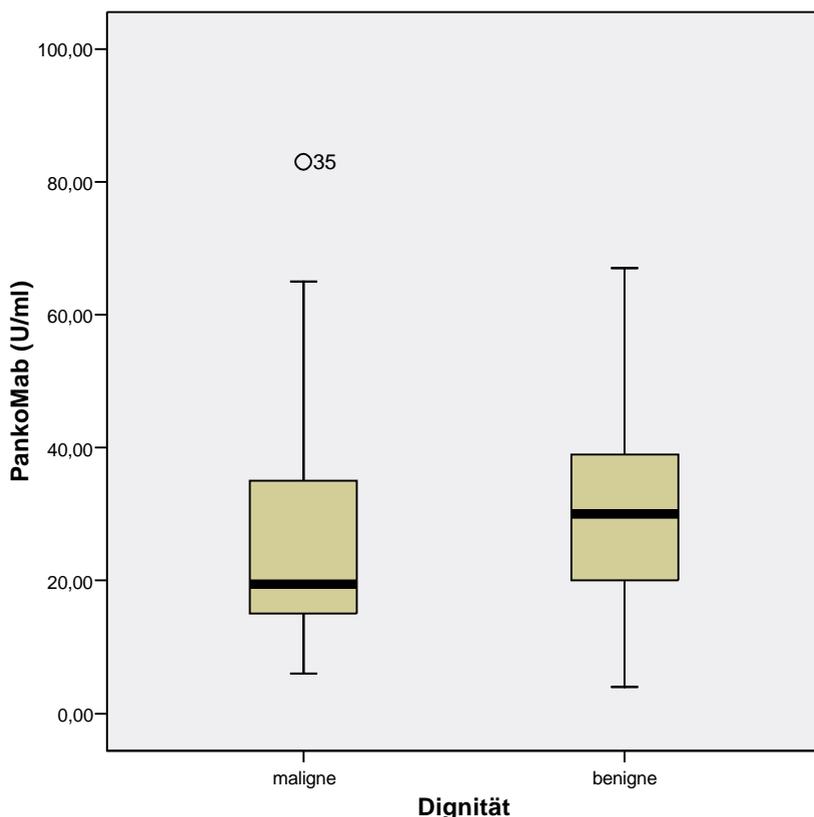


Abbildung 3. 7

Abbildung 3.7: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der PankoMab Konzentrationen im Serum (in U/ml) von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge).

3.2.6 CEA

Die Bestimmung von CEA aus den Serumproben ergab im Mann-Whitney-Test ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse bezüglich des Unterschiedes in der Konzentration im Serum bei Proben maligner und benigner Befunde ($p=0,335$). Der Median von CEA beträgt 0,8 ng/ml für maligne Befunde, für benigne Befunde beträgt er 1,1 ng/ml.

Ränge					Statistik für Test ^a	
CEA ng/ml	Dignität	N	Mittlerer Rang	Rangsumme		CEA ng/ml
	maligne	38	52,37	1990,00	Mann-Whitney-U	1249,000
	benigne	74	58,62	4338,00	Wilcoxon-W	1990,000
	Gesamt	112			Z	-,965
					Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,335

a. Gruppenvariable: Dignität

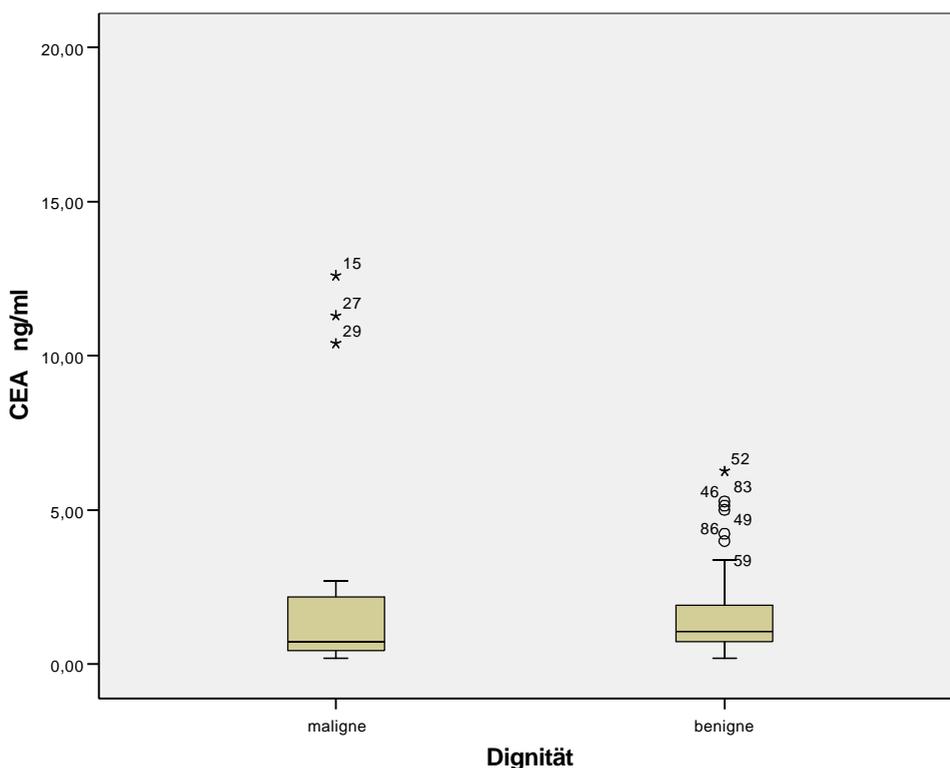


Abbildung 3.8

Abbildung 3.8: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der CEA Konzentrationen im Serum (in ng/ml) von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

3.2.7 hCG

Der Vergleich der Serumkonzentrationen von hCG zwischen benignen und malignen Tumoren des Ovars ergab im Mann-Whitney-Test einen signifikanten Unterschied ($p=0,000$). Bei malignen Prozessen ist die Konzentration im Serum im Median signifikant höher als bei benignen Tumoren. Der Median von hCG beträgt 4 mIU/ml für maligne Befunde, für benigne Befunde ist er 0,1 mIU/ml.

Ränge				Statistik für Test ^a		
hCG mIU/ml	Dignität	N	Mittlerer Rang	Rangsumme	hCG mIU/ml	
	maligne	39	76,05	2966,00	Mann-Whitney-U	700,000
	benigne	74	46,96	3475,00	Wilcoxon-W	3475,000
	Gesamt	113			Z	-4,788
					Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,000

a. Gruppenvariable: Dignität

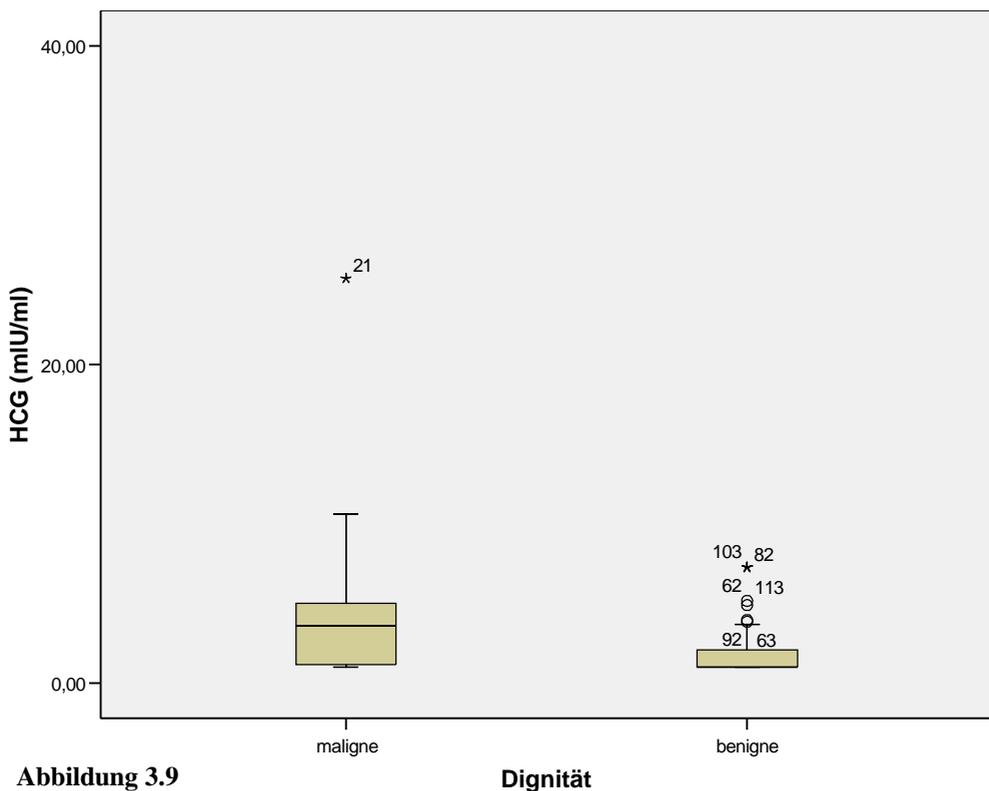


Abbildung 3.9: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der hCG Konzentrationen im Serum (in mIU/ml) von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge)

3.2.8 GdO89

Die Messung der Konzentration an Gdo89 im Serum zeigte im Mann-Whitney-Test einen signifikanten Unterschied zwischen malignen und benignen Befunden ($p=0,012$). GdO89 war im Median im Serum benigner Befunde signifikant höher nachweisbar als im Serum maligner Befunde. Der Median von GdO89 beträgt 3 ng/ml für maligne Befunde, für benigne Befunde beträgt er 5 ng/ml.

Ränge				Statistik für Test ^a		
	Dignität	N	Mittlerer Rang	Rangsumme	GdO89 (ng/ml)	
GdO89 (ng/ml)	maligne	44	49,98	2199,00	Mann-Whitney-U	1209,000
	benigne	76	66,59	5061,00	Wilcoxon-W	2199,000
	Gesamt	120			Z	-2,522
					Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,012

a. Gruppenvariable: Dignität

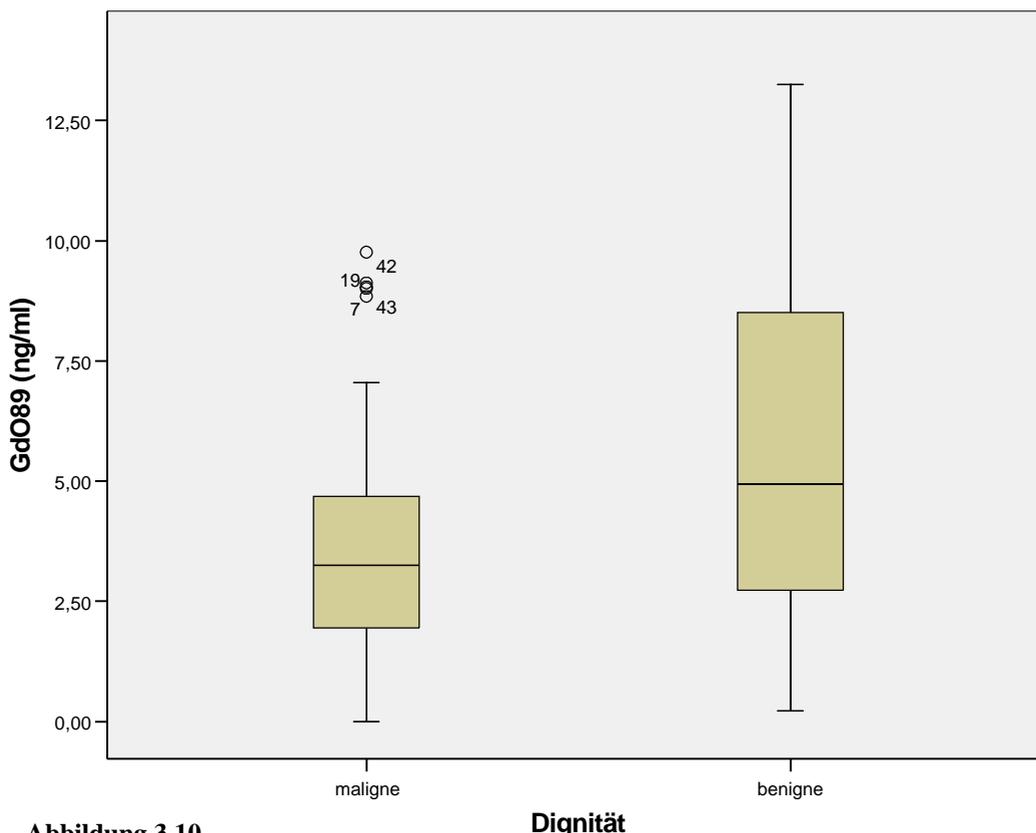


Abbildung 3.10

Dignität

Abbildung 3.10: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der GdO89 Konzentrationen im Serum (in ng/ml) von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

3.2.9 GdO90

Bei der Durchführung des Mann-Whitney-Tests mit den Messdaten der GdO90-Konzentration in den Serumproben ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,023$) zwischen den malignen und benignen Befunden.

Der Median liegt bei den benignen Serumproben signifikant höher als bei den malignen Serumproben. Der Median von GdO90 beträgt 9 ng/ml für maligne Befunde, für benigne Befunde beträgt er 13 ng/ml.

Ränge				Statistik für Test ^a		
GdO90 (ng/ml)	Dignität	N	Mittlerer Rang	Rangsumme	GdO90 (ng/ml)	
	maligne	44	51,05	2246,00	Mann-Whitney-U	1256,000
	benigne	76	65,97	5014,00	Wilcoxon-W	2246,000
	Gesamt	120			Z	-2,266
					Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,023

a. Gruppenvariable: Dignität

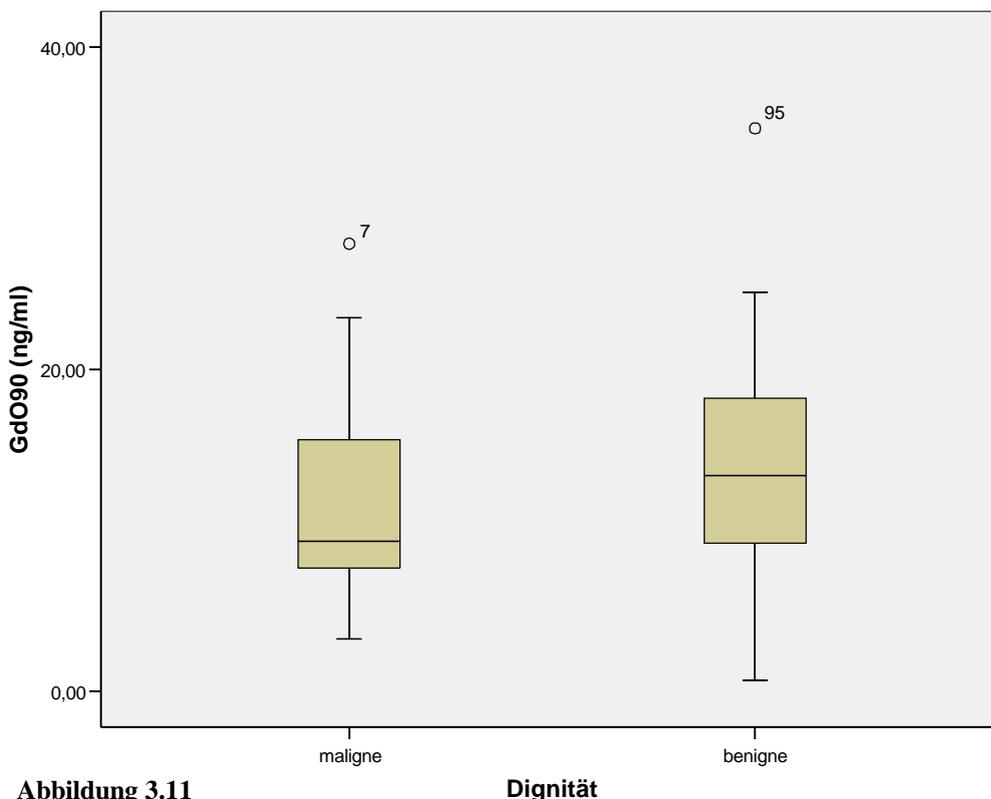


Abbildung 3.11: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der GdO90 Konzentrationen im Serum (in ng/ml) von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

3.2.10 Glycodelin in differenzierter Betrachtung der benignen Befunde

Innerhalb der benignen Befunde wurde eine weitere Aufteilung in zwei Gruppen, zum einen die Gruppe der Ovarialzysten, zum anderen die Gruppe der „echten“ benignen Tumoren durchgeführt.

Die statistische Analyse mit dem Mann-Whitney-Test ergab einen signifikanten Unterschied zwischen der Serumkonzentration von GdO89 und GdO90 bei malignen Tumoren und benignen Ovarialzysten ($p=0,001$ GdO89, $p=0,002$ GdO90). Keine Signifikanz zeigte der Mann-Whitney-Test für die Serumkonzentrationen von GdO89 und GdO90 bei malignen Tumoren und „echten“ benignen Tumoren ($p=0,193$ GdO89, $p=0,260$ GdO90).

Signifikante Unterschiede ergab der Mann-Whitney-Test für die Serumkonzentrationen von GdO89 und GdO90 zwischen benignen Ovarialzysten und „echten“ benignen Ovarialtumoren ($p=0,031$ GdO89, $p=0,013$ GdO90).

Dignität		N	Mittlerer Rang	Rangsumme
GdO89 (ng/ml)	maligne	44	32,08	1411,50
	benigne - Zysten	34	49,10	1669,50
	Total	78		
GdO90 (ng/ml)	maligne	44	32,48	1429,00
	benigne - Zysten	34	48,59	1652,00
	Total	78		

Statistik für Test^f

	GdO89 (ng/ml)	GdO90 (ng/ml)
Mann-Whitney U	421,500	439,000
Wilcoxon W	1411,500	1429,000
Z	-3,290	-3,114
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001	,002

a. Gruppenvariable: Dignität

Dignität		N	Mittlerer Rang	Rangsumme
GdO89 (ng/ml)	maligne	44	37,44	1647,50
	benigne - Tumoren	36	44,24	1592,50
	Total	80		
GdO90 (ng/ml)	maligne	44	37,85	1665,50
	benigne - Tumoren	36	43,74	1574,50
	Total	80		

Statistik für Test^f

	GdO89 (ng/ml)	GdO90 (ng/ml)
Mann-Whitney U	657,500	675,500
Wilcoxon W	1647,500	1665,500
Z	-1,301	-1,127
Asymp. Sig. (2-tailed)	,193	,260

a. Gruppenvariable: Dignität

Dignität		N	Mittlerer Rang	Rangsumme
GdO89 (ng/ml)	benigne - Zysten	34	40,91	1391,00
	benigne - Tumoren	36	30,39	1094,00
	Total	70		
GdO90 (ng/ml)	benigne - Zysten	34	41,69	1417,50
	benigne - Tumoren	36	29,65	1067,50
	Total	70		

Statistik für Test^f

	GdO89 (ng/ml)	GdO90 (ng/ml)
Mann-Whitney U	428,000	401,500
Wilcoxon W	1094,000	1067,500
Z	-2,162	-2,474
Asymp. Sig. (2-tailed)	,031	,013

a. Gruppenvariable: Dignität

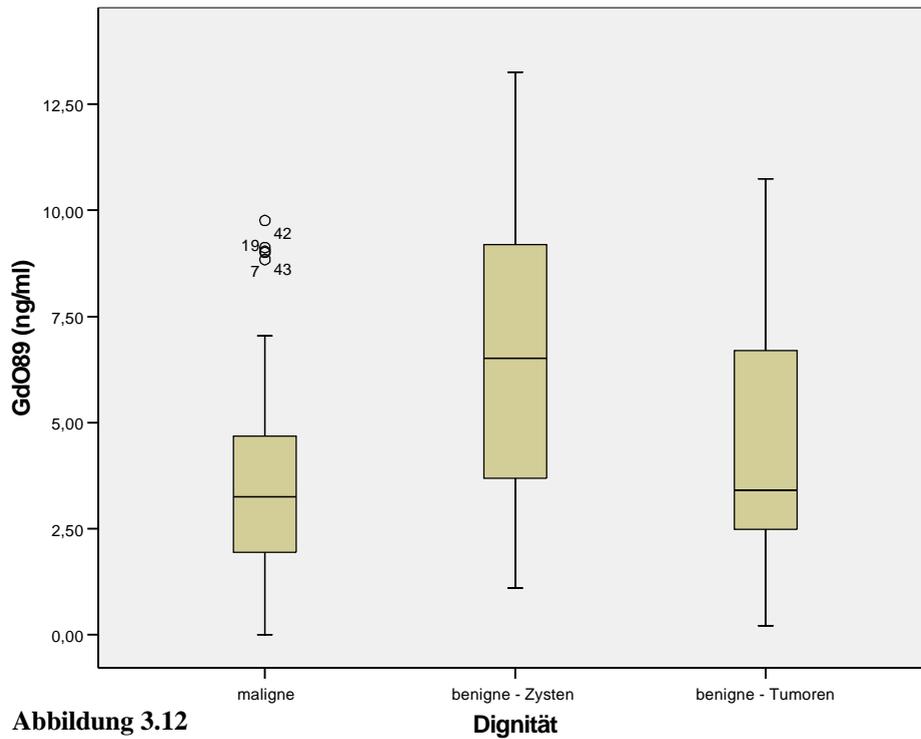


Abbildung 3.12

Abbildung 3.12: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der GdO89 Konzentrationen im Serum (in ng/ml) von Patientinnen mit benignen Ovarialzysten (34), „echten“ benignen Tumoren (36) und von malignen (44) Ovarialtumorpasientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

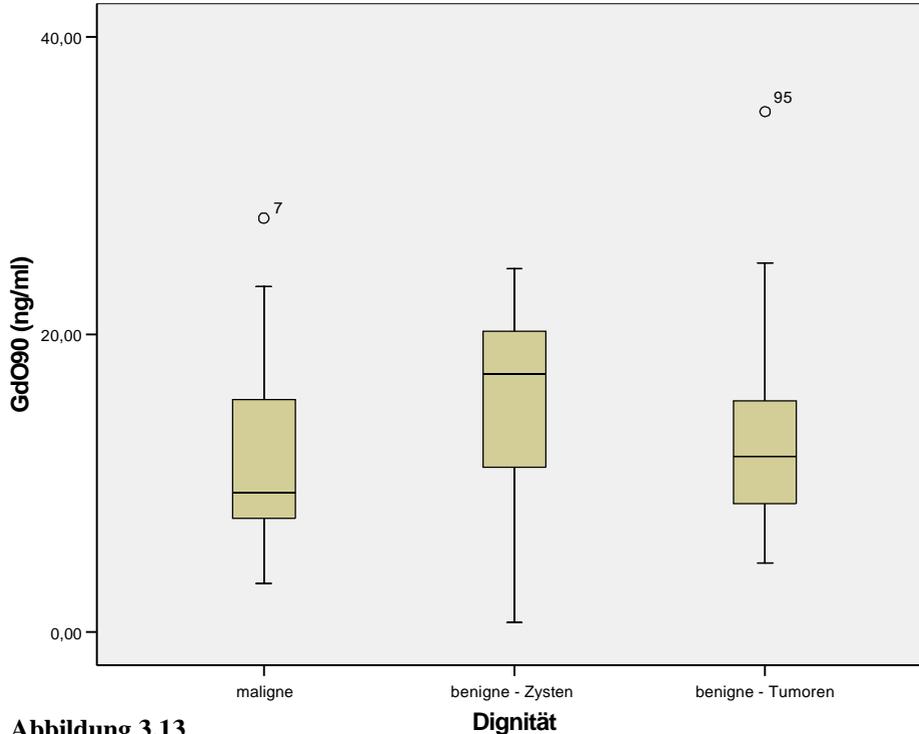


Abbildung 3.13

Abbildung 3.13: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der GdO90 Konzentrationen im Serum (in ng/ml) von Patientinnen mit benignen Ovarialzysten (34), „echten“ benignen Tumoren (36) und von malignen (44) Ovarialtumorpasientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

3.2.11 Vergleich der signifikanten Marker

Abbildung 3.10 gibt einen Überblick über die Verteilung der Messergebnisse aller signifikanten Tumormarker, bezüglich ihrer Zuordnung zur Dignität der Befunde der jeweiligen Serumproben.

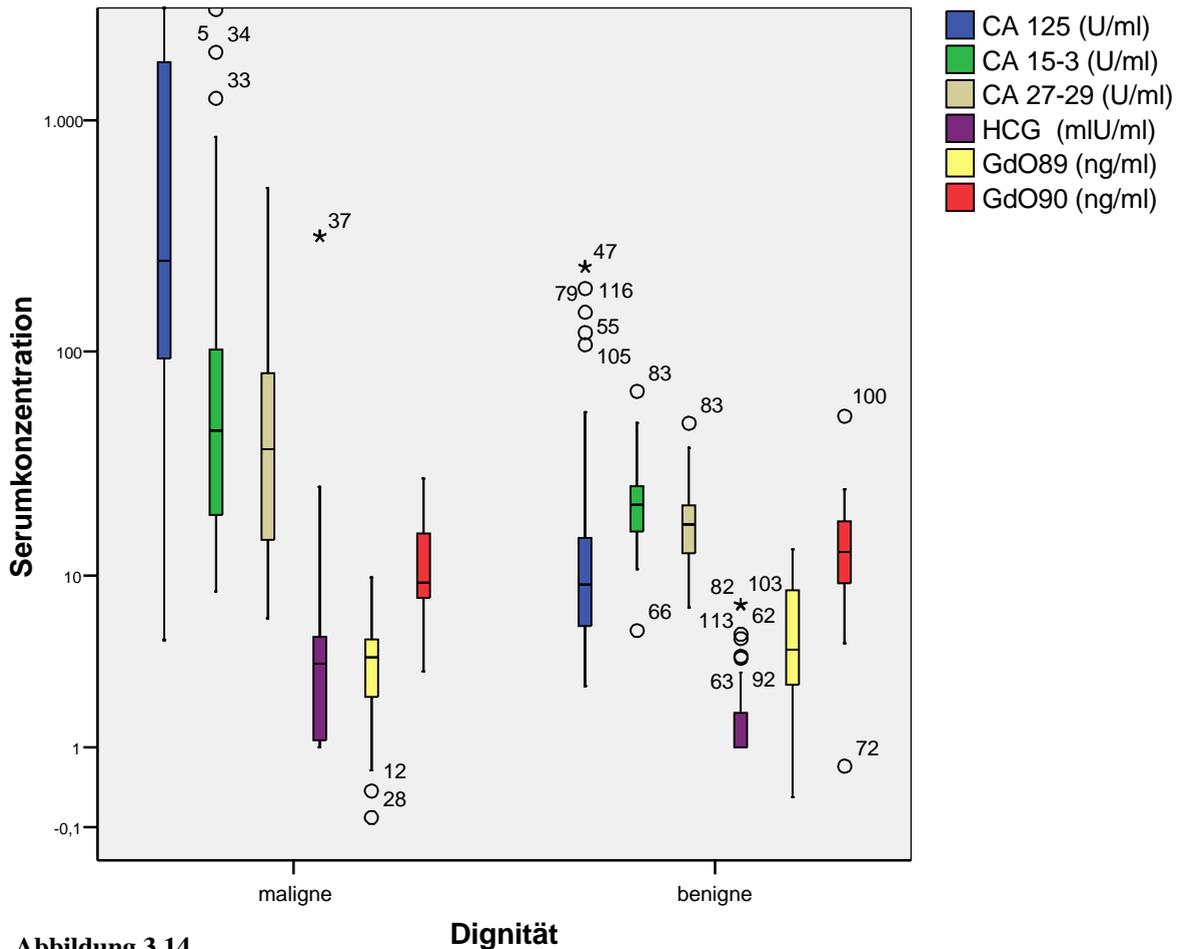


Abbildung 3.14: BoxPlot Diagramm zur Darstellung der Konzentrationen der Marker Ca125 (U/ml), Ca15-3 (U/ml), Ca27-29 (U/ml), HCG (mIU/ml), GdO89 (ng/ml) und GdO90 (ng/ml) im Serum von benignen (74) und malignen (40) Ovarialtumorpatientinnen. Der waagerechte Balken entspricht dem Median. Die Box gibt den Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile an. Die Fehlerbalken entsprechen dem Bereich zwischen 5. und 95. Perzentile. Die Kreise und Sterne sind Ausreißer (Kreis entspricht dem 1,5fachen der Boxlänge, Stern entspricht dem 3fachen der Boxlänge).

3.3 Korrelationen

Alle ermittelten Tumormarkerwerte wurden mittels des nichtparametrischen Korrelationstest Spearman Rangkorrelationskoeffizienten (Spearman's rho) miteinander korreliert (s. Tabelle 3.1).

Hochsignifikante Werte werden bei Korrelation im Signifikanzlevel $<0,01$ erhalten, signifikante Werte sind durch eine Korrelation im Signifikanzlevel $<0,05$ gegeben.

3.3.1 CA 125

CA 125 korreliert hochsignifikant mit CA 15.3 (Korrelationskoeffizient 0,42, $p=0,000$), mit CA 27.29 (Korrelationskoeffizient 0,34, $p=0,000$), mit HCG (Korrelationskoeffizient 0,32, $p=0,023$) und mit GdO90 (Korrelationskoeffizient -0,23, $p=0,014$).

3.3.2 CA 15.3

CA 15.3 korreliert hochsignifikant mit CA 125 (Korrelationskoeffizient 0,42, $p=0,000$), mit CA 27.29 (Korrelationskoeffizient 0,85, $p=0,000$), mit CA 19.9 (Korrelationskoeffizient 0,22, $p=0,041$), und mit PankoMab (Korrelationskoeffizient 0,28, $p=0,003$).

3.3.3 CA 27.29

CA 27.29 korreliert hochsignifikant mit CA 125 (Korrelationskoeffizient 0,34, $p=0,000$), mit CA 15.3 (Korrelationskoeffizient 0,85, $p=0,000$), mit PankoMab (Korrelationskoeffizient 0,39, $p=0,000$) und mit GdO90 (Korrelationskoeffizient 0,22, $p=0,009$).

3.3.4 CA 19.9

CA 19.9 korreliert signifikant mit CA 15.3 (Korrelationskoeffizient 0,22, $p=0,041$), hochsignifikant mit CEA (Korrelationskoeffizient 0,37, $p=0,000$) und signifikant mit GdO90 (Korrelationskoeffizient 0,22, $p=0,039$).

3.3.5 PankoMab

PankoMab korreliert hochsignifikant mit CA 15.3 (Korrelationskoeffizient 0,28, $p=0,003$), mit CA 27.29 (Korrelationskoeffizient 0,39, $p=0,000$), und mit CEA (Korrelationskoeffizient 0,27, $p=0,005$).

3.3.6 CEA

CEA korreliert hochsignifikant mit CA 19.9 (Korrelationskoeffizient 0,37, $p=0,000$) und mit PankoMab (Korrelationskoeffizient 0,27, $p=0,005$).

3.3.7 HCG

HCG korreliert signifikant mit CA 125 (Korrelationskoeffizient 0,32, $p=0,023$).

3.3.8 GdO89

GdO89 korreliert hochsignifikant mit GdO90 (Korrelationskoeffizient 0,43, $p=0,000$).

3.3.9 GdO90

GdO90 korreliert signifikant mit CA 125 (Korrelationskoeffizient -0,23, $p=0,014$), mit CA 19.9 (Korrelationskoeffizient 0,22, $p=0,039$), hochsignifikant mit CA 27.79 (Korrelationskoeffizient 0,22, $p=0,009$) und mit GdO89 (Korrelationskoeffizient 0,43, $p=0,000$).

Korrelationen Spearman's rho - alle ermittelten Werte (maligne und benigne)

	CA125	CA15.3	CA27.29	CA19.9	PankMab	CEA	hCG	GdO89	GdO90
CA125	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,422** ,000 114	,344** ,000 109	,192 ,070 90	,012 ,903 109	,049 ,608 110	,316* ,023 52	-,027 ,773 114	-,230* ,014 114
CA15.3	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,422** ,000 114	,646** ,000 109	,216* ,041 90	,279** ,003 109	,180 ,060 110	,209 ,137 52	,050 ,527 114	,049 ,608 114
CA27.29	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,848** ,000 109	1,000 ,000 310	,141 ,195 86	,385** ,000 140	,157 ,109 106	,143 ,326 49	,053 ,524 145	,217** ,009 145
CA19.9	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,216* ,041 90	,141 ,195 86	1,000 ,000 90	,071 ,514 87	,365** ,001 87	,223 ,155 42	,172 ,105 90	,219* ,039 90
PankMab	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,279** ,003 109	,385** ,000 140	,071 ,514 87	1,000 ,005 105	,271** ,005 105	,085 ,553 61	,131 ,110 150	,154 ,062 149
CEA	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,180 ,060 110	,157 ,109 105	,365** ,001 87	,271** ,005 105	1,000 ,005 110	,030 ,838 49	,137 ,153 110	,020 ,833 110
hCG	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,209 ,137 52	,143 ,326 49	,223 ,155 42	,085 ,563 51	,030 ,833 49	1,000 ,177 52	,190 ,177 52	-,134 ,343 52
GdO89	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-,027 ,773 114	,053 ,524 145	,172 ,105 90	,131 ,110 150	,137 ,153 110	,190 ,177 52	1,000 ,177 52	,433** ,000 154
GdO90	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-,230* ,014 114	,217** ,009 145	,219* ,039 90	,154 ,062 149	,020 ,833 110	-,104 ,343 52	,430** ,000 154	1,000 ,000 154

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Tabelle 3.1

Korrelation Spearman's rho (nichtparametrische Korrelationen). „Correlation Coefficient“ bezeichnet den Korrelationskoeffizienten, „Sig.“ die Signifikanz. Die farbige markierten Felder heben die korrelierenden Werte heraus (**Korrelation im Signifikanzlevel 0,01; * Korrelation im Signifikanzlevel 0,05).

4. Diskussion

Tumormarker sind seit vielen Jahren Bestandteil der Tumornachsorge und Tumorthherapie. Hinsichtlich des epithelialen Ovarialkarzinoms hat sich der Marker CA 125 aufgrund seiner relativ hohen Organspezifität und Korrelation mit dem Erkrankungsstadium bewährt.

Jedoch ist nach wie vor keine zuverlässige Diagnostik des malignen Ovarialtumors im vorklinischen Stadium möglich. Die Früherkennung maligner Tumoren ist die Methode, die die besten Überlebensraten liefert. Eine wenig invasive Form der Diagnostik könnte die Bestimmung von Tumormarkern im Serum sein. Die ermittelten Ergebnisse dieser Arbeit sollen die Kenntnisse über den Einsatz weiterer möglicher Tumormarker zur Differenzierung maligner und benigner Erkrankungen des Ovars im klinischen Alltag erweitern.

4.1 Unterschiede zwischen malignen und benignen Befunden

4.1.1 Membranständige Tumormarker

4.1.1.1 Cancer Antigen 125 (CA 125)

CA 125 ist aktuell der am meisten eingesetzte Tumormarker für das epitheliale Ovarialkarzinom. Die Evaluation anderer Tumormarker richtet sich somit nach den Kenntnissen der Eigenschaften von CA 125 aus.

Seit der Identifizierung von CA 125 und der Erkenntnis, diesen als quantitativen Serummarker bei Ovarialkarzinomen heranziehen zu können (28, 52) wurden zahlreiche Studien zum Cancer Antigen 125 auch mit der Intention durchgeführt, diesen Marker mit oder ohne Kombination mit weiteren Markern bzw. apparativer Diagnostik als zuverlässigen Screening- bzw. Differenzierungsmarker einsetzen zu können (4, 26, 52, 55, 66).

Die Differenzierung zwischen benigne und maligne spielt hier die maßgebliche Rolle. Es konnte dargestellt werden, dass lediglich in 8% der benignen Befunde die Serumkonzentration des CA 125 über 65 U/ml liegt, dagegen kann bei Patientinnen

mit malignen Tumoren in 75% der Fälle ein CA 125 Wert über 65 U/ml nachgewiesen werden (52). Bei alleiniger Betrachtung der nicht-muzinösen epithelialen Ovarialkarzinome kann ein maligner Prozess bei Serum-CA125 über 65 U/ml mit einer Sensitivität von 91% bestätigt werden (52).

Von wesentlicher Bedeutung für die Sensitivität und Spezifität ist die Einteilung in prämenopausale und postmenopausale Patientengruppen: hierbei kann eine höhere Sensitivität und Spezifität bei postmenopausalen Frauen beobachtet werden (52).

In unserer Studie konnten wir einen hochsignifikanten Unterschied ($p < 0,001$) in der Serumkonzentration von CA 125 zwischen malignen und benignen Befunden nachweisen. Der Median der benignen Befunde lag mit 9 U/ml unter der 5. Perzentile der malignen Befunde (5. Perzentile 13 U/ml).

Eine Bewertung der Messergebnisse mit dem im IMMULITE 2000 OM-MA angegebenen Referenzwert von 21 U/ml, ergibt einen positiv prädiktiven Wert von 70% und einen negativ prädiktiven Wert von 90%.

Wir haben auf eine Einteilung der Patientinnen in eine prä- bzw. postmenopausale Gruppe verzichtet. Auffallend war die Altersverteilung mit 84% der über 50-jährigen in der malignen Gruppe, während die benigne Gruppe einen Anteil von 43% Frauen über 50 Jahren aufwies. Es ist anzunehmen, dass in den Fällen der postmenopausalen Patientinnen eine Erhöhung des CA 125 eine weitaus höhere Treffsicherheit bezüglich der Unterscheidung zwischen malignen und benignen Tumoren des Ovars hat. Dennoch ist ein präklinischer Einsatz zur Screeningdiagnostik nach dem bisherigen Stand der Erkenntnis nach wie vor unwahrscheinlich.

CA 125 ist bislang der am besten erforschte und der im klinischen Alltag zuverlässigste Marker für das Ovarialkarzinom, weshalb es als Maßstab für alle neu evaluierten Tumormarker in diesem Bereich dienen soll.

4.1.1.2 CA 125 im Vergleich mit MUC1-Markern

Zu den MUC1-Markern welche mit CA 125 verglichen werden sollen gehören CA 27.29, CA 15-3, CA 19-9 und PankoMab.

4.1.1.2.1 CA 15-3 und CA 27.29 im Vergleich

CA 27.29 und CA 15-3 sind sich in ihrer Struktur sehr ähnlich und finden schon länger Verwendung in der Brustkrebsnachsorge (15). Sie sind auch als Marker zur Brustkrebsvorsorge in Evaluation, wobei CA 27.29 trotz höherer Spezifität und Sensitivität im Vergleich zu CA 15-3 nach wie vor keine Eignung als Screeningparameter für das Mammakarzinom aufweisen konnte (24). Eine im Hinblick auf die Früherkennung von Ovarialkarzinomen durchgeführte Studie, die CA15-3, CA 125 und einen weiteren Tumormarker, CA 72-4 mit Ultraschall kombinierte, konnte bislang auch keine signifikante Aussagekraft des Markers für eine Früherkennung erbringen (70).

Die Messungen im Rahmen der vorliegenden Studie zeigten deutlich signifikante Unterschiede in der Serumkonzentration sowohl von CA 27.29 als auch von CA 15-3 zwischen malignen und benignen Ovarialtumoren. Die Mediane waren zwar signifikant voneinander unterschiedlich, jedoch ging aus den Boxplots (vgl. Abb. 3.2 und Abb. 3.3) eine große Überlappungszone der Serumwerte hervor, was verdeutlicht, dass nicht eindeutig zwischen maligne und benigne unterschieden werden kann, da die Wahrscheinlichkeit, dass der gemessene Wert in einem Bereich liegt, der sowohl von benignen als auch malignen Ovarialtumoren abgedeckt ist, sehr hoch ist. Man kann zwar davon ausgehen, dass 50% der malignen Tumoren einen CA 15-3 Wert größer als 45 U/ml und einen CA 27.29 Wert größer als 37 U/ml aufweisen, jedoch die Werte darunter stellen eine Grauzone dar und können somit das Wesentliche eines Tumormarkers, die eindeutige Zuordnung und die damit verbundene hohe Sensitivität und Spezifität nicht gewährleisten. Es ergibt sich aus dieser Studie somit keine dem CA 125 annähernd gute Aussagekraft für CA 15-3 und CA 27.29.

4.1.1.2.2 CA 19-9 im Vergleich

Als einzelner Tumormarker war CA 19-9 nicht verwertbar, sowohl in der alleinigen Betrachtung hinsichtlich seines Differenzierungspotentials zwischen malignen und benignen Tumoren, als auch folglich im Vergleich mit CA 125. Der Unterschied innerhalb der Dignität ist als nicht signifikant aus unserer Auswertung

hervorgegangen.

Diese Erkenntnis reiht sich in die bislang bekannten Ergebnisse zur Aussagekraft dieses Tumormarkers ein. Selbst bei einer hohen Spezifität und Sensitivität und etabliertem klinischen Einsatz für das Pankreaskarzinom (73) ist der positiv prädiktive Wert hierbei kleiner als 1 Prozent (42). Der Einsatz als Screeningmarker ist somit auch bei den für CA-19-9 relativ spezifischen Pankreaskarzinomen und bösartigen Gallenwegtumoren nicht möglich, für das Ovarialkarzinom haben sich nun als Einzelmarker diesbezüglich auch keine weiteren Anhaltspunkte ergeben. In der Kombinationsbestimmung mit CA 125 bei Borderlinetumoren konnte CA19-9 im follow-up für muzinöse Borderlinetumoren bereits ein Differenzierungspotential zwischen serösem und muzinösem Typ und einen sensitiveren Rezidivnachweis erbringen (45).

4.1.1.2.3 Beurteilung von PankoMab

PankoMab gehört zu einer Generation neuer Tumormarker, welcher bislang vor allem hinsichtlich seiner Eigenschaft als therapeutischer Tumorantikörper im Rahmen einer Immuntherapie evaluiert wurde und sich derzeit noch in Erprobung befindet (9). Allgemein ist zur Gewährleistung einer möglichst hohen Bindungskapazität an Tumorzellen zur Immuntherapie ein Antikörper mit geringer Bindung an „geschedete“, vom Tumor abgelöste MUC1 Epitope von Vorteil (9). Diese Eigenschaft von PankoMab konnten wir in unseren Bestimmungen beobachten: Im Serum von Patientinnen mit malignen Ovarialkarzinomen wurde deutlich weniger MUC1 durch PankoMab detektiert, der Unterschied zwischen malignen und benignen Befunden war mit deutlich erhöhtem TA-MUC1-Nachweis bei benignen Ovarialtumoren signifikant (Median maligne: 22 U/ml, Median benigne: 31 U/ml)

Die Eigenschaft von PankoMab, bei malignen Tumoren nicht vermehrt an zirkulierende Antigene zu binden haben wir somit bestätigt, die vermehrte Detektion von TA-MUC1 bei benignen Erkrankungen ist vorsichtig zu bewerten, da zwar die Mediane knapp signifikant voneinander unterschiedlich waren ($p=0,051$), jedoch im Boxplot die Boxen bzw. Fehlerbalken sich von der 5. bis zur 95. fast vollständig überschneiden (vgl. Abb.3.7). PankoMab hat als Serummarker somit kein Potential zur Differenzierung zwischen malignen und benignen Ovarialtumoren.

4.1.1.3 Beurteilung von CEA

Das Carcinoembryonale Antigen CEA ist bekanntermaßen ein Tumormarker in der Nachsorge des kolorektalen Karzinoms (19), zudem ist aber auch eine relativ hohe Spezifität für das muzinöse epitheliale Ovarialkarzinom bekannt (14, 29, 59). Hierbei korreliert die Gewebekonzentration von CEA mit dem CEA-Serumlevel. Ist im Gewebe kein CEA nachweisbar, ist das Antigen im Serum nicht detektierbar (59). Bei serösen Karzinomen ist der Nachweis von CEA sowohl im Gewebe als auch im Serum gering bis fehlend (29, 59, 74). Eine Kombinationsbestimmung von CA 125 und CEA zeigt eine Erhöhung beider Marker in maligner und benigner Zystenflüssigkeit und in Aszites gegenüber der Serumkonzentration bei denselben Patienten, außerdem liegt innerhalb der Zystenformen eine höhere Konzentration in der Flüssigkeit maligner Zysten vor. Die Höhe der Konzentration in der Zystenflüssigkeit korreliert nicht mit dem CEA-Serumlevel (29). Die Untersuchung von CEA-Serumkonzentrationen bei Borderlinetumoren des Ovars bestätigt die Nachweisbarkeit bei muzinösen Karzinomen und die fehlende Nachweisbarkeit bei serösen Karzinomen (74).

Somit könnte CEA ein Marker zur Differenzierung des histologischen Typs eines Ovarialkarzinoms darstellen.

Eine hohe Spezifität des CEA für muzinöse Karzinome konnte allerdings nicht immer bestätigt werden: eine weitere Studie fand lediglich bei 15% der Patientinnen mit muzinösem Karzinom eine Erhöhung des CEA im Serum (82). Auch in darauf folgenden Studien verlor die Bestimmung von CEA immer weiter an Bedeutung, da CA 19-9 (45) und auch CA 72-4 (82) im direkten Vergleich mit CEA eine höhere Spezifität für das muzinöse Karzinom aufweisen.

In unseren Serumbestimmungen von CEA konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen malignen und benignen Ovarialtumoren ermittelt werden. Die Mediane waren mit 0,7 ng/ml bei malignen und 1,0 ng/ml bei benignen auf fast identischem Niveau. Dieses Ergebnis ist vermutlich neben der allgemein geringen Spezifität und Sensitivität des Carcinoembryonalen Antigens auch auf die geringe Zahl an muzinösen Karzinomen in dieser Studie zurückzuführen (vgl. Abb. 3.1). Im untersuchten Patientinnengut existierte lediglich ein einziger Fall mit histologisch gesichertem muzinösen Ovarialkarzinom. Interessanterweise war im Serum dieser

Patientin der CEA-Wert mit 84 ng/ml stark erhöht. Von zwei weiteren Ausreißern konnte einer einem endometrioiden Karzinom zugeordnet werden (114 ng/ml), der andere wurde histologisch nicht näher klassifiziert (61,8 ng/ml). Anhand der geringen Fallzahl ist dieses Ergebnis nicht repräsentativ, bestätigt aber tendenziell die in der Literatur beschriebenen Erkenntnisse.

4.1.2 Sezernierte Tumormarker

4.1.2.1 Glycodelin

Seit der Beobachtung, dass Glycodelin neben den schon länger bekannten Synthesorten im Endometrium und Eileiter auch die Ovarien als Herkunftsort aufweist (39), wurde das Glykoprotein hinsichtlich seiner Bedeutung als Tumor- und Differenzierungsmarker bei Ovarialtumoren evaluiert (5, 31, 32, 54).

Glycodelin hat immunosuppressive Eigenschaften (7, 64), was sich auf die ovarielle Karzinogenese auswirken könnte, es ist vor allem in benignen und malignen serösen Tumoren des Ovars vermehrt zu finden (39). Die Konzentration von Glycodelin-A ist in Ovarialflüssigkeit maligner zystischer Tumoren signifikant höher als in Ovarialzystenflüssigkeit benigner Ovarialzysten (5). In derselben Studie wurden zudem signifikant erhöhte GdA-Serumkonzentrationen bei Patientinnen mit malignen Ovarialtumoren gefunden.

Dieses Ergebnis lässt sich mit unseren Bestimmungen nur zum Teil bestätigen. Die Resultate der vorliegenden Studie zeigten dass die Glycodelinkonzentration bei benignen Befunden signifikant höher war als bei Ovarialkarzinomen. Bei näherer Betrachtung und Berücksichtigung der Differenzierung innerhalb der benignen Befunde zu Retentionszysten und „echten“ benignen Tumoren erhielt man einen signifikanten Unterschied zwischen den Serumkonzentration bei malignen Ovarialtumoren (Mediane: 3,9 ng/ml GdO89 bzw. 9,2 ng/ml GdO90) und benignen Ovarialzysten (Mediane: 6 ng/ml GdO89 bzw. 17,3 ng/ml GdO90), $p=0,001$ GdO89 und $p=0,002$ GdO89.

Keinen signifikanten Unterschied gab es jedoch zwischen malignen Tumoren und „echten“ benignen Tumoren ($p=0,193$ für GdO89 bzw. $p=0,260$ für GdO90).

Signifikant war zudem auch der Unterschied zwischen benignen Zysten des Ovars und benignen Tumoren (Mediane: 3,4 ng/ml GdO89 bzw. 10,7 ng/ml GdO90), $p=0,031$ GdO89, $p=0,013$ GdO90.

Bei Patientinnen mit zystischen, aber benignen Erkrankungen des Ovars war somit ein deutlich erhöhter Serumspiegel an Glycodelin vorhanden. Dass es im Gegensatz zu Glycodelin-A nicht bei malignen Ovarialtumoren erhöht war, kann aktuell nicht abschließend beurteilt werden, möglicherweise spielt die Verwendung von Peptidantikörpern eine Rolle, da dieser von der Glykosylierung unabhängig ist.

Was dieses Ergebnis zu Glycodelin unterstreicht, ist das Resultat einer Studie zu Glycodelin im Zusammenhang mit dem Differenzierungsgrad des Ovarialkarzinoms. In dieser wurde deutlich, dass mit zunehmender Entdifferenzierung des malignen Ovarialtumors die Glycodelinkonzentration im Tumor sinkt (54).

Es ist somit durch die Bestimmung von Glycodelin im Serum keine zuverlässige Aussage zur Unterscheidung von benignen und malignen Tumoren des Ovars zu treffen, jedoch zur Differenzierung innerhalb benigner Raumforderungen im Bereich des Ovars könnte es dienlich sein.

4.1.2.2 hCG

Humanes Choriongonadotropin (hCG) und seine freie β -Kette (β -hCG) werden normalerweise in der Plazenta gebildet. Erhöhte β -hCG-Serumspiegel sind am häufigsten in der Schwangerschaft und bei Keimzelltumoren gefunden. Zu den β -hCG -produzierenden Tumoren gehört auch das Ovarialkarzinom (57, 58).

Auch in der Zystenflüssigkeit sowohl benigner als auch maligner Ovarialzysten ist β -hCG in hoher Konzentration nachweisbar, in malignen signifikant höher als in benignen (75). Der Nachweis von β -hCG kann demnach für die Differenzierung benigner und maligner Ovarialtumoren von großer Bedeutung sein. Des Weiteren findet eine Stimulation der hCG-Produktion in Zytotrophoblastenzellen durch Glycodelin-A in vitro statt (33).

Über die Bestimmung von hCG im Serum bezüglich dieser Fragestellung ist bislang noch wenig bekannt.

Der Level des hCG-Serumspiegels bei malignen Ovarialtumoren war in unseren Bestimmungen signifikant höher als bei allen benignen Befunden (Median maligner Befunde 3,6 milliU/ml, Median benigner Befund 0,1 milliU/ml, $p < 0,001$). Dies spricht für die Tatsache, dass hCG vermehrt in malignem Gewebe sezerniert, und womöglich auch in nachweisbarem Maße in die Blutzirkulation abgegeben wird. hCG könnte somit ein hilfreicher Marker in der Differenzierung zwischen benignen und malignen Tumoren des Ovars sein. Zur weiteren Bewertung dieses Resultats sind zusätzliche Bestimmungen der hCG-Serumkonzentration, insbesondere in Kombination mit weiteren Tumormarkern wie CA125, sinnvoll.

4.2 Korrelationen zwischen Tumormarkern, Kombinationsmöglichkeiten

Es hat sich oft erwiesen, dass Tumormarker zum größten Teil in ihrer Einzelbestimmung keine genügend große Aussagekraft zur Dignität eines Tumors haben. Daher werden sie überwiegend in der Tumornachsorge eingesetzt, um Therapieverlauf und die Möglichkeit eines Rezidivs zu überwachen. Um die Sensitivität und Spezifität von Tumormarkern zu steigern, wäre eine Möglichkeit, sie zu kombinieren und ihre Beweiskraft somit zu vergrößern.

So ergänzen sich CA 125 und CEA in der Aussage über die Serumspiegelerhöhung beim epithelialen Ovarialkarzinoms des serösen Typs (CA 125 erhöht) und des muzinösen Typs (CEA erhöht) (29). Auch CA 19-9 kann in Kombination mit CA 125 und weiteren Tumormarkern Aufschluss über die Art des Tumors erbringen (3, 18, 45). Die Empfehlung für diese Kombination wird jedoch nur für einen Einsatz im „follow up“ ausgesprochen. Trotz der Überlegenheit des CA 125 gegenüber allen mit ihm verglichenen Markern, welche sich vor allem durch seine höchste Organspezifität und Sensitivität auszeichnet, ist sein Einsatz zum Screening limitiert, da in bis zu 20% der Ovarialkarzinome kein CA125 exprimiert wird (66) und es diese Lücke zu füllen gilt.

In Zystenflüssigkeit maligner Ovarialtumoren und zum Teil auch im Serum dieser Patientinnen sind CA 125, Ca 15-3, CA 19-9, CEA, beta-hCG und Glycodelin-A in erhöhter Konzentration vorzufinden (5, 8, 75). Es liegt also nahe, einen

Zusammenhang zwischen den Markern zu vermuten, welchen man auch diagnostisch nutzen könnte.

4.2.1 Korrelationen mit CA 125

Interessant sind Korrelationen mit CA 125 vor allem aus dem Grund, dass sie sich an einem bereits etablierten Marker orientieren, dessen Sensitivitäts- und Spezifitätseigenschaften von weiteren Markern mindestens erfüllt, besser noch übertroffen werden sollten.

CA 125 korrelierte hochsignifikant mit den Muzinen CA 15-3 (Korrelationskoeffizient (=Kor) 0,42, $p < 0,001$), und CA 27.29 (Kor 0,34, $p < 0,001$). Dieser Zusammenhang ist wahrscheinlich durch ihre gemeinsame Herkunft von gescheddeten Muzin-Molekülen zu erklären. Somit kann ein gemeinsamer Anstieg der drei Marker für ein Vorhandensein eines epithelialen Ovarialtumors sprechen.

Außerdem korrelierte CA 125 signifikant mit hCG (Kor 0,32, $p = 0,023$). Dieser Zusammenhang ist neu und vereinbar mit den bisherigen Kenntnissen zu CA 125 und hCG. Dieser potentiellen Tumormarkerkombination ist in ihrer Aussagekraft noch weiter nachzugehen.

Eine negativ Korrelation lag zwischen CA 125 und GdO90 vor (Kor -0,23, $p = 0,014$). Bei steigenden CA 125-Werten bestünde somit ein Zusammenhang zu fallender Glycodelin Konzentration. Somit könnte eine kombinierte Bestimmung von CA 125 und Glycodelin (über den Peptidantikörper GdO90) für die Tumordiagnostik sinnvoll sein.

4.2.2 Korrelation der Muzine untereinander

CA 15-3 und CA 27.29 korrelierten hochsignifikant miteinander (Kor 0,85, $p < 0,001$). Dies unterstreicht die Tatsache, dass die Immunoassays beider Marker dasselbe MUC1-Antigen detektieren und somit eine Korrelation offensichtlich ist (43). CA 27.29 korrelierte nicht mit CA 19-9, während CA 15-3 mit CA 19-9 einen signifikanten linearen Zusammenhang zeigte (Kor 0,22, $p = 0,041$). Wie weit man diesen Zusammenhang diagnostisch nutzen kann, ist noch zu prüfen. Bisherige

kombinierte Bestimmungen von CA 15-3 und CA 19-9 in Serum und Zystenflüssigkeit hat noch keine Aussage zu einem Zusammenhang erbracht (75).

Zudem korrelierten sowohl CA 15-3 als auch CA 27.29 hochsignifikant mit PankoMab (CA15-3 Kor 0,28, $p=0,003$ bzw. CA 27.29 Kor 0,39, $p<0,001$). PankoMab wies in der Einzelbestimmung kein Differenzierungspotential bezüglich benignen und malignen Befunde auf. Obwohl PankoMab weniger „gsheddete“ MUC1 nachweist als Tumorständige (9) ist eine Korrelation mit den übrigen MUC1-Markern aufgrund der verwandten Epitopstrukturen zwar begründbar, dennoch muss dem Zusammenhang noch weiter nachgegangen werden.

4.2.3 Korrelation mit CEA

Mit dem carcinoembryonalen Antigen korrelierten CA 19-9 und PankoMab hochsignifikant (CA 19-9 Kor 0,37, $p<0,001$, PankoMab Kor 0,27, $p=0,005$). Sowohl CEA als auch CA 19-9 wurden schon vielfach in Kombinationsbestimmungen mit CA 125 bei Ovarialkarzinomen und Borderline-Ovarialtumoren hinzugezogen (3, 8, 18, 20, 29, 45, 59, 74, 82). Bei kombinierten Bestimmungen von CEA und CA 19-9 zeigte sich mehrfach, dass beide Tumormarker insbesondere bei muzinösen und auch endometroiden Ovarialkarzinomen, nicht dagegen bei serösen Ovarialkarzinomen zu finden sind. Somit kann angenommen werden, dass die Spezifität der beiden Marker sich ähnelt und in der Korrelation sichtbar wird. Seröse Ovarialkarzinome dagegen sind häufig mit einem hohen CA 125-Spiegel verbunden. Keiner der beiden Marker korreliert mit CA 125, was die These unterstreicht. Eine Kombination von CA 125, CA 19-9 und CEA könnte daher zur histologischen Einordnung eines malignen Tumors dienen, für eine Differenzierung zwischen maligne und benigne müssen allerdings noch weitere Faktoren miteinbezogen werden.

Die Korrelation von CEA mit PankoMab ist ein interessantes Resultat, welches mit erweiterter Kenntnis über PankoMab eine weiterführende Evaluation erfahren sollte.

4.2.4 Korrelation mit hCG

HCG korreliert auf signifikanter Ebene mit CA 125 (Korrelationskoeffizient 0,32, $p<0,023$), dieser Zusammenhang für das Ovarialkarzinom wurde bislang nicht beschrieben. Beide Serummarker können während der Schwangerschaft erhöht sein

(51), da wir jedoch in unserer Studie keine graviden Patientinnen eingeschlossen haben handelte es sich um die jeweiligen Serumspiegelerhöhung im Rahmen eines Ovarialtumors. Humanes Choriongonadotropin könnte demnach ein passender Tumormarker in Kombination mit CA 125 sein.

Ob hCG in der Kombinationsbestimmung die Sensitivität und Spezifität für eine eindeutige Differenzierung von Raumforderungen des Ovars erhöhen kann, bedarf nun weiterer Exploration.

4.2.5 Korrelationen mit Glycodelin

GdO89 korrelierte hochsignifikant mit GdO90 (Kor 0,43, $p < 0,001$). Da die beiden Peptidantikörper dasselbe Antigen detektieren sollen, ist dieses Resultat den Erwartungen entsprechend und kann rückwirkend als Kontrolle der Zuverlässigkeit des Immunoassays gedeutet werden.

GdO89 korreliert mit keinem weiteren Marker aus der Reihe der verwendeten Tumormarker.

Im Nachweis mit dem Antikörper GdO90 waren mehrere Korrelationen zu beobachten:

Mit CA 125 korrelierte GdO90 signifikant negativ (s. 4.2.1 Korrelationen mit CA 125). CA 27.29 korrelierte hochsignifikant mit GdO90 (Kor 0,22, $p = 0,009$). Möglicherweise ist dieser Zusammenhang Ausdruck einer vom Differenzierungsgrad des Tumors abhängigen Expression der MUC1 (CA 27.29) beziehungsweise MUC16 (CA 125).

Signifikant war außerdem der Zusammenhang mit CA 19-9 (Kor 0,22, $p = 0,039$), welcher vermutlich Ausdruck einer strukturellen Gemeinsamkeit zwischen Glycodelin und CA 19-9 ist, da Sialyl-Lewis-a (CA 19-9) eine Glykosylierungsform von Glycodelin darstellt (35).

4.3 Zusammenfassung und Ausblick dieser Arbeit

Der Einsatz von Tumormarkern in der Diagnostik maligner Ovarialtumoren ist ein wünschenswerter Fortschritt im klinischen Alltag der Gynäkologie. Insbesondere die eindeutige Differenzierung von benignen und malignen Raumforderungen am Ovar könnte vielen Patientinnen ein invasives Verfahren – in den meisten Fällen ein operatives Vorgehen – ersparen.

Die Etablierung neuer Tumormarker – neben dem schon länger etablierten, jedoch vorzugsweise in der Nachsorge eingesetztem Cancer Antigen 125 – gestaltet sich schwierig, aufgrund mangelnder Spezifität und Sensitivität.

In der vorliegenden Arbeit erprobten wir sowohl etablierte als auch neue Tumormarker mit der Motivation, neue Erkenntnisse über potentielle diagnostische Tumormarker zu erlangen.

Das Resultat ist die Affirmation der Überlegenheit des CA 125 gegenüber anderen Markern, allerdings konnten weiterführende Details zu den eingesetzten Markern ermittelt werden und eine Basis für darauf aufbauende, weiterführende Studien gebildet werden.

Insbesondere könnten die in der Korrelationsberechnung aufgefallenen Tumormarker erneut evaluiert werden.

Die kombinierte Bestimmung von CA 125 mit hCG und Glycodelin im Serum von Ovarialtumorpatientinnen könnte eine mögliche Differenzierung zwischen benignen und malignen Tumoren des Ovars erlauben.

Momentan kann auf invasive Methoden zur Befundsicherung nicht verzichtet werden, jedoch kann über den weiteren wissenschaftlichen Einsatz der aus dieser Studie hervorgegangenen Erkenntnisse Schritt für Schritt der Weg zu einem zuverlässigen Differenzierungsmarker für ovarielle Tumoren geebnet werden.

5. Literaturverzeichnis

1. Krebs in Deutschland, Häufigkeiten und Trends. Vol. (3. erweiterte, aktualisierte Ausgabe), 2002.
2. Todesursachenstatistik in Deutschland, Statistisches Bundesamt (1997, 1998, 1999, 2000). Metzler Poeschel, Stuttgart.
3. Ayhan A, Guven S, Guven ES, Kucukali T. Is there a correlation between tumor marker panel and tumor size and histopathology in well staged patients with borderline ovarian tumors? *Acta Obstet Gynecol Scand* 86 (4): 484-90, 2007.
4. Bast RC, Jr., Badgwell D, Lu Z, Marquez R, Rosen D, Liu J, Baggerly KA, Atkinson EN, Skates S, Zhang Z, Lokshin A, Menon U, Jacobs I, Lu K. New tumor markers: CA125 and beyond. *Int J Gynecol Cancer* 15 Suppl 3: 274-81, 2005.
5. Bischof A, Briese V, Richter DU, Bergemann C, Friese K, Jeschke U. Measurement of glycodelin A in fluids of benign ovarian cysts, borderline tumours and malignant ovarian cancer. *Anticancer Res* 25 (3A): 1639-44, 2005.
6. Bohn H, Kraus W, Winckler W. New soluble placental tissue proteins: their isolation, characterization, localization and quantification. *Placenta Suppl* 4: 67-81, 1982.
7. Bolton AE, Pockley AG, Clough KJ, Mowles EA, Stoker RJ, Westwood OM, Chapman MG. Identification of placental protein 14 as an immunosuppressive factor in human reproduction. *Lancet* 1 (8533): 593-5, 1987.
8. Cherchi PL, Capobianco G, Ambrosini G, Fadda GM, Piga MD, Ruiu G, Fattorini F, Dessole S. Intracystic evaluation of tumor markers in benign and malignant ovarian pathology. *Eur J Gynaecol Oncol* 23 (2): 163-5, 2002.
9. Danielczyk A, Stahn R, Faulstich D, Loffler A, Marten A, Karsten U, Goletz S. PankoMab: a potent new generation anti-tumour MUC1 antibody. *Cancer Immunol Immunother*, 2006.
10. Dell A, Morris HR, Easton RL, Panico M, Patankar M, Oehniger S, Koistinen R, Koistinen H, Seppala M, Clark GF. Structural analysis of the oligosaccharides derived from glycodelin, a human glycoprotein with potent immunosuppressive and contraceptive activities. *J Biol Chem* 270 (41): 24116-26, 1995.
11. Devine PL, Birrell GW, Whitehead RH, Harada H, Xing PX, McKenzie IF. Expression of MUC1 and MUC2 mucins by human tumor cell lines. *Tumour Biol* 13 (5-6): 268-77, 1992.
12. Devine PL, McGuckin MA, Ward BG. Circulating mucins as tumor markers in ovarian cancer (review). *Anticancer Res* 12 (3): 709-17, 1992.
13. Devine PL, McKenzie IF. Mucins: structure, function, and associations with malignancy. *Bioessays* 14 (9): 619-25, 1992.

14. Dietel M, Arps H, Holzel F, Viale G, Dell'Orto P, Kroger A, Niendorf A. Blood group substance, CEA, and lectins in ovarian tumors. *Cancer Detect Prev* 9 (5-6): 511-20, 1986.
15. Duffy MJ, Shering S, Sherry F, McDermott E, O'Higgins N. CA 15-3: a prognostic marker in breast cancer. *Int J Biol Markers* 15 (4): 330-3, 2000.
16. Engel J, Schmidt M, Schubert-Fritschle G, Tretter W, D H. Jahresbericht 1999 des klinischepidemiologischen Krebsregisters am Tumorzentrum München - Schwerpunkt: Gynäkologische Tumoren. Zuckschwerdt, München, 2000.
17. Engel J. HG, Schubert-Fritschle G. Epidemiologie maligner Ovarialtumoren. Munich: Tumorzentrum München, 2004.
18. Engelen MJ, de Bruijn HW, Hollema H, ten Hoor KA, Willemse PH, Aalders JG, van der Zee AG. Serum CA 125, carcinoembryonic antigen, and CA 19-9 as tumor markers in borderline ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 78 (1): 16-20, 2000.
19. Fletcher RH. Carcinoembryonic antigen. *Ann Intern Med* 104 (1): 66-73, 1986.
20. Gaetje R, Popp LW. Is differentiation of benign and malignant cystic adnexal masses possible by evaluation of cysts fluids with respect to color, cytology, steroid hormones, and tumor markers? *Acta Obstet Gynecol Scand* 73 (6): 502-7, 1994.
21. Gallup DG, Talledo E. Management of the adnexal mass in the 1990s. *South Med J* 90 (10): 972-81, 1997.
22. Gendler SJ, Spicer AP. Epithelial mucin genes. *Annu Rev Physiol* 57: 607-34, 1995.
23. Gion M, Mione R, Dittadi R, Griggio L, Munegato G, Valsecchi M, Del Maschio O, Bruscaignin G. Carcinoembryonic antigen, ferritin, tissue polypeptide antigen, and CA15/3 in breast cancer: relationship between carcinoma and normal breast tissue. *Int J Biol Markers* 1 (1): 33-8, 1986.
24. Gion M, Mione R, Leon AE, Dittadi R. Comparison of the diagnostic accuracy of CA27.29 and CA15.3 in primary breast cancer. *Clin Chem* 45 (5): 630-7, 1999.
25. Gold R, Freedman S. Demonstration of tumor specific antigens in human colonic carcinoma by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* (121): 439-462, 1965.
26. Gotlieb WH, Soriano D, Achiron R, Zalel Y, Davidson B, Kopolovic J, Novikov I, Ben-Baruch G. CA 125 measurement and ultrasonography in borderline tumors of the ovary. *Am J Obstet Gynecol* 183 (3): 541-6, 2000.
27. Gullino PM. Natural history of breast cancer. Progression from hyperplasia to neoplasia as predicted by angiogenesis. *Cancer* 39 (6 Suppl): 2697-703, 1977.
28. Hanisch FG, Uhlenbruck G, Peter-Katalinic J, Egge H. Structural studies on oncofetal carbohydrate antigens (Ca 19-9, Ca 50, and Ca 125) carried by O-linked sialyloligosaccharides on human amniotic mucins. *Carbohydr Res* 178: 29-47, 1988.

29. Harlozinska A, Bar JK, Gawlikowski W, Richter R, Cislo M. CA 125 and carcinoembryonic antigen levels in cyst fluid, ascites and serum of patients with ovarian neoplasms. *Ann Chir Gynaecol* 80 (4): 368-75, 1991.
30. Hilkens J, Buijs F, Hilgers J, Hageman P, Calafat J, Sonnenberg A, van der Valk M. Monoclonal antibodies against human milk-fat globule membranes detecting differentiation antigens of the mammary gland and its tumors. *Int J Cancer* 34 (2): 197-206, 1984.
31. Horowitz IR, Cho C, Song M, Flowers LC, Santanam N, Parthasarathy S, Ramachandran S. Increased glycodelin levels in gynecological malignancies. *Int J Gynecol Cancer* 11 (3): 173-9, 2001.
32. Jeschke U, Bischof A, Speer R, Briese V, Richter DU, Bergemann C, Mylonas I, Shabani N, Friese K, Karsten U. Development of monoclonal and polyclonal antibodies and an ELISA for the determination of glycodelin in human serum, amniotic fluid and cystic fluid of benign and malignant ovarian tumors. *Anticancer Res* 25 (3A): 1581-9, 2005.
33. Jeschke U, Karsten U, Reimer T, Richter DU, Bergemann C, Briese V, Mylonas I, Friese K. Stimulation of hCG protein and mRNA in first trimester villous cytotrophoblast cells in vitro by glycodelin A. *J Perinat Med* 33 (3): 212-8, 2005.
34. Jeschke U, Mylonas I, Kunert-Keil C, Dazert E, Shabani N, Werling M, Kuhn C, Janni W, Gerber B, Friese K. Expression of glycodelin protein and mRNA in human ductal breast cancer carcinoma in situ, invasive ductal carcinomas, their lymph node and distant metastases, and ductal carcinomas with recurrence. *Oncol Rep* 13 (3): 413-9, 2005.
35. Jeschke U, Wang X, Briese V, Friese K, Stahn R. Glycodelin and amniotic fluid transferrin as inhibitors of E-selectin-mediated cell adhesion. *Histochem Cell Biol* 119 (5): 345-54, 2003.
36. Julkunen M. Human decidua synthesizes placental protein 14 (PP14) in vitro. *Acta Endocrinol (Copenh)* 112 (2): 271-7, 1986.
37. Julkunen M, Wahlstrom T, Seppala M. Human fallopian tube contains placental protein 14. *Am J Obstet Gynecol* 154 (5): 1076-9, 1986.
38. Kamarainen M, Halttunen M, Koistinen R, von Boguslawsky K, von Smitten K, Andersson LC, Seppala M. Expression of glycodelin in human breast and breast cancer. *Int J Cancer* 83 (6): 738-42, 1999.
39. Kamarainen M, Leivo I, Koistinen R, Julkunen M, Karvonen U, Rutanen EM, Seppala M. Normal human ovary and ovarian tumors express glycodelin, a glycoprotein with immunosuppressive and contraceptive properties. *Am J Pathol* 148 (5): 1435-43, 1996.

40. Kamarainen M, Riittinen L, Seppala M, Palotie A, Andersson LC. Progesterone-associated endometrial protein--a constitutive marker of human erythroid precursors. *Blood* 84 (2): 467-73, 1994.
41. Karseladze AI. [WHO histological classification of ovarian tumors. Geneva, 1999 (R.E.Scully, L.H.Sobin). *Arkh Patol Suppl*: 1-64, 2005.
42. Kim HJ, Kim MH, Myung SJ, Lim BC, Park ET, Yoo KS, Seo DW, Lee SK, Min YI. A new strategy for the application of CA19-9 in the differentiation of pancreaticobiliary cancer: analysis using a receiver operating characteristic curve. *Am J Gastroenterol* 94 (7): 1941-6, 1999.
43. Klee GG, Schreiber WE. MUC1 gene-derived glycoprotein assays for monitoring breast cancer (CA 15-3, CA 27.29, BR): are they measuring the same antigen? *Arch Pathol Lab Med* 128 (10): 1131-5, 2004.
44. Koistinen H, Koistinen R, Dell A, Morris HR, Easton RL, Patankar MS, Oehninger S, Clark GF, Seppala M. Glycodelin from seminal plasma is a differentially glycosylated form of contraceptive glycodelin-A. *Mol Hum Reprod* 2 (10): 759-65, 1996.
45. Kudoh K, Kikuchi Y, Kita T, Tode T, Takano M, Hirata J, Mano Y, Yamamoto K, Nagata I. Preoperative determination of several serum tumor markers in patients with primary epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Obstet Invest* 47 (1): 52-7, 1999.
46. Kufe D, Inghirami G, Abe M, Hayes D, Justi-Wheeler H, Schlom J. Differential reactivity of a novel monoclonal antibody (DF3) with human malignant versus benign breast tumors. *Hybridoma* 3 (3): 223-32, 1984.
47. Laird SM, Hill CJ, Warren MA, Tuckerman EM, Li TC. The production of placental protein 14 by human uterine tubal epithelial cells in culture. *Hum Reprod* 10 (6): 1346-51, 1995.
48. Lamerz R, et al. Tumour Markers in Germ Cell Cancer: EGTM Recommendations. *Anticancer Res* (19): 2795-2798, 1999.
49. Lamerz R, Stoetzer OJ, Mezger J, Brandt A, Darsow M, Wilmanns W. Value of human chorionic gonadotropin compared to CEA in discriminating benign from malignant effusions. *Anticancer Res* 19 (4A): 2421-5, 1999.
50. Lavin PT, Knapp RC, Malkasian G, Whitney CW, Berek JC, Bast RC, Jr. CA 125 for the monitoring of ovarian carcinoma during primary therapy. *Obstet Gynecol* 69 (2): 223-7, 1987.
51. Leiserowitz GS. Managing ovarian masses during pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 61 (7): 463-70, 2006.
52. Malkasian GD, Jr., Knapp RC, Lavin PT, Zurawski VR, Jr., Podratz KC, Stanhope CR, Mortel R, Berek JS, Bast RC, Jr., Ritts RE. Preoperative evaluation of serum CA 125 levels in premenopausal and postmenopausal patients with pelvic masses:

- discrimination of benign from malignant disease. *Am J Obstet Gynecol* 159 (2): 341-6, 1988.
53. Mandelin E, Koistinen H, Koistinen R, Affandi B, Seppala M. Levonorgestrel-releasing intrauterine device-wearing women express contraceptive glycodelin A in endometrium during midcycle: another contraceptive mechanism? *Hum Reprod* 12 (12): 2671-5, 1997.
 54. Mandelin E, Lassus H, Seppala M, Leminen A, Gustafsson JA, Cheng G, Butzow R, Koistinen R. Glycodelin in ovarian serous carcinoma: association with differentiation and survival. *Cancer Res* 63 (19): 6258-64, 2003.
 55. Milojkovic M, Hrgovic Z, Hrgovic I, Jonat W, Maass N, Bukovic D. Significance of CA 125 serum level in discrimination between benign and malignant masses in the pelvis. *Arch Gynecol Obstet* 269 (3): 176-80, 2004.
 56. Morris HR, Dell A, Easton RL, Panico M, Koistinen H, Koistinen R, Oehninger S, Patankar MS, Seppala M, Clark GF. Gender-specific glycosylation of human glycodelin affects its contraceptive activity. *J Biol Chem* 271 (50): 32159-67, 1996.
 57. Nowak-Markwitz E, Jankowska A, Andrusiewicz M, Szczerba A. Expression of beta-human chorionic gonadotropin in ovarian cancer tissue. *Eur J Gynaecol Oncol* 25 (4): 465-9, 2004.
 58. Nowak-Markwitz E, Jankowska A, Szczerba A, Andrusiewicz M, Warchol JB. Localization of human chorionic gonadotropin beta subunit transcripts in ovarian cancer tissue. *Folia Histochem Cytobiol* 42 (2): 123-6, 2004.
 59. Oishi T, Maruo T, Iwasaki M, Mochizuki M. [Relationship between serum levels and immunohistological tissue levels of CA 125 and CEA in epithelial ovarian cancers: its implications for tumor cell type specificity]. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 38 (9): 1595-604, 1986.
 60. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 94 (2): 153-6, 2001.
 61. Poddar AS, Kim JG, Gill KP, Bates BN, Santanam N, Rock JA, Murphy AA, Parthasarathy S. Generation and characterization of a polyclonal anti-peptide antibody to human glycodelin. *Fertil Steril* 69 (3): 543-8, 1998.
 62. Price MR, Rye PD, Petrakou E, Murray A, Brady K, Imai S, Haga S, Kiyozuka Y, Schol D, Meulenbroek MF, Snijdwint FG, von Mensdorff-Pouilly S, Verstraeten RA, Kenemans P, Blockzijl A, Nilsson K, Nilsson O, Reddish M, Suresh MR, Koganty RR, Fortier S, Baronc L, Berg A, Longenecker MB, Hilgers J, et al. Summary report on the ISOBM TD-4 Workshop: analysis of 56 monoclonal antibodies against the MUC1 mucin. San Diego, Calif., November 17-23, 1996. *Tumour Biol* 19 Suppl 1: 1-20, 1998.

63. Price MR, Sekowski M, Tendler SJ. Purification of anti-epithelial mucin monoclonal antibodies by epitope affinity chromatography. *J Immunol Methods* 139 (1): 83-90, 1991.
64. Rachmilewitz J, Riely GJ, Tykocinski ML. Placental protein 14 functions as a direct T-cell inhibitor. *Cell Immunol* 191 (1): 26-33, 1999.
65. Riittinen L, Julkunen M, Seppala M, Koistinen R, Huhtala ML. Purification and characterization of endometrial protein PP14 from mid-trimester amniotic fluid. *Clin Chim Acta* 184 (1): 19-29, 1989.
66. Rosen DG, Wang L, Atkinson JN, Yu Y, Lu KH, Diamandis EP, Hellstrom I, Mok SC, Liu J, Bast RC, Jr. Potential markers that complement expression of CA125 in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 99 (2): 267-77, 2005.
67. Said JW, Nash G, Tepper G, Banks-Schlegel S. Keratin proteins and carcinoembryonic antigen in lung carcinoma: an immunoperoxidase study of fifty-four cases, with ultrastructural correlations. *Hum Pathol* 14 (1): 70-6, 1983.
68. Saridogan E, Djahanbakhch O, Kervancioglu ME, Kahyaoglu F, Shrimanker K, Grudzinskas JG. Placental protein 14 production by human Fallopian tube epithelial cells in vitro. *Hum Reprod* 12 (7): 1500-7, 1997.
69. Schelling M. AC, Rutke S. Früherkennung und Diagnostik maligner Ovarialtumoren. Munich: Tumorzentrum München, 2004.
70. Schutter EM, Davelaar EM, van Kamp GJ, Verstraeten RA, Kenemans P, Verheijen RH. The differential diagnostic potential of a panel of tumor markers (CA 125, CA 15-3, and CA 72-4 antigens) in patients with a pelvic mass. *Am J Obstet Gynecol* 187 (2): 385-92, 2002.
71. Seppala M, Taylor RN, Koistinen H, Koistinen R, Milgrom E. Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. *Endocr Rev* 23 (4): 401-30, 2002.
72. Snijdewint FG, von Mensdorff-Pouilly S, Karuntu-Wanamarta AH, Verstraeten AA, van Zanten-Przybysz I, Hummel P, Nijman HW, Kenemans P, Hilgers J. Cellular and humoral immune responses to MUC1 mucin and tandem-repeat peptides in ovarian cancer patients and controls. *Cancer Immunol Immunother* 48 (1): 47-55, 1999.
73. Steinberg W. The clinical utility of the CA 19-9 tumor-associated antigen. *Am J Gastroenterol* 85 (4): 350-5, 1990.
74. Tamakoshi K, Kikkawa F, Shibata K, Tomoda K, Obata NH, Wakahara F, Tokuhashi Y, Ishikawa H, Kawai M, Tomoda Y. Clinical value of CA125, CA19-9, CEA, CA72-4, and TPA in borderline ovarian tumor. *Gynecol Oncol* 62 (1): 67-72, 1996.
75. Tavares Murta BM, Cunha Fde Q, Miranda R, Adad SJ, Murta EF. Differential tumor microenvironment in human ovarian cystic tumors. *Tumori* 90 (5): 491-7, 2004.

76. Taylor-Papadimitriou J, Epenetos AA. Exploiting altered glycosylation patterns in cancer: progress and challenges in diagnosis and therapy. *Trends Biotechnol* 12 (6): 227-33, 1994.
77. Tondini C, Hayes DF, Gelman R, Henderson IC, Kufe DW. Comparison of CA15-3 and carcinoembryonic antigen in monitoring the clinical course of patients with metastatic breast cancer. *Cancer Res* 48 (14): 4107-12, 1988.
78. Tuxen MK, Soletormos G, Dombernowsky P. Serum tumor marker CA 125 for monitoring ovarian cancer during follow-up. *Scand J Clin Lab Invest* 62 (3): 177-88, 2002.
79. Ugorski M, Laskowska A. Sialyl Lewis(a): a tumor-associated carbohydrate antigen involved in adhesion and metastatic potential of cancer cells. *Acta Biochim Pol* 49 (2): 303-11, 2002.
80. Yin BW, Dnistrian A, Lloyd KO. Ovarian cancer antigen CA125 is encoded by the MUC16 mucin gene. *Int J Cancer* 98 (5): 737-40, 2002.
81. Yin BW, Lloyd KO. Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen: identification as a new mucin, MUC16. *J Biol Chem* 276 (29): 27371-5, 2001.
82. Zakrzewska I, Borawska R, Poznanski J, Mackowiak B. Significance of some tumor markers in differential diagnosis of ovarian tumor. *Rocz Akad Med Bialymst* 44: 235-43, 1999.

6. Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Begriff
CA 125	Cancer Antigen 125
CA 15-3	Cancer Antigen 15-3
CA 27.29	Cancer Antigen 27.29
CA 19-9	Cancer Antigen 19-9
CEA	Carcinoembryonales Antigen
hCG, β -hCG	Humanes Choriongonadotropin, beta-Kette des humanen Choriongonadotropin
TA-MUC1	Antigen, welches durch den Antikörper PankoMab (Glycotope) detektiert wird
Gd	Glycodelin
GdO89, GdO90	Peptidantikörper zur Detektion von Glycodelin (Santa Cruz) s12289 und s12290
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
PP14	Placental Protein 14 (Glycodelin)
Tab.	Tabelle
Vgl.	Vergleiche
s.	Siehe
kDa	Kilo Dalton
Abb.	Abbildung
U, mIU	Units, milliUnits = internationale Einheit
ng	Nanogramm
ml	Milliliter
Ak	Antikörper
ELISA	Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay
EIA	Enzym-Immunoassay
MUC, MUC1	Muzin, Muzin der Gruppe 1

6.2 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1.1: Altersverteilung bei Diagnosestellung maligner Ovarialtumoren.....	6
Abbildung 2.1: Sandwich-ELISA Aufbauschema.....	22
Abbildung 2.2: EIA (Enzym-Immuno-Assay, kompetitiv) Aufbauschema.....	33
Abbildung 2.3: Normalwerte im Serum von PankoMab, Darstellung im Boxplot.....	34
Abbildung 3.1: Statistische Verteilung des histologischen Typs der malignen Befunde	36
Abbildung 3.2: Häufigkeit der zwei Untergruppen der benignen Befunde.....	37
Abbildung 3.3: BoxPlot Diagramm der Ca125 Serumkonzentration.....	38
Abbildung 3.4: BoxPlot Diagramm der Ca15-3 Serumkonzentration.....	39
Abbildung 3.5: BoxPlot Diagramm der Ca27.29 Serumkonzentration.....	40
Abbildung 3.6: BoxPlot Diagramm der Ca19-9 Serumkonzentration.....	41
Abbildung 3.7: BoxPlot Diagramm der PankoMab Serumkonzentration.....	42
Abbildung 3.8: BoxPlot Diagramm der CEA Serumkonzentration.....	43
Abbildung 3.9: BoxPlot Diagramm der hCG Serumkonzentration.....	44
Abbildung 3.10: BoxPlot Diagramm der GdO89 Serumkonzentration.....	45
Abbildung 3.11: BoxPlot Diagramm der GdO90 Serumkonzentration.....	46
Abbildung 3.12: BoxPlot Diagramm der GdO89 Serumkonzentration bei Differenzierung zwischen Retentionszysten und „echten“ benignen Tumoren.....	48
Abbildung 3.13: BoxPlot Diagramm der GdO90 Serumkonzentration bei Differenzierung zwischen Retentionszysten und „echten“ benignen Tumoren	48
Abbildung 3.14: BoxPlot Diagramm zur vergleichenden Darstellung der Serumkonzentrationen der signifikanten Marker.....	49

6.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Risikofaktoren des Ovarialkarzinoms.....	6
Tabelle 1.2: Übersicht über die Tumormarker und ihre Eigenschaften.....	19
Tabelle 2.1: Referenzwerte CA125 im IMMULITE 2000 OM-MA.....	23
Tabelle 2.2: IMMULITE 2000 OM-MA Tabellen und Grafiken.....	24
Tabelle 2.3: Referenzwerte CA 15-3 im IMMULITE 2000 BR-MA.....	25
Tabelle 2.4: IMMULITE 2000 BR-MA Tabellen und Grafiken.....	26
Tabelle 2.5: IMMULITE 2000 GI-MA Tabellen und Grafiken.....	28
Tabelle 2.6: Referenzwerte CEA im IMMULITE CEA	29
Tabelle 2.7: Referenzwerte CEA im IMMULITE CEA	29
Tabelle 2.8: IMMULITE 2000 CEA Tabellen und Grafiken.....	30
Tabelle 2.9: IMMULITE 2000 hCG Tabellen und Grafiken.....	31
Tabelle 2.10: Serentestung - Standardabweichung von GdO89.....	35
Tabelle 2.11: Serentestung – Standardabweichung von GdO90.....	35
Tabelle 3.1: Korrelation Spearman's rho aller Marker.....	52

6.4 Bezugsquellenverzeichnis

Die Analysekits für die ELISA Bestimmungen mit IMMULITE[®] 2000 wurden von der Firma DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland, bezogen.

Folgende ELISA-Kits wurden verwendet:

IMMULITE 2000[®] OM-MA, IMMULITE 2000[®] BR-MA, IMMULITE 2000[®] GI-MA,
IMMULITE 2000[®] HCG, IMMULITE 2000[®] CEA

<http://www.dpc-biermann.de>

Das ST AIA-PACK 27.29 wurde von der Firma TOSOH BIOSCIENCE N.V., Stuttgart, Deutschland, bezogen.

<http://www.tosohbioscience.com>

Bezug des PankoMab-Kits durch die Firma Glycotope GmbH , Berlin, Deutschland.

<http://www.glycotope.de>

Die Glycodelin Antikörper sc-12289 und sc-12290 wurden von SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY Inc. bezogen.

<http://www.scbt.com>

Danksagung

Mein ganz herzlicher Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. Udo Jeschke, Leiter des wissenschaftlichen Labors der I. Frauenklinik (LMU München) für die Überlassung des Themas, seine geduldige Betreuung und seine konstruktiven Kritiken.

Weiter möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Ioannis Mylonas, wissenschaftlicher Mitarbeiter der I. Frauenklinik (LMU München), für die gute Kooperation und Mithilfe bedanken.

Ganz besonders möchte ich mich bei den Medizinischen Technischen Assistentinnen des wissenschaftlichen Labors der I. Frauenklinik (LMU München): Irmie Wiest, Christina Kuhn, Susi Kunze und Sandra Schulze für die zahlreichen Ratschläge und Hilfestellungen bedanken.

Bei Frau Elvira Mittermeier bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit zur Ermittlung der Patientendaten.

Schließlich danke ich Herrn Prof. Dr. K. Friese, Direktor der Universitätsfrauenklinik (LMU München), für seine Unterstützung.

Curriculum Vitae

Name, Vorname: Schumacher, Anamur Lan

Geburtsdatum: 15.05.1981

Geburtsort: Heidelberg

Ausbildung:

1987 - 1991 Grundschule Vöhrenbach /Schwarzwald-Baar-Kreis

1991 – 2000 Max-Planck-Gymnasium Schorndorf, Abitur 07/2000

2001 - 2007 Studium der Humanmedizin

2001 Studienbeginn der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

03/2003 erfolgreiche Teilnahme an der „Ärztlichen Vorprüfung“

2003 - 2007 Studium der Humanmedizin an der LMU München

08/2004 Clinical Elective in Innerer Medizin am Kent & Canterbury Hospital,
Canterbury, England

08-10/2005 Clinical Elective in der Anästhesie des Kilimanjaro Christian Medical Center,
Moshi, Tanzania

08/2006 – 07/2007 Praktisches Jahr

08-11/2006 Clinical Elective in Chirurgie, Tygerberg Hospital der University
of Stellenbosch, Südafrika

12/2006 – 04/2007 Unterassistentin in der Inneren Medizin am
Kantonsspital Luzern, Luzern, Schweiz

04/2007 – 07/2007 Praktisches Jahr in der Hals-Nasen-Ohren Klinik im
Universitätsklinikum Großhadern, München

10-11/2007 Erfolgreiche Teilnahme am „Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung“

Sprachkenntnisse

Deutsch Muttersprache

Englisch flüssig in Wort und Schrift

Französisch Grundkenntnisse

München, den 20.11.2007

Anamur Lan Schumacher

Selbständigkeitserklärung

Ich erkläre, dass ich diese eingereichte Dissertation selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

München, den 18.10.2007

Anamur Lan Schumacher