

Evidenzbericht: Proteomanalysen

Proteomanalysen zur Diagnose des Prostatakarzinoms unter besonderer Berücksichtigung der Proteomanalyse aus dem Urin mittels Kapillarelektrophorese gekoppelt mit Massenspektrometrie (CE-MS)

Version 1.00 – Januar 2010

© 2010 Ärztliches Zentrum für Qualität in der Medizin



Impressum

Auftraggeber

Deutsche Gesellschaft für Urologie e. V.

Titel

Evidenzbericht: „Proteomanalysen zur Diagnose des Prostatakarzinoms unter besonderer Berücksichtigung der Proteomanalyse aus dem Urin mittels Kapillarelektrophorese kombiniert mit Massenspektrometrie (CE-MS)“

Autoren/Bearbeitung

- Dr. Monika Nothacker, MPH, Ärztliches Zentrum für Qualität in der Medizin, Berlin
- Dana Rütters, Informationswissenschaftlerin, Ärztliches Zentrum für Qualität in der Medizin, Berlin
- Dipl.-Soz.Päd. Marga Cox, Ärztliches Zentrum für Qualität in der Medizin, Berlin
- Dr. Susanne Weinbrenner, MPH, Ärztliches Zentrum für Qualität in der Medizin, Berlin

Anschrift des Auftragsgebers

Deutsche Gesellschaft für Urologie e. V.
Uerdinger Str. 64
40474 Düsseldorf

Telefon: 0211 516096-0

Telefax: 0211 516096-60

E-Mail: info@urologenportal.de

Internet: <http://www.urologenportal.de>

Anschrift des Herausgebers

Ärztliches Zentrum für Qualität in der Medizin (ÄZQ)
Wegelystraße 3/Herbert-Lewin-Platz
10623 Berlin

Tel 030 4005-2500

E-Mail: mail@azq.de

Internet: <http://www.azq.de>

Zusammenfassung

1. Hintergrund und Auftrag

Zur Diagnose des Prostatakarzinoms wird die Bestimmung des Prostata-spezifischen Antigens (PSA), die digital-rektale Untersuchung (DRU) und die Biopsie herangezogen. Die diagnostischen Verfahren weisen insgesamt eine ungenügende diagnostische Sicherheit auf. Insbesondere zur Vermeidung unnötiger Biopsien bei erhöhtem PSA werden deshalb prostatakarzinomspezifische Biomarker erforscht. Zur Diagnosesicherung bei erhöhtem PSA-Wert wird bereits ein Urin-test kommerziell als Selbstzahlerleistung angeboten. Bei diesem wird zur Abschätzung des Karzinomrisikos eine Proteomanalyse mittels Kapillarelektrophorese gekoppelt mit einer besonderen Technik der Massenspektrometrie (Time of flight – Massenspektrometrie nach Elektrosprayionisierung = ESI-TOF-MS) durchgeführt.

Die Deutsche Gesellschaft für Urologie (DGU) beauftragte das Ärztliche Zentrum für Qualität in der Medizin (ÄZQ) vor diesem Hintergrund, eine systematische Literaturrecherche zu Proteomanalysen für die Diagnosesicherung des Prostatakarzinoms durchzuführen und aufgrund der Ergebnisse zu bewerten, ob die Urinproteomanalyse mit der genannten Technik einen Gewinn an diagnostischer Sicherheit in Bezug auf das Prostatakarzinom erbringt und ob die Technik für eine Anwendung in der klinischen Routine ausreichend validiert ist.

2. Fragestellung

Folgende Frage wurde generiert:

- Bietet die Proteomanalyse aus dem Urin mittels Kapillarelektrophorese mit gekoppelter ESI-TOF-Massenspektrometrie eine ausreichend validierte und verbesserte diagnostische Sicherheit für die Diagnose eines Prostatakarzinoms im Vergleich zur derzeitigen Diagnostik mit PSA-Wert-Bestimmung/DRU gefolgt von Biopsie?

Da aufgrund der orientierenden Recherche nur sehr wenige Studien zu Proteomanalysen aus dem Urin und der weitaus größere Anteil der Studien zu Proteinanalysen aus dem Serum zu erwarten war, wurde folgende weitere Frage entwickelt:

- Bietet die Proteomanalyse aus dem Urin mittels Kapillarelektrophorese mit gekoppelter ESI-TOF-Massenspektrometrie im Vergleich zu Proteomanalysen aus dem Serum eine bessere diagnostische Sicherheit?

3. Vorgehensweise

Es erfolgte eine systematische Literaturrecherche in Medline (PubMed) und den Datenbanken der Cochrane Library. Nach definierten Ein- und Ausschlusskriterien wurden nach Sichtung der Abstracts Volltexte methodisch bewertet und in Evidenztabelle extrahiert. Die Ergebnisse wurden dargestellt und methodisch und inhaltlich diskutiert.

4. Ergebnisse

Es wurden sechs Studien zu Proteomanalysen aus dem Urin für die Diagnose des Prostatakarzinoms identifiziert. Nur eine dieser Studie war als Validierungsstudie einzustufen. In dieser Studie wurde die Technik der Kapillarelektrophorese gekoppelt mit Massenspektrometrie eingesetzt. Die Sensitivität und Spezifität lag bei 73 % und 60 %, durch Anwendung eines nicht evaluierten Nomogramms konnte eine Sensitivität von 90 % und eine Spezifität von 61 % erreicht werden. Die Studienergebnisse sind aufgrund 20 % nicht auswertbarer Proben und eines nicht optimalen Referenzstandards nicht als ausreichend gesichert zu betrachten. Explorative Studien zu Urinproteomanalysen sowie zwei von 13 Studien zu Serumproteomanalysen (jeweils $n > 100$) mit Anwendung an einem vom Testset unabhängigen Kollektiv zeigten eine höhere Sensitivität und Spezifität.

5. Fazit

Die Urinproteomanalyse mittels Kapillarelektrophorese gekoppelt mit Massenspektrometrie ist nicht als ausreichend gesichert für den Einsatz in der klinischen Routine bzw. als Selbstzahlerleistung einzustufen. Bei einer weiteren erforderlichen Validierung mit ausreichender Patientenzahl und optimalem Referenzstandard ist ein Vergleich mit Verfahren der Urin- oder Serumproteomanalyse zu erwägen, für die – ebenfalls noch nicht ausreichend validiert – bessere Testgüteparameter vorliegen. Dabei sollte in einem kontrollierten Design geprüft werden, ob insbesondere die Anzahl unnötiger Biopsien durch den Einsatz eines zusätzlichen Tests im Vergleich zum jetzigen Standard der Diagnostik gesenkt werden kann.

Inhaltsverzeichnis

Impressum	1
Zusammenfassung	2
1. Hintergrund und Auftrag.....	2
2. Fragestellung	2
3. Vorgehensweise.....	2
4. Ergebnisse	3
5. Fazit	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	7
1. Hintergrund	8
1. Hintergrund	8
1.1 Diagnoseverfahren des Prostatakarzinoms	8
1.2 Proteomanalysen	9
1.2.1 Techniken der Proteomanalyse	9
1.3 Klinische Anwendung von Proteomanalysen beim Prostatakarzinom	12
1.4 Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Urologie.....	12
2. Fragestellung	13
3. Methodik	14
3.1 Einschluss- und Ausschlusskriterien.....	14
3.2 Literaturrecherche: Datenbanken und Suchstrategien.....	14
3.2.1 Leitlinien	15
3.3 Zielgrößen.....	15
3.4 Bewertung der Evidenz	15
4. Ergebnisse	16
4.1 Ergebnisse der Literaturrecherche.....	16
4.1.1 Recherche in den Datenbanken der Cochrane Library.....	16
4.1.2 Recherche in den Datenbanken Medline (PubMed)	16
4.2 Aufbereitete Evidenz	17
4.2.1 Empfehlungen der Referenz-Leitlinien.....	17
4.2.2 Systematischer Review	17
4.3 Evidenz aus Einzelstudien	18
4.3.1 Studien- und Publikationsqualität.....	18
4.3.2 Inhaltliche Ergebnisse	19
4.3.3 Serumproteomanalysen zur Diagnose des Prostatakarzinoms.....	22
4.4 Diskussion.....	22
4.4.1 Methodische Diskussion.....	22

4.4.2 Inhaltliche Diskussion	23
4.5 Fazit	24
5. Evidenztabelle	25
5.1 Eingeschlossene Studien	25
5.2 Ausgeschlossene Studien	38
Literatur	42
Anhang	49
Oxford - Levels of Evidence (March 2009)	49

Abkürzungsverzeichnis

2D-SDS-PAGE	zweidimensionale Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese
2D-PAGE	zweidimensionale Polyacrylamidgelelektrophorese
BNH	Benigne Noduläre Hyperplasie
BPH	Benigne Prostata Hyperplasie
CE	Kapillarelektrophorese
Cu	Kupfer
DRU	Digital-Rektale Untersuchung
ESI	Elektrospray-Ionisierung
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
IMAC	Immobilized Metal ion Affinity Chromatography (Chip bei der SELDI-Technik)
KI	Konfidenzintervall
m/z	Mass-to-charge-Ratio (Masse zu Ladungsverhältnis ionisierter Proteine bei der Massenspektrometrie)
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation
MS	Massenspektrometrie
NPW	Negativer prädiktiver Wert
PCa	Prostatakarzinom
PIN	Prostatic Intraepithelial Neoplasie
PPW	Positiver prädiktiver Wert
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
ROC	Receiver-Operator-Curve
SELDI	Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization
TOF	Time-of Flight (Analysetechnik der Massenspektrometrie)
WCX2	Weak Cation Exchange (Chip bei der SELDI-Technik)

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ergebnisse der systematischen Literaturrecherche in PubMed	16
Tabelle 2: Systematischer Review	25
Tabelle 3: Primärliteratur zu Proteomanalysen aus Urin	28
Tabelle 4: Primärliteratur zu Proteomanalysen aus Serum	33
Tabelle 5: Ausgeschlossene Reviews	38
Tabelle 6: Ausgeschlossene Volltexte	39

1. Hintergrund

1.1 Diagnoseverfahren des Prostatakarzinoms

Zur Diagnose des Prostatakarzinoms werden die Bestimmung des PSA- (Prostata-spezifisches Antigen-) Wertes aus dem Serum, die digital-rektale Untersuchung und die Biopsie herangezogen.

Das Prostata-spezifische Antigen ist nicht karzinomspezifisch. Es kann sowohl bei benignen als auch bei malignen Gewebeveränderungen erhöht sein. Für den PSA-Wert gilt derzeit in Deutschland ein Cut-off-Wert von 3,9 ng/ml. Liegt der Wert bei Erstbestimmung höher, wird eine Biopsie empfohlen ([1], S. 23). In einer Metaanalyse aus Screeningstudien bis 1999 wurden mit diesem Trennwert eine gepoolte Sensitivität von 72,1 % (66-100 %) und eine gepoolte Spezifität von 93,2 % (63-100 %) für die PSA-Bestimmung erreicht. Die Ergebnisse zeigen, dass bei einem nicht unbedeutenden Anteil der asymptomatischen Patienten mit einem PSA-Wert < 4 ng/ml – studienabhängig bis zu 34 % – ein Prostatakarzinom nicht erkannt wurde [2].

Durch einen niedrigeren PSA-Grenzwert für eine Biopsie kann eine höhere Sensitivität erreicht werden. Dadurch verringert sich jedoch die Spezifität. Ein systematischer Review von 2006 aus Studien an nicht gescreenten Patienten, bei denen zum Teil ein altersadaptierter niedrigerer Grenzwert angewendet wurde, ergab eine Sensitivität von 79-100 % und eine Spezifität von lediglich 6-66 % [3]. Die klinische Relevanz der früheren Diagnosestellung des generell langsam wachsenden Prostatakarzinoms ist unklar ([1] siehe Abschnitt 3.1 S. 22 und 5.2.2 S. 58).

Zur Verbesserung der Spezifität werden u. a. die Anstiegsgeschwindigkeit des PSA-Werts oder das Verhältnis von freiem zu gesamtem PSA (fPSA/T-PSA-Ratio) herangezogen (z. B. [4; 5]).

Die alleinige digital-rektale Untersuchung (DRU) als Screeningtest weist im Vergleich zum PSA-Wert eine deutlich niedrigere Rate der Karzinomdetektion auf. Ergebnisse aus Metaanalysen zeigen eine gepoolte Sensitivität von 53,2 % [2] bzw. 59 % [6] und eine gepoolte Spezifität von 83,6 % [2] bzw. 94 % [6]. Es existieren unterschiedliche Kriterien für Malignität bei der DRU. Dies trägt zu den variierenden Ergebnissen bei.

Die Kombination aus PSA-Wert-Messung und DRU erhöht die Spezifität der Prostatakarzinomerkenung ([1], S. 35f).

Die Testgüte der zur histologischen Diagnosesicherung durchgeführten Stanzbiopsien hängt maßgeblich von der Anzahl der entnommenen Biopsien und der Erfahrung des Untersuchers ab. Empfohlen wird die Entnahme von zehn- bis zwölf Proben unter transrektaler sonographischer Kontrolle ([1], S. 34). Für die ultraschall-gesteuerte Biopsie werden in einem systematischen Review aus zehn Studien eine stark variable Sensitivität von 35-96 % und eine ebenso breit streuende Spezifität von 23-82 % [7] angegeben.

Insgesamt ergeben sich bisher eine ungenügende Sensitivität und Spezifität für die Diagnose des Prostatakarzinoms. Diese Tatsache bedingt das Forschungsinteresse

an prostataspezifischen Biomarkern, die wenig invasiv mit einer höheren diagnostischen Sicherheit als bislang den Nachweis eines Prostatakarzinoms erbringen und so dazu beitragen **können**, unnötige Biopsien zu vermeiden.

1.2 Proteomanalysen

Der Begriff des „Proteoms“ wurde Mitte der 1990er Jahre durch den australischen Wissenschaftler Marc Wilkins geprägt [8]. „Proteom“ bezeichnet das gesamte kodierte Proteinäquivalent eines Genoms und kann sich auf die gleichzeitig exprimierte Proteine von Zellen, Geweben, Körperflüssigkeiten oder Organismen beziehen. Neben ubiquitären Proteinen der Zellarchitektur werden jeweils auch spezifische Proteine produziert. Im Vergleich zu Genomen weisen Proteome eine sehr viel höhere Komplexität und Veränderbarkeit auf. Beim Menschen beträgt die Anzahl der Proteine mit über 500.000 mehr als das Zehnfache der Gene (ca. 40.000) [9].

Das Proteom enthält die jeweils aktuell exprimierte Proteine und kann von einer Vielzahl von Parametern beeinflusst werden.

1.2.1 Techniken der Proteomanalyse

Die spezifischen Untersuchungstechniken für Proteomanalysen werden als „Proteomics“ bezeichnet. Mithilfe dieser Techniken werden die komplexen Proteome vereinfacht, häufige ubiquitär vorkommende Proteine entfernt und die verbliebenen Subproteome analysiert. Für die im vorliegenden Bericht vorrangig zu untersuchende Methode der Proteomanalyse wird Urin analysiert. Dafür wird eine besondere Form der Elektrophorese, die Kapillarelektrophorese (CE), angewendet und direkt mit einer Technik der Massenspektrometrie (MS) gekoppelt, der Elektrosprayionisierung-Time of Flight-Massenspektrometrie (= ESI-TOF-Massenspektrometrie).

Im Folgenden werden die beiden Methoden erläutert.

a) Elektrophorese

Die „klassische“ Trenntechnik für Peptide ist die zweidimensionale Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (2-SDS-PAGE) [10; 11]. Sie erlaubt eine Trennung in bis zu ca. 10.000 Komponenten in einem Gel. Dies entspricht in etwa der Proteinzahl einfacher Zellen. Die Methode wurde durch die Anwendung eines immobilisierten pH-Gradienten im Sinne der Reproduzierbarkeit verbessert [12].

Die Elektrophorese zur Auftrennung von Proteinen kann statt auf Basis eines Gels bei kleinen Volumina auch mittels einer Kapillare erfolgen. Bei der Kapillarelektrophorese (CE) wird das Analysat mit Druck in eine Kapillare eingebracht und mittels einer Elektrolytlösung oder eines elektrischen Feldes getrennt. Es wird eine geringere Bandbreite der Protein-Peaks als bei der Gelelektrophorese erzielt. Die Sensitivität für den Proteinnachweis ist bei beiden Techniken vergleichbar.

Die Proteinauftrennung kann auch unter Anwendung von – hier nicht erläuterten – chromatographischen Verfahren durchgeführt werden.

b) Massenspektrometrie

Die Analytik der Massenspektrometrie beruht auf der Bestimmung der Molekülmasse freier Ionen im Hochvakuum. Dazu wird die zu untersuchende Substanz in die Gasphase überführt und ionisiert. Die ionisierten Teilchen werden in einem elektrischen Feld beschleunigt. Das Ergebnis der Messung ist das Massenspektrum, das durch die relative Häufigkeit der Ionen und ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis bestimmt wird. Bei der „Time of flight“ Analyse (TOF) wird die Flugzeit der beschleunigten Teile bis zum Auftreffen auf einen Detektor gemessen. Diese korreliert mit der Größe der Moleküle [13].

Die für die Proteomanalytik eingesetzte besondere Technik der Massenspektrometrie ist die MALDI (= Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation)-Technik [14; 15]. Dabei wird das Analysat mit einer Matrix auf einem metallischen Träger kokristallisiert, d. h. fest verbunden. Zur Ionisierung wird ein Laserstrahl verwendet, der die Matrix explosionsartig verdampft und die mitgerissenen Analysate ionisiert.

Bei der SELDI (= Surface-enhanced laser desorption/ionization)-TOF-Technik [16] – einer Weiterentwicklung des MALDI-Verfahrens – wird anstatt eines metallischen Probeträgers ein Chip verwendet, der „spots“ mit chromatographisch aktiven Oberflächen aufweist. Dabei binden nur Proteine aus der aufgetragenen Probe, die den Oberflächeneigenschaften der „spots“ entsprechen, d. h. nicht interessierende Proteine oder andere störende Substanzen können entfernt werden.

Eine weitere Form der Ionisierung ist die Elektrospray-Ionisierung (ESI). Diese besteht in der Dispersion einer Flüssigkeit in viele kleine geladene Teilchen mithilfe eines elektrischen Feldes. Für den kommerziell vorliegenden Test wird diese Methode eingesetzt.

Die genannten Techniken setzen voraus, dass eine bestimmte Zellzahl zur Analyse vorhanden ist. Eine Weiterentwicklung, die diese Limitierung überwindet, ist das MALDI-Imaging, eine Form der IMS (=imaging mass spectrometry). Diese Untersuchung basiert auf der „single cell detection“ und wird an einem Gefrierschnitt durchgeführt [17]. Die Messung wird dabei mit geographischen Details der Probe (die zweidimensional erfasst wird), bzw. mit der Ortsauflösung der erhobenen Daten verknüpft. Diese Methode wird im Rahmen des Reviews nicht untersucht, da sie eine invasive Diagnostik (Biopsie) voraussetzt.

1.3 Klinische Anwendung von Proteomanalysen beim Prostatakarzinom

Ein wichtiger Zweig der Proteomforschung ist die Charakterisierung von Proteomveränderungen, die durch Krankheiten hervorgerufen werden. Dabei werden neben Autoimmun- und anderen chronischen Krankheiten auch maligne Tumore erforscht. Proteomanalysen für maligne Tumoren werden zu verschiedenen klinischen Fragestellungen durchgeführt, v.a. Diagnose, Prognose und Ansprechen auf spezifische Therapien. Dies trifft auch für das Prostatakarzinom zu.

Im folgenden Bericht interessiert ausschließlich die Proteomanalyse für die Primärdiagnose eines Prostatakarzinoms. Diese diagnostische Untersuchung wird in Form der Urinanalyse mittels Kapillarelektrophorese und ESI-TOF-Massenspektrometrie in Deutschland bereits kommerziell – als Selbstzahlerleistung – angeboten.

1.4 Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Urologie

Die Deutsche Gesellschaft für Urologie (DGU) beauftragte das Ärztliche Zentrum für Qualität in der Medizin (ÄZQ), einen systematischen Review zu Proteomanalysen für die Diagnose des Prostatakarzinoms durchzuführen. Es sollte geprüft werden, ob der Einsatz der Urinproteomanalyse mittels Kapillarelektrophorese gekoppelt mit ESI-TOF-Massenspektrometrie eine Verbesserung der diagnostischen Sicherheit im Vergleich zu PSA-Bestimmung/DRU gefolgt von Biopsie bietet, und ob das Verfahren ausreichend validiert ist, um klinisch in der Routine angewendet zu werden.

2. Fragestellung

Die folgende Fragestellung soll anhand der systematischen Literaturrecherche beantwortet werden:

- Bietet die Proteomanalyse aus dem Urin mittels Kapillarelektrophorese mit gekoppelter ESI-TOF-Massenspektrometrie eine ausreichend validierte und verbesserte diagnostische Sicherheit für die Diagnose eines Prostatakarzinoms im Vergleich zur derzeitigen Diagnostik mit PSA-Wert-Bestimmung/DRU gefolgt von Biopsie?

Da aufgrund der orientierenden Recherche nur sehr wenige Studien zu Proteomanalysen aus dem Urin und der weitaus größere Anteil der Studien zu Proteinanalysen aus dem Serum zu erwarten war, wurde folgende weitere Frage entwickelt:

- Bietet die Proteomanalyse aus dem Urin mittels Kapillarelektrophorese mit gekoppelter ESI-TOF-Massenspektrometrie im Vergleich zu Proteomanalysen aus dem Serum eine bessere diagnostische Sicherheit?

Proteomanalysen aus Gefrierschnitten von Biopsien und/oder Prostatektomiepräparaten wurden nicht in die Analyse einbezogen, da die primäre Zielrichtung der oben genannten Urinproteomanalyse die Vermeidung unnötiger Biopsien ist.

3. Methodik

3.1 Einschluss- und Ausschlusskriterien

Es wurden prospektiv folgende Einschluss- und Ausschlusskriterien festgelegt:

a) *Einschlusskriterien*

- Studienkollektiv: Männer mit V. a. Prostatakarzinom oder Männer mit neudiagnostiziertem Prostatakarzinom sowie Männer mit benignen Prostataveränderungen in der „Testgruppe“;
- Studientypen: RCT, Kohortenstudie, Fall-Kontrollstudie;
- Studien mit der Intervention: Proteomanalysen aus dem Urin (unabhängig von der Fallzahl, es sollten alle verfügbaren Studien erfasst werden)
- Studien mit der (Vergleichs-)intervention: Proteomanalysen aus dem Serum mit n= mind. 100;
- Sprachen: Englisch, Deutsch.

b) *Ausschlusskriterien*

- Studienkollektiv: Patienten mit Rezidiv oder neu aufgetretenen Fernmetastasen eines Prostatakarzinoms;
- Studien mit Proteomanalysen aus Serum: Anzahl untersuchter Proben insgesamt kleiner als 100;
- bei Proteomanalysen aus Serum: fehlende Angaben zu Sensitivität und Spezifität;
- Proteinidentifikation durch Microarrays oder aus Gefrierschnitten;
- Studientypen: Einzelfallberichte;
- Doppelpublikationen (Dubletten).

3.2 Literaturrecherche: Datenbanken und Suchstrategien

Folgende Datenbanken wurden für die systematische Suche genutzt:

- PubMed (Internetportal der National Library of Medicine) (<http://www.pubmed.org>);
- Datenbanken der Cochrane Library (<http://www.thecochranelibrary.com>).

Folgende Suchstrategie wurde für alle Datenbanken gewählt:

- (proteomic OR proteomics OR proteome) AND prostat* AND (cancer OR neoplasm).

Des Weiteren wurde in PubMed mit dem Suchbegriff “DiaPat” (Handelsname des CE-MS-Urintests) recherchiert.

3.2.1 Leitlinien

Folgende, auch für die S3-Leitlinie zum Prostatakarzinom berücksichtigte Referenz-Leitlinien wurden nach Aussagen bezüglich Proteomanalysen zur Diagnostik des Prostatakarzinoms durchgesehen:

- NICE-Leitlinie 2008 [18];
- EBRO-Leitlinie 2007 [19];
- EAU-Leitlinie 2009 [20].

3.3 Zielgrößen

Zielgrößen waren die Testgüteparameter für diagnostische Tests:

- Sensitivität, Spezifität und – soweit angegeben – positiver und negativer prädiktiver Wert.

3.4 Bewertung der Evidenz

Die vorliegenden Studien wurden mit dem Evidenzgraduierungssystem nach Oxford für diagnostische Tests bewertet [21] (siehe Anhang).

4. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Literaturrecherche

4.1.1 Recherche in den Datenbanken der Cochrane Library

Die Suche in den Datenbanken der Cochrane Library am 16.12.2009 ergab zwei Treffer, davon war ein Treffer nicht relevant für das Thema und der andere Treffer war eine Dublette.

4.1.2 Recherche in den Datenbanken Medline (PubMed)

Für Medline (PubMed) wurde nach Erhalt der Treffer ein Abstractscreening durchgeführt. Interessierende Abstracts wurden im Volltext bestellt. Der Einschluss von Volltexten erfolgte nach den prospektiv festgelegten Ein- und Ausschlusskriterien.

Weiterhin wurden Studien aus Referenzlisten der eingesehenen Volltexte geprüft.

Tabelle 1: Ergebnisse der systematischen Literaturrecherche in PubMed

Recherche in Medline (PubMed) am 16.12.2009	
PubMed-Ergebnisse gesamt	n=427
Nach Screening der Abstracts geprüfte Volltexte	n=59
Reviews	n=19
davon systematische Reviews (eingeschlossen)	n=1
Einzelstudien	n=40
Studien aus Handsuche	n=1
Studien zu Proteomanalysen aus Urin	n=6
Studien zu Proteomanalysen aus Serum ($n \geq 100$)	n=13

4.2 Aufbereitete Evidenz

4.2.1 Empfehlungen der Referenz-Leitlinien

In den Empfehlungen der aktuellen Referenz-Leitlinien der S3-Leitlinie zum Prostatakarzinom werden Proteomanalysen nicht erwähnt. Die EAU-Leitlinie 2009 thematisiert lediglich, dass neben der Bestimmung des PSA-Wertes weitere Biomarker in der Erprobung sind [20].

4.2.2 Systematischer Review

Zu Proteomanalysen des Prostatakarzinoms wurde ein systematischer Review von Downes et al., 2006 mit Recherche bis 2/2006 identifiziert [22]. Dieser gibt einen Überblick über prostatakarzinomspezifische Biomarker aus dem Urin.

Methodische Bewertung

Die Autoren geben bei spezifischer Suche keine weiteren Einschlusskriterien für die 32 identifizierten Studien an. Die limitierte Aussagekraft der meisten Studien aufgrund kleiner Fallzahlen wird herausgestellt, ebenso die Tatsache, dass zu jedem Marker nur eine oder wenige Studien gefunden wurden. Die histologische Sicherung – zum Teil nur Analyse aufgrund des Gleason-Scores – wird bemängelt.

Der Review wurde mit dem *Evidenzgrad 3a(-)-4* nach Oxford bewertet, da er Fall-Kontroll- oder explorative Kohortenstudien mit methodischen Mängeln enthält. Das Minus wurde aufgrund der klinischen Heterogenität der Studien vergeben.

Inhaltliche Ergebnisse

In diesem Review wurde aufgrund der systematischen Recherche die Erstpublikation zu Urinproteomanalysen von 2004 mit sehr kleiner Fallzahl identifiziert [23]. Die Studie weist aus Morgenurin nach Prostatamassage mittels Gelelektrophorese (2D-PAGE = zweidimensionale Polyamidgelelektrophorese) und Massenspektrometrie nach der MALDI-Technik ein singuläres Protein in vier von sechs Prostatakarzinomproben, nicht aber in den sechs Proben benignen Veränderungen nach.

In den weiteren im Review eingeschlossenen Studien werden insgesamt vier DNA-, drei mRNA- und zehn Einzelproteinmarker aus Urinproben analysiert. Keiner der Marker wird als ausreichend prospektiv validiert beschrieben. Auf eine Darstellung der Testgüteparameter der Marker wird deshalb verzichtet.

Der Review macht deutlich, dass es zahlreiche Forschungsaktivitäten für prostataspezifische Biomarker aus Urin mit unterschiedlichen „Targets“ gibt. Proteomanalysen aus dem Urin waren bis Anfang 2006 kaum erforscht.

4.3 Evidenz aus Einzelstudien

Zu Proteomanalysen aus dem Urin wurden – unter Einschluss der Studie von Rehman et al., 2004 [23], die Bestandteil des Reviews von Downes et al., 2006 [22] ist, insgesamt sechs Studien identifiziert. In drei der Studien wurde die Technik der Kapillarelektrophorese gekoppelt mit ESI-TOF-Massenspektrometrie angewendet [24], [25], [26].

Darüber hinaus wurden 13 Studien zu Proteomanalysen aus dem Serum mit Proben von mehr als 100 Patienten identifiziert (siehe Evidenztabelle).

Im Folgenden werden die Studien zu Proteomanalysen aus dem Urin methodisch bewertet und detailliert analysiert. Die Studien zu Serumproteomanalysen werden dagegen nur daraufhin untersucht, ob sie bessere Testgüteparameter im Vergleich zu den Urinproteomanalysen aufweisen und prospektiv validiert sind. Dies wird in einem eigenen Abschnitt besprochen.

4.3.1 Studien- und Publikationsqualität

Studienqualität – methodische Bewertung

Bei diagnostischen Studien wird zwischen explorativen Studien und Validierungsstudien unterschieden. Diagnostische Validierungsstudien mit hoher methodischer Güte werden prospektiv mit konsekutiver Probengewinnung und verblindeter Beurteilung der Testergebnisse durchgeführt. Für ein sicheres Ergebnis sind zur Validierung vom Testkollektiv unterschiedliche Proben erforderlich.

Bei der hier verwendeten Oxford-Klassifikation wird eine Abwertung des Evidenzgrads vorgenommen, wenn es sich bei den Studienkollektiven nicht um eine konsekutive Patientengewinnung handelt. Da für die Urinproteomanalysen nicht ausgeschlossen werden konnte, dass dieses Kriterium eine Rolle für die Testgüte spielt, wurden die Studien entsprechend bewertet.

Die explorativen Studien, die bekannte Fälle und Kontrollen analysierten, wurden der Oxford-Klassifikation entsprechend als Fall-Kontrollstudien bewertet.

Von den sechs identifizierten Studien zu Urinproteomanalysen handelt es sich bei zwei um explorative Fall-Kontrollstudien (Rehman et al., 2004 und Theodorescu et al., 2005 [23; 24]). Diese wurden mit dem *Evidenzgrad 4* bewertet. Bei einer dritten Studie, Okamoto et al., 2009 [27] wird durch Zufallsziehung der Proben eine Art Validierung durchgeführt. Weil die Bestimmung der Testgüteparameter am gleichen Kollektiv und lediglich an ca. 20 % der Proben durchgeführt wurde, hat die Studie ebenfalls explorativen Charakter und wurde als Fall-Kontrollstudie mit *Evidenzgrad 4* bewertet.

Bei weiteren zwei Studien [25; 28] (M'Koma et al., 2007 und Theodorescu et al., 2008) liegt neben der Erstcharakterisierung eines prostataspezifischen Proteinmusters an einem Testset auch eine Überprüfung an einem gesonderten Kollektiv vor. Dabei führen lediglich Theodorescu et al., 2008 [25] eine prospektive Erhebung

in einem multizentrischen Setting durch. Auch eine verblindete Beurteilung des Validierungssets ist nur bei Theodorescu et al., 2008 [25] beschrieben. Da jedoch keine konsequente Probengewinnung dargestellt wird und nur 80 % der Studienpopulation ausgewertet werden kann, wurde die Studie von Theodorescu et al., 2008 [25] mit einem *Evidenzgrad 3b (+)* bewertet.

Bei der Studie von M'Koma et al., 2007 [28] wird nach Charakterisierung eines MS-Proteomprofils eine Validierung an einem zweiten Studienkollektiv mit Probengewinnung während radikaler Prostatektomie aufgrund eines Prostatakarzinoms und mit Proben von gesunden Männern vorgenommen. Das definitive prostata-spezifische MS-Profil wird dabei verändert. Die Studie wurde mit 4 bewertet.

Die verbleibende Studie [26] (Oberpenning et al., 2007) ist eine Evaluierungsstudie für den Test von Theodorescu et al., 2008 [25]. Aufgrund der geringen Fallzahl sind die Ergebnisse bei sehr weiten Konfidenzintervallen als sehr unsicher zu betrachten. Die Studie wurde mit *Evidenzgrad 3b* bewertet.

Vergleich der Intervention mit einem Referenzstandard

In den sechs Studien zu Proteomanalysen aus dem Urin wird als durchgängig angewendeter Referenzstandard jeweils die Histologie aus der Biopsie angegeben. Dies ist zwar ein unabhängiger Referenzstandard, aufgrund der beschriebenen stark variierenden Testgüteparameter der Biopsie ist jedoch die Histologie aus dem Prostektomiepräparat als Goldstandard anzusehen. Bei abwartendem Vorgehen oder benignem Biopsieergebnis ist eine adäquate Nachverfolgung mit Rebiopsie als bester Referenzstandard anzusehen, wie dies bei Rehman et al., 2004 [23] angegeben wird. Der beste Referenzstandard wird in keiner der Studien durchgängig angewendet. Theodorescu et al., 2008 [25] berichten, dass bei vier Patienten des Testsets, deren Biopsie als benigne beurteilt wurden, in der Folge ein Karzinom diagnostiziert wurde. Eine vollständige Nachbeobachtung der als benigne klassifizierten Patienten wird jedoch nicht beschrieben.

Publikationsqualität

Die Publikationsqualität der Studien zu Urinproteomanalysen ist in Bezug auf die Beschreibung der angewendeten Verfahren generell als zufriedenstellend zu werten. In Bezug auf die Testergebnisse fehlen bei Theodorescu et al., 2005 [24], M'Koma et al., 2007 [28] und Okamoto et al., 2009 [27] Konfidenzintervalle. Bei M'Koma et al., 2007 [28] fehlen darüber hinaus Angaben zu Sensitivität/Spezifität für das zweite untersuchte Kollektiv. Prädiktive Werte sind nur bei Theodorescu et al., 2008 und bei Oberpenning et al., 2008 angegeben.

4.3.2 Inhaltliche Ergebnisse

a) Proteomanalysen aus dem Urin

- Probengewinnung

Bei vier der sechs Studien wurde für die Urinprobe erster Morgenurin gewonnen, zum Teil nach Prostatamassage, weil davon ausgegangen wird, dass das

prostatakarzinomspezifische Proteinprofil wesentlich von Prostatasekret bestimmt wird. M'Koma et al., 2007 [28] und Theodorescu et al., 2005 [24] gaben nicht explizit die Entnahme von Morgenurin an. Dennoch erhielten sie in Bezug auf Benignität und Malignität diskriminierende MS-Proteinprofile.

- Analysetechniken

In den Studien kamen unterschiedliche „Proteomics“ zur Analyse des Urins zur Anwendung. Neben der Kapillarelektrophorese gekoppelt mit ESI-TOF-Massenspektrometrie [24], [25], [26] wurde die MALDI-TOF-Technik mit vorgeschalteter Proteomaufreinigung durch 2D-PAGE (= zweidimensionale Polyamidgelelektrophorese) [23] bzw. C8/C18-Resin [28] und die SELDI-Technik mit verschiedenen Chips eingesetzt [27].

- Proteomanalyse: Prostatakarzinomspezifische MS-Peak-Profile

Die relevanten prostatakarzinomspezifischen Profile sind in den Studien jeweils unterschiedlich. Okamoto et al., 2009 [27] fanden 72 Einzelmarker (Peaks von Proteinen) mit jeweils statistisch signifikanter verminderter oder erhöhter Expression, die sie in einer hierarchischen Clusterung anwenden.

In der Pilotstudie von Theodorescu et al., 2005 [24], bei der für die Patienten mit Prostatakarzinom ein mittlerer PSA-Wert von über 24 ng/ml vorlag, wurde ein diskriminierendes Analyseprofil von 10- bis 15 Peaks identifiziert. Dieses konnte in der Studie von 2008 jedoch nicht zur erfolgreichen Unterscheidung von benignen und malignen Fällen eingesetzt werden.

Theodorescu et al., 2008 [25] identifizierten unter Entnahme von Morgenurin zwölf distinkte prostatakarzinomspezifische Peaks bei Patienten mit einem PSA-Wert von 2-20 ng/ml. Oberpenning et al., 2009 [27] validieren das Profil von Theodorescu et al., 2008 [25].

Eine Besonderheit bei Theodorescu et al., 2008 [25] ist die Vorauswahl der Proben anhand eines „informative peptid panel“. Dazu wurden MS-Peak-Profile vom Mittelstrahlurin gesunder weiblicher und männlicher Probanden mit den Profilen aus dem Testset abgeglichen und häufig vorkommende Peptide aus weiblichem Urin, bzw. nicht für Morgenurin spezifische Peptide für die weitere Analyse ausgeschlossen. Weist die Probe keine informative Peptidsignatur aus, kann sie nicht weiter analysiert werden. Proben dieser Art machen im Studienkollektiv 20 % (n=51/264) aus.

Bei der Validierungsstudie von Oberpenning et al., 2008 [26] konnten 11 % der Proben aufgrund der nichtrepräsentativen Proteinzusammensetzung nicht ausgewertet werden.

M'Koma et al. charakterisieren nach Abgleich der Profile des ersten und des zweiten Studienkollektivs definitiv vier Peaks als prostatakarzinomspezifisch (2x Überexpression, 2x verminderte Expression).

Rehman et al., 2004 [23] identifizierten fünf spezifische Proteine bei einem Teil der Prostatakarzinompatienten, davon war nur eines in der Mehrheit der Proben von Prostatakarzinompatienten enthalten.

Testgüteparameter Urinproteomanalysen

- Sensitivität und Spezifität

Die Testgüteparameter der Studien beziehen sich auf die ausgewerteten Proben. Rehman et al., 2004 [23] (n=12) geben aufgrund der geringen Zahl keine Testgüteparameter für die Unterscheidung Prostatakarzinom – benigne Hyperplasie an (die Sensitivität lag bei $4/6 = 66,7\%$). In der Pilotstudie von Theodorescu et al., 2005 [24] (n= 88) wird eine hohe Sensitivität (92 %) und Spezifität (96 %) zur Unterscheidung von Prostatakarzinom versus benignen Veränderungen und gesunden Kontrollen angegeben. Diese konnte jedoch in der Folgestudie nicht reproduziert werden. Aus diesem Grund wurde – nun mit Entnahme von Morgenurin - erneut ein prostatakarzinomspezifisches MS-Peak-Profil identifiziert.

Theodorescu et al., 2008 [25] (n=264) geben unter Verwendung des „neuen“ MS-Peak-Profiles bei einer PSA-Erhöhung bis 20 ng/ml eine Sensitivität von 73 % [64-81] und eine Spezifität von 60 % [49-69] für die korrekte Diagnose eines Prostatakarzinoms (versus „no evidence of disease“) an.

Bei Verwendung eines Nomogrammes zur Abschätzung der Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines Prostatakarzinoms unter Einbeziehung des Alters, des Grads der Übereinstimmung mit dem repräsentativen Peptidprofil und des Anteils an freiem PSA können die Werte von Theodorescu et al., 2008 [25] auf 90 % Sensitivität bzw. 61 % Spezifität angehoben werden. Konfidenzintervalle sind hierfür nicht angegeben. Dabei ist zu beachten, dass das Nomogramm an weniger als der Hälfte der Daten aus der Studienpopulation erhoben wurde.

Die Validierungsstudie von Oberpenning et al., 2008 [26] (n=18) ergibt für das von Theodorescu et al., 2008 [25] beschriebene Verfahren an einer kleinen Zahl von Patienten mit PSA-Werten von 2-10,8 ng/ml lediglich eine Sensitivität von 62,5 % [95 % KI 24,5-91,5] und eine Spezifität von 37,5 % [95 % KI 8,5-75,5].

Okamoto et al., 2009 [27] erreichen an 24 (von insgesamt über 100) Proben eine Sensitivität von 91,7 % und eine Spezifität für den Nachweis eines Prostatakarzinoms von 83,3 %. Bei der Erstcharakterisierung zeigte sich bei Mehrfachanalyse der Proben allerdings, dass die MS-Proteinprofile sehr variabel waren. Die Testgüteparameter stammen aus der ersten dieser Messungen.

M'Koma et al., 2007 [28] geben – bei einem medianen PSA von 5,5 ng/ml – für die Diskriminierung zwischen Prostatakarzinom und benigner Hyperplasie eine Sensitivität von 71,2 % und eine Spezifität von 67,4 % an. Für die Unterscheidung zwischen Prostatakarzinom und High-Grade-PIN wird jeweils eine Sensitivität und Spezifität von ca. 80 % angegeben. Für das zweite Studienkollektiv weist der Test von M'Koma et al., 2007 [28] eine diagnostische Gesamtgenauigkeit von 80 % auf, Sensitivität und Spezifität sind hier nicht angegeben.

- Prädiktive Werte

Positive und negative prädiktive Werte sind nur bei Theodorescu et al., 2008 [25] und bei Oberpenning et al., 2008 [26] angegeben. Während Theodorescu et al. einen PPW von 0,69 und einen NPW von 0,64 bei einer Karzinomprävalenz von 55,3 % erreichten, erzielten Oberpenning et al. einen PPW und NPW von jeweils lediglich 0,5 bei 50% Karzinomen.

4.3.3 Serumproteomanalysen zur Diagnose des Prostatakarzinoms

Die Sensitivität von zehn Studien, in denen aus Serum prostatakarzinomtypische MS-Peak-Profile mit SELDI-Verfahren erzielt wurden, liegt stark variierend zwischen 45 % und 100 %, im Median bei 92 %. Die Spezifität der Analysen liegt mit ebenfalls breiter Streuung bei 46,7- bis 100 %, im Median bei 85 %.

Zu beachten sind zwei weitere Studien, beide von McLerran et al., 2008 [29; 30] die retrospektiv in zeitlich unterschiedlich erhobenen Proben keine statistisch signifikante Validierung eines prostatakarzinomspezifischen Proteinprofils zeigen konnten.

Die einzige Studie mit MALDI-Technik von Mobley et al., 2004 [31] weist eine Sensitivität von 94,1 % und eine Spezifität von 99 % auf.

In lediglich zwei der Studien mit guter Sensitivität und Spezifität für die Detektion eines Prostatakarzinoms [32], [33] wurde das an einem Trainingsset identifizierte Proteinprofil an davon unabhängigen Proben validiert.

Petricoin et al. [32], die für die Validierung n=266 Proben nutzten, geben eine Sensitivität von 95 % [95%KI 82-99] und Spezifität von 78 % [95%KI 72-83] für die richtige Erkennung eines Prostatakarzinoms bei Proben asymptomatischer Patienten vorwiegend aus einer PSA-Screening-Studie an.

Ornstein et al. [33] geben (ohne Konfidenzintervalle) für die Validierung an 91 Proben eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 67 % zur richtigen Diagnose eines Prostatakarzinoms an Patienten mit PSA 2,5-15 ng/ml und/oder auffälliger DRU an.

4.4 Diskussion

Für den vorliegenden Evidenzbericht wurde systematisch nach Studien zu Proteomanalysen zur Diagnose des Prostatakarzinoms gesucht. Im Fokus des Interesses standen dabei Proteomprofilbestimmungen aus dem Urin.

4.4.1 Methodische Diskussion

In vier der insgesamt sechs identifizierten Studien zu Urinproteomanalysen wurden Testgüteparameter aufgrund eines zuvor identifizierten prostatakarzinom-spezifischen MS-Proteinprofils bestimmt. Lediglich die Studie von Theodorescu et al., 2008 [25] kann als Validierungsstudie betrachtet werden. Im Hinblick auf die Ergebnisse der Validierungsstudie von Theodorescu et al., 2008 sind die

angegebenen Konfidenzintervalle für Sensitivität und Spezifität für die Detektion des Prostatakarzinoms recht breit (17 % und 24 %). Aufgrund des nicht durchgängig angewendeten optimalen Referenzstandards bleibt eine weitere Unsicherheit in der korrekten Diagnosestellung durch die Biopsie. Theodorescu et al., 2008 [25] geben selbst im Diskussionsteil ihres Manuskripts an, weitere Nachbeobachtungen bei Patienten mit benignen Biopsieresultaten seien erforderlich, um falsch-negative Fälle zu identifizieren. Da auch das Testset nicht auf den bestmöglichen Referenzstandards aufbaut, besteht diese Unsicherheit ebenso für das charakterisierte MS-Profil aus der Proteomanalyse. Methodisch problematisch - und deshalb in der Ergebnisdarstellung nicht berücksichtigt - erscheint die Korrektur der Testgüte nach Angaben von falsch-negativ Raten der Biopsie aus der Literatur.

Weiterhin werden 20 % nicht auswertbare Proben angegeben. Aus der Studie geht nicht hervor, ob ein nochmaliges, korrektes Abgeben der Urinprobe dieses Problem lösen kann. Zur Verbesserung der Testgüte generierten Theodorescu et al., 2008 [25] anhand multivariater Analysen ein Nomogramm, aufbauend auf lediglich 41,3 % der Proben (n=109). Das Nomogramm kann ohne prospektive Evaluierung nicht als valide betrachtet werden.

Aus methodischer Sicht sind die Ergebnisse der Studie insgesamt nicht als ausreichend gesichert für eine klinische Anwendung in der Routine oder als individuelle Gesundheitsleistung zu betrachten.

Eine zu dem Verfahren von Theodorescu et al., 2008 [25]. durchgeführte Evaluierungsstudie von Oberpenning et al., 2008 [26] ist bei prospektiver Probengewinnung aufgrund ihrer geringen Fallzahl nicht dazu geeignet, valide Ergebnisse zu erzielen. Um das Verfahren sicher validieren zu können, ist eine weitere Studie mit ausreichender Teilnehmerzahl und optimalem Referenzstandard erforderlich.

4.4.2 Inhaltliche Diskussion

Die zur Verfügung stehenden Studien zeigen die Urinproteomanalyse mit Kapillarelektrophorese gekoppelt mit ESI-TOF-Massenspektrometrie nicht grundsätzlich den anderen eingesetzten Techniken der Proteomanalyse zur Diagnose eines Prostatakarzinoms überlegen. Die beste diagnostische Testgüte (Sensitivität 91,7 %, Spezifität 83,3 %) wurde nach SELDI-TOF-MS mit drei Chips aufgrund einer hierarchischen Clusterung von 72 statistisch signifikant diskriminierenden Peaks erreicht (Ocamoto et al., 2009 [27]). Fraglich ist, ob die Probengewinnung – nicht nur aus dem Morgenurin, sondern zusätzlich nach Prostatamassage – zu diesem Ergebnis beigetragen hat. Eine Validierung für dieses Verfahren steht aus, die beiden Techniken können deshalb nicht abschließend verglichen werden.

Die weitaus meisten Studien zu Proteomanalysen zur Diagnose des Prostatakarzinoms wurden zu Serumproteomanalysen durch die SELDI-TOF-Technik ab 2002 publiziert. Ungeachtet des jeweils unterschiedlichen identifizierten Proteinprofils werden in zwei Studien (Petricoin et al., 2002 [32] und Ornstein et al., 2004 [33]) mit jeweils vom Testset getrennter, verblindeter Validierung eine Sensitivität von 95 % bzw. 100 % und eine Spezifität von 78 % und 67 % erreicht. Auch diese Studien sind nicht ausreichend prospektiv validiert. Dennoch sollte im Vergleich

zwischen Urin- und Serumanalysen der Test mit der besten diagnostischen Sicherheit gewählt werden, da beide Verfahren wenig invasiv sind.

Die Ergebnisse der Urinanalyse mittels ESI-TOF-MS von Theodorescu et al., 2008 [26] gelten für den PSA-Bereich 2-20 ng/ml. Besonders für den Bereich bis 10 ng/ml ist die Testgüte der PSA-Wert-Bestimmung sehr gering [34]. Die von Theodorescu et al, 2008 erzielte Testgüte wurde von Oberpenning et al., 2008 [26] für das gleiche Verfahren an einem Kollektiv mit PSA-Werten von 2-10,8 ng/ml nicht erreicht. Auch wenn die Ergebnisse aufgrund der kleinen Fallzahl sehr unsicher sind, stellt sich die Frage nach der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der Urinproteomanalyse mittels Kapillarelektrophorese gekoppelt mit ESI-TOF-MS bei geringen PSA-Werten. Darüber hinaus liegt auch keine Validierung bei einer geringeren Prävalenz von Karzinomen im Unterschied zu den Studienbedingungen vor.

Aufgrund der vorliegenden Studien kann bisher nicht geschlossen werden, dass mit einer dem PSA-Wert nachgeschalteten Urinproteomanalyse vor Biopsie eine bessere diagnostische Sicherheit erreicht wird, als mit der transrektalen Biopsie (Entnahme von zehn- bis zwölf Proben durch einen erfahrenen Untersucher) allein.

Zur Beantwortung dieser Fragestellung wäre eine kontrollierte Studie erforderlich. Insbesondere sollte die Frage geklärt werden, ob durch den zusätzlichen Test bei vergleichbarer Sensitivität unnötige Biopsien vermieden werden können.

4.5 Fazit

Um eine Verbesserung der Diagnostik beim Prostatakarzinom zu erreichen, muss ein neues Verfahren sehr sichere Ergebnisse erbringen. Dies gilt auch für das bisher einzige Verfahren mit prospektiver Validierung im Bereich der Urinproteomanalysen, der Kapillarelektrophorese gekoppelt mit ESI-TOF-Massenspektrometrie. Die in Validierungsstudien erzielten Ergebnisse können nicht als ausreichend sicher betrachtet werden. Die erzielten Testgüteparameter sind der bisherigen Diagnostik nicht gesichert überlegen.

Aufgrund der Ergebnisse aus Urinproteomanalysen kann derzeit die Anwendung in der klinischen Routine oder als Selbstzahlerleistung noch nicht empfohlen werden.

Insgesamt fehlen im Bereich der Proteomanalysen zur Diagnose des Prostatakarzinoms prospektive, methodisch gute Validierungsstudien, die verschiedene Verfahren bezüglich ihrer Testgüte, ihrer Anwendbarkeit und ihrer Kosten vergleichen.

Bei einer weiteren Validierung der Urinproteomanalyse mittels Kapillarelektrophorese gekoppelt mit ESI-TOF-Massenspektrometrie ist ein Vergleich mit anderen Techniken der Urinproteom- oder Serumproteomanalysen zu erwägen, die in Studien im Vergleich zu der ESI-TOF-MS bessere Testgüteparameter zeigten und ebenfalls noch nicht ausreichend validiert sind.

Dabei sollte insbesondere in einer kontrollierten Studie gezeigt werden, dass die zusätzlichen Testverfahren gegenüber dem Standard der bisherigen Diagnostik dazu beitragen, unnötige Biopsien zu vermeiden.

5. Evidenztabellen

5.1 Eingeschlossene Studien

a) Aufbereitete Evidenz: Quell-Leitlinien

In den Referenz-Leitlinien NICE 2008 [18], EBRO 2007 [19] und EAU 2009 [20] werden keine Empfehlungen zur Diagnose des Prostatakarzinoms mittels Proteomanalysen gegeben.

b) Aufbereitete Evidenz: Systematische Reviews/Metaanalysen

Tabelle 2: Systematischer Review

Autoren, Jahr/ Studientyp	untersuchte Studien/ Materialien	Welche Fragestellungen wurden untersucht	Befunde in Bezug auf Therapiewirkungen und Überleben	Methodische Besonderheiten/ Bemerkungen	Literaturbelege	Level of Evidence
Downes MR, 2006 [22] Systematischer Review	Systematische Recherche in Medline (PubMed) 01/1985-02/2006 Suchbegriffe: ‚urine‘, ‚marker‘ ‚prostate cancer‘ nur Einschluss von Originalstudien n=32 Treffer	Diagnose des Prostatakarzinoms mittels Markern aus dem Urin	0. Eingeschlossene Studien/methodische Charakteristika n=32 Treffer „viele“ Studien methodisch limitiert aufgrund weniger Patienten. Zu jedem Biomarker wurden nur wenige Studien identifiziert. Histologische Sicherung basiert oft nur auf dem Gleason-Score. 1. DNA-Marker - Verlust der Gluthation-S-Transferase-P1(=GTSP1)-Gen-Expression aufgrund von Promotor Hypermethylierung (> 90 % PCa, > 70 % HGPIN) = 6 Studien Nachweis im Urin ungenügend (je nach Methode zwischen 21 % und 38 % PCa Patienten positiv. Nach Prostatamassage vor Probengewinnung 73 % und 46 % Sensitivität Jeweils Spezifität über 90 % - Methylierung von 4 spezifischen Genen (einschließlich GTSP1) = 1 Studie (52 PCa, 91 Kontrollen) Sensitivität 87 %, Spezifität 100 % - Verlust der Heterozygotie	Suchstrategie sehr spezifisch auf „marker“ zentriert, für eine umfassende Suche ggf. nicht sensitiv genug.	1. DNA-Marker - Harden SV et al., 2003 - Goessl C et al., 2000; - Cairns P et al., 2001; - Jeronimo C et al., 2002; - Gonzalzo ML et al., 2003; - Goessl C et al., 2001 - Crottins LE et al., 2004; - Hoque MO et al., 2005; - Chantel-Groussard K et al. 2005; - Cussenot O, 2001	3a (-) - 4

Autoren, Jahr/ Studientyp	untersuchte Studien/ Materialien	Welche Fragestellungen wurden untersucht	Befunde in Bezug auf Therapiewirkungen und Überleben	Methodische Besonderheiten/ Bemerkungen	Literaturbelege	Level of Evidence
			<p>(2 Studien, n=32 und n=57) Sensitivität 73 % und 86,7 % Spezifität 67 % und 44 % Jeweils erster Morgenurin nach Prostatamassage</p> <p>- 8 Hydroxydeoxyguanosin (2Studien) jeweils n < 20</p> <p>2. RNA-Marker</p> <p>- DD3 (PCA3)-Überexprimierung in > 95 % primärer PCa (2 Studien, n= nicht angegeben), Sensitivität 74 %, Spezifität 89 % für eine Studie</p> <p>- hTERT RNA n < 20</p> <p>- survivin mRNA n < 20</p> <p>3. Protein-Marker</p> <p>- Thymosin-β-15 1 Studie, in Kombination mit PSA Erhöhung von Sensitivität und Spezifität</p> <p>- AMACR (1 Studie) nach TRUS und Biopsie n=26, 100 % Sensitivität, 58 % Spezifität</p> <p>- Prostatic Inhibin-like-Peptide</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tissue Factor - Transferrin - PSA <p>Jeweils eine Studie, n < 20 :</p> <p>- Mini-Chromosome-Maintenance</p> <p>- Bradeion</p> <p>- 5-Alpha-Reduktase-Typ2</p> <p>- Proteomanalyse: B-MRP14 Sensitivität und Spezifität 100 %</p>		<ul style="list-style-type: none"> - Chiu CC et al., 2003; - Jeronimo C et al., 2001; <p>2. RNA-Marker:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bussemakers MJ et al., 1999 - de Kok JB et al., 2002 - Fradet Y et al., 2004, - Hessels D et al., 2003 - Wang H et al., 2004 - Zielie PJ et al., 2004 - Sommerfeld HJ et al., 1996 - Kallakury et al., 1997 - Botchkina GI et al., 2005 <p>3. Protein-marker</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hutchinson LM et al., 2005 a+b - Bao L et al., 1996 - Rogers CG et al., 2004 - Meid FH et al., 2001 - Vicentini C et al., 2004 - Teni TR, 1988 - Lwaleed BA et al., 2000 - Adamson AS et al., 1993 - Fernandez C. 	

Autoren, Jahr/ Studientyp	untersuchte Studien/ Materialien	Welche Fragestellungen wurden untersucht	Befunde in Bezug auf Therapiewirkungen und Überleben	Methodische Besonderheiten/ Bemerkungen	Literaturbelege	Level of Evidence
					<ul style="list-style-type: none"> et al., 1986 - van Dieijen Visser MP et al., 1988 - Graes HC et al., 1985 - Iwakir J et al., 1993 - Irani J et al., 2005 - Irani J et al., 1997 - Pannek J et al., 1997 - Stoeber K et al., 2002 - Tanaka M et al., 2003 - Lombardo HE et al., 1997 - Rehman I. et al., 2004 	

c) Primärliteratur

Tabelle 3: Primärliteratur zu Proteomanalysen aus Urin

Artikel (Autor, Jahr)/ Studientyp	Anzahl der Patienten/ Patientenmerkmale	Intervention/ Referenzstandard/ ggf. Nachverfolgung	Vergleichsintervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen	Evidenz-Niveau Oxford
1. Rehman I, 2004 [23] Fall-Kontrollstudie	n=12 nicht konsekutiv n=6 mit PCa n=6 mit benigner Hyperplasie mittl. Alter 63 J PSA-Werte n. a. Tumorstadium cT2b-cT3	Proteomanalyse aus Morgenurin nach Prostata Massage mittels 2D-SDS-PAGE + MALDI-TOF-MS Referenzstandard: Histologie aus Biopsie, bei BPH mit Rebiopsie nach 6 Monaten und Nachverfolgung insgesamt 18 Mo	keine	1. Bestimmung eines PCa-spezifischen Proteinprofils	0. Drop out keine 1. Ergebnisse Proteomanalyse 6 von insgesamt 20 allen Proben gemeinsamen Proteinen nach Gelelektrophorese in ausreichender Menge vorhanden und weiter analysiert (Identifizierung durch Immunhistochemie). Nachweis von Überexprimierung des Calgranulin B/MRP-14 (13,2 kDa) in 4/6 PCa-Proben (66,7 %) und in keiner der Proben mit benigner Hyperplasie 2. Testgüteparameter nicht bestimmt	kleine Pilotstudie ohne Validierung	4
2. Theodorescu D, 2005 [24] Fall-Kontrollstudie	n=47 (Testgruppe) n=21 benigne Prostatapathologie (BPH) mittl. Alter 64 J mittl. PSA 8,1ng/ml (0,6-18,3) n=26 PCa mittl. Alter 68 J mittl. PSA 24,5 ng/ml (2,6-216, 0) cT1c-cT3b	Proteomanalyse aus Urin nach Ultrafiltration (um Proteinbindung an Albumin und Verlust von Peptiden < 20 kDa zu vermeiden) mittels Kapillarelektrophorese gekoppelt mit micro-ESI-TOF-MALDI-Tandem MS Auswertung mit Software MoasiquesVisu und MOSA-cluster	keine	1. Bestimmung eines PCa-spezifischen Proteinprofils 2. Testgüte der Proteomanalyse zur Diagnose des PCAs	0. Drop-out keine 1. Ergebnisse Proteomanalyse 86 bereits identifizierte Proteine mit entsprechenden Peaks dienten als „Fixpunkte“ in der Analyse. Peaks von 106 zusätzlichen Polypeptiden wurden identifiziert. Die Sequenz der Peptide konnte nicht erschlossen werden. Peak-Cluster-Analyse nach Häufigkeit, Amplitude und Frequenz mit Software, Einschluss von ca. 10-15 Polypeptide	Pilotstudie keine verblindete Validierung	4

Artikel (Autor, Jahr)/ Studientyp	Anzahl der Patienten/ Patientenmerkmale	Intervention/ Referenzstandard/ ggf. Nachverfolgung	Vergleichsintervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen	Evidenz-Niveau Oxford
	n=41 (Kontrollgruppe) gesunde Männer mittl. Alter 39 J	Referenzstandard Testgruppe: Histologie aus Biopsie, (mind. 8 Stenzen)			2. Testgüteparameter a) Diskriminierung PCa/BPH Sensitivität: 88,5 % Spezifität: 90,5 % b) Diskriminierung PCa/BPH+gesunde Sensitivität: 92 % Spezifität: 96 % (Überexprimierung eines Peptids) cave: ungleiche Altersverteilung 3. Analyse von 474 Urinproben von Pat. mit Nierenerkrankungen (Ergebnisse nicht dargestellt, da keine hist. Verifizierung)		
3. M'Koma AE, 2007 [28] Fall-Kontroll-Studie an 2 Kollektiven	a) n= 266 Testset mittl. Alter 65 J mittl: PSA:7,5ng/ml n=89 PCa n=52 High Grade PIN n=125 Kontrollen b) n=141 mittl.Alter PSA: Validierungsset n=103 PCa n=38 ohne PCA	a) Urinproteomanalyse Referenzstandard: Biopsie b) Urinproteomanalyse Referenzstandard: Prostatektomie bei Malignität mittels MALDI-TOF +HPLC, C8/C18-Resin zuvor zur Proteinauftrennung Auswertung mit „Leave one out cross-validated class-prediction method“	keine	1. Bestimmung eines PCa-spezifischen Proteinprofils 2. Testgüte der Proteomanalyse zur Diagnose des PCas	0. Drop out keine 1. Prävalenz PCa 33,4 % Testset 73 % Validierungsset 2. Ergebnisse Proteomanalyse Identifizierung von 4 diskriminierenden Signalen 1373 m/z 1433,5 m/z beide überexprimiert bei PCa 2236 und 2484 m/Z beide mehr exromiert bei BPH 3. Testgüteparameter a) Testset: PCa vs BPH Sensitivität: 71,2 %	Keine Angabe, dass Validierung prospektiv erfolgte, keine Angabe verblindeter Auswertung.	4

Artikel (Autor, Jahr)/ Studientyp	Anzahl der Patienten/ Patientenmerkmale	Intervention/ Referenzstandard/ ggf. Nachverfolgung	Vergleichsintervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen	Evidenz-Niveau Oxford
					Spezifität: 67,4 % BPH vs High Grade PIN Sensitivität: 73,6 % Spezifität: 69,2 % PCA vs High Grade PIN Sensitivität: 80,8 % Spezifität: 81,0 % b) Validierungsset: diagnostische accuracy 80 % Sensitivität/Spezifität nicht angegeben		
4. Theodorescu D, 2008 [25] prospektive Kohortenstudie, Validierung multizentrisch (22 Inst.)	a) n=86 Testset 5/04-3/05 nicht konsekutiv Pat. mit erhöhtem PSA und/oder auffälliger DRU mittl. Alter 65J Pca/63J benigne Mittl. PSA: PCa 11,6ng/ml versus benigne 8,9 ng/ml; SD jeweils 6,5 b) n=264 Validierungsset nicht konsentiv Patienten von April 05 bis Dezember 06 rekrutiert, mittl. Alter 66J PCa, 64J benigne	Urinproteomanalyse aus dem ersten Morgenurin nach Ultrazentrifugierung mittels Kapillarelektrophorese gekoppelt mit micro-TOF-Massenspektrometrie mit Moasiques Software Referenzstandard : Histologie aus Biopsie (8-12 Proben) Testset: n=51PCa (59,3 %) n=35 benigne Prostataveränderung Validierungsset: n=118PCa n=95 benigne	keine	1. Bestimmung eines PCa-spezifischen Proteinprofils 2. Testgüte der Proteomanalyse zur Diagnose des PCas	0. Dropout n=51 (20 %) bei Vergleich mit dem generierten „informative polypeptide panel“ nicht als informative resp. repräsentative Proben gewertet. 1. Ergebnisse Proteomanalyse Detektionsrate der 200 häufigsten Proteine 98 %. Max. tolerierte Abweichung für „gleiche Proteine“: Masse < 100 ppm, Migrationszeit < 3 %. a) Generieren eines „informativen Peptid Panels“ aus 8 Proteinen mit Hilfe der Urinanalyse der Kontrollgruppe (jeweils Expression stat. sign. unterschiedl.) b) Generieren eines PCa-Spezifischen-Peptid-Panels. Zunächst heterogen, zusätzliches bootstrapping erforderlich dann 12 Peptide 2. Testgüteparameter (n=213 = 80,6%) - Sensitivität 73 % [95 % KI 64-81] (86/113)	nach Test verblindet Validierungsstudie Initial Validierung der Studie von 2005 geplant, aber keine stat. sign. Diskriminierung , Erneutes Testset unter Verwendung des ersten Morgenurins 4 Pat. aus Testset mit initial negativer Biopsie wurden zwischenzeitlich rebiopsiert mit PCa	3b (+)

Artikel (Autor, Jahr)/ Studientyp	Anzahl der Patienten/ Patientenmerkmale	Intervention/ Referenzstandard/ ggf. Nachverfolgung	Vergleichsintervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen	Evidenz-Niveau Oxford
	<p>alle mit PSA erhöht (2 < PSA < 20, Mittelwert 10,0 versus 9,9) und/oder suspekter DRU alle vor TRUS-gesteuerter Biopsie</p> <p>n=184</p> <p>Kontrollgruppe</p> <p>n=138 gesunde Männer (mittl. Alter 49J +/- 12 J)</p> <p>n=46 gesunde Frauen (mittl. Alter 42 J +/- 15 J)</p>				<p>bzw. nach Korrektur aus der Literatur beschriebener Falsch-negativ-Raten von Biopsien berechnet: 75 %</p> <p>- Spezifität</p> <p>60 % [96 % KI 49-69] (86/113)</p> <p>nach Korrektur von in der Literatur beschriebenen falsch-negativ-Raten von Biopsien berechnet:</p> <p>68 %</p> <p>positiver prädiktiver Wert</p> <p>0,69 (86/124)</p> <p>negativer prädiktiver Wert</p> <p>0,64 (57/89)</p> <p>2. Ergebnisse eines Nomograms aus n= 109 Proben (41,3 %)</p> <p>Multivariate Analyse zeigte Alter (45-90), F-Faktor (-2,2) F/T-PSA (30 %-0) als unabhängige Faktoren für das Vorhandensein eines PCas.</p> <p>Sensitivität: 90 %</p> <p>Spezifität: 61 %</p> <p>AUC für diagnostic accuracy: 0.82</p> <p>AUC PSA: 0,57</p>		
<p>5. Oberpenning F, 2008 [26]</p> <p>Kohortenstudie, multi-zentrisch, 9-11/07</p>	<p>n= 18</p> <p>nicht konsekutiv mittl Alter 63 J (54-79), auffälliges PSA und/oder auffällige DRU</p> <p>PSA mittl. 6,7 ng/ml (2,1-10,8 ng/ml) mit Biopsie</p>	<p>Intervention:</p> <p>Proteomanalyse aus Morgenurin ohne Prostata Massage mittels Kapillarelektrophorese und Micro-ESI-TOF-MS, Proteomanalyse wie bei Theodorescu et al., 2008</p> <p>Referenzstandard:</p> <p>Histologie aus Biopsie (8-14 Proben, median 12) + 5 x Prostatektomie mit PCa (pT2c-pT4),</p>	keine	<p>1. Bestimmung der Testgüteparameter</p>	<p>0. Drop out</p> <p>11 % (2/18) als nicht auswertbar klassifiziert</p> <p>1. Prävalenz PCa (n= 16)</p> <p>50 % (Histologie 8 x benigne, 8 x maligne)</p> <p>2. Testgüte der Proteomanalyse</p> <p>Sensitivität: 62,5 % [95 % KI 24,5-91,4]*</p> <p>Spezifität: 37,5 % [8,5-75,5 %]</p> <p>PPW: 0,5 [18,7-81,3]</p> <p>NPW: 0,5 [11,8-88,2]</p> <p>*nach Clopper-Pearson</p>	<p>Validierungsstudie für Theodorescu et al., 2008, verblindete Beurteilung, Sensitivität und Spezifität dtl. geringer als bei Theodorescu et al. 2008</p> <p>geringe Fallzahl, sehr weite Konfidenzintervalle, keine ausreichend</p>	3b

Artikel (Autor, Jahr)/ Studientyp	Anzahl der Patienten/ Patientenmerkmale	Intervention/ Referenzstandard/ ggf. Nachverfolgung	Vergleichsintervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen	Evidenz-Niveau Oxford
		3 x TURP mit benigner Diagnose				statistisch valide Beurteilung möglich	
6. Okamoto A, 2009 [27] Fall-Kontrollstudie	n=113 nicht konsekutiv mittl. Alter 69 J PSA-Wert: n=57 Pat. mit Prostatakarzinom lt. Biopsie, c T1cN0- cT4N1M1 n=56 Pat. mit benignen Läsionen lt. Biopsie davon evaluiert: n=37 PCa und n=39 benigne Läsionen	Proteomanalyse aus Morgenurin nach Prostata-massage mittels SELDI-TOF-MS mit 3 Chips: - strong-anion-exchange (Q10) - IMAC-Cu 30 - weak cation exchange (CM10) mit 4 Durchläufen Analyse mit CiphergenExpress DataManager Software 3.0 Referenzstandard: Histologie aus Biopsie (10-12 Proben)	PSA-Wert Bestimmung	1. Bestimmung eines PCa-spezifischen Proteinprofils 2. Testgüte der Proteomanalyse zur Diagnose des PCas	0. Drop-out für Testgüte 20 bei PCa (35 %) 17 bei benignen Läsionen (30 %) aufgrund von ‚overlap‘ durch „Zufallsauswertung“ 1. Prävalenz PCa 48,7 % 2. Ergebnisse Proteomanalyse Einzel-Peak-Analyse identifiziert 49 Peaks bei PCa die statistisch signifikant höher waren als bei benignen Veränderungen und 23 Peaks, die statistisch signifikant downreguliert waren. Assays wurden 4 Mal wiederholt 1 Peak blieb immer stat. sign.: m/z 10788 3. Testgüteparameter (n= 76) - PSA: Werte diskriminierten nicht stat. sign. - Proteomanalyse: a) Single-Peak-Analyse bei PCa 49Peaks stat. sign. upreguliert 23 Peaks stat. sign. downreguliert stat. sign. Peaks variierten bei 4 Durchläufen Peak bei m/z 4761 konstant stat. sign, diskriminierend zw. PCa und benigner Läsion ROC = 0,917 b) Clusteranalyse (n= 24) : bei Einschluss der 72 stat. sign. diff. Peaks in eine hierarchische Clusteranalyse Diskriminierung PCa mit Sensitivität: 91,7 % Spezifität: 83,3 %	Pilotstudie + Validierung erfolgt nach der Zufallsprinzip Clusteranalyse nur an 24 Proben= 21 %	4

Tabelle 4: Primärliteratur zu Proteomanalysen aus Serum

Artikel (Autor, Jahr) Studientyp	Anzahl Patienten/ Patientenmerkmale	Intervention	Vergleichs-intervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen
1. Adam BL, 2002 [35] prospektive Fall-Kontrollstudie	n=326 von n=387 Serumproben von a) n=99 Pat. PCa T1/T2 b) n=99 mit PCa T3/T4 c) n=92 benigner Prostatahyperplasie (BPH) und d) n=97 gesunden Männern (DRU o. B., PSA < 4 ng/ml, keine nachgewies. Erkrankung der Prostata)	Proteomanalyse aus Serum mittels der SELDI-TOF-Technik (Masse von 2-40kD) unter Verwendung eines IMAC-Cu-Chips (IMAC = immobilized metal ion affinity chromatography) und Anwendung eines Entscheidungs-baums mit n=30 PCa, 15 BPG	keine	1. Prostata-spezifisches Profil 2. Testgüteparameter	0. Dropout 15,8 % Gründe nicht im Text erklärt 1. Ergebnisse Proteomanalyse Entscheidungsbaum aus 9 verschiedenen m/z Peaks 2. Testgüteparameter PCa Validierungsset (verblindete Messung an n= 60 Proben, 30 Pca, 30 Gesunde/BPH) Sensitivität PCa 83,3 % (15/30) Spezifität PCa 96,6 % (29/30) Positiver prädiktiver Wert 96 % (25/26) negativer prädiktiver Wert 96,6 % (29/30)	Drop out nicht erklärt. Verblindete Validierung nur an kleinem Set (n= 60)
2. Banez L, 2003 [36] Fall-Kontrollstudie	n=162 106 Pat. mit PCa, n=103 RPE 3 mittl Alter 58,1 J mittl. PSA 7,17 ng/ml	SELDI-TOF-MS zur Diagnose eines PCa aus Serum (jeweils gewonnen vor Biopsie oder weiterer Therapie) mit IMAC3-Cu (und WCX2 (weak cation exchange) Auswertung mit Biomarkers Pattern	keine	1. Charakterisierung des Proteinprofils 2. Testgüteparameter in Bezug auf die Diagnose des PCa	Testgüteparameter Evaluationset: Zufallsaufteilung n=88 zur Validierung) (verblindete Beurteilung) c. Kombination WCX2 + IMAC CU Sensitivität 52/62 (85 %) Spezifität 22/26 (85 %) 85 % Accuracy (p < 0,0001)	verblindete Validierung

Artikel (Autor, Jahr) Studientyp	Anzahl Patienten/Patientenmerkmale	Intervention	Vergleichsintervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen
	64 pT2, 39 pT3 n=56 Kontrollpatienten mit PSA < 4 ng/ml mittl. Alter 55 J mittl. PSA 1,66 ng/ml, 33 mit negativer Biopsie	Software (= BPS = nach Classification und Regression eines Decision-Tree-Systems				
3. Bhanot G, 2006 [37] Fall-Kontrollstudie	n=279, nur 20 PCa	Proteomanalyse aus dem Serum mittels SELDI-TOF-Technik	keine	1. PCa-Spezifisches Proteinprofil 2. Testgüteparameter	Testgüteparameter Sensitivität: 91,3 % Spezifität: 98,8 %	keine verblindete Validierung
4. Li J, 2004 [38] Fall-Kontrollstudie,	n=345 n=246 Pat. mit PCa und RPE alle klinisch begrenzt, pathologisch 98 mit fortgeschrittenem PCa n=99 Pat. mit negativer Biopsie für PCa und benignen Veränderungen	Proteomanalyse aus Serum mittels SELDI-TOF-Technik unter Verwendung von 2 Chips: IMAC3 und WCX2	PSA-Bestimmung aus dem Serum	1. PCa-spezifisches Proteinprofil 2. Testgüte für die Diagnose des PCa im Vergleich zu PSA	Testgüteparameter PSA- versus Proteomanalyse mit Marker PCom3 bei Sensitivität 45 % für beide Verfahren Spezifität PSA: 57 % Spezifität Pcom 3: 76 %	keine verblindete Validierung
5. Liu Y, 2006 [39]	n=132 n=63 Pat. mit histopathologischer	Proteomanalyse aus Serum mittels SELDI-TOF-MS	keine	1. PCa-spezifisches Proteinprofil	Testgüteparameter Sensitivität: 79 % Accuracy: 82 %	

Artikel (Autor, Jahr) Studientyp	Anzahl Patienten/ Patientenmerkmale	Intervention	Vergleichsintervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen
Fall-Kontrollstudie	Diagnose Prostatakarzinom (PSA \geq 4 ng/ml) und n=63 Patienten ohne PCa (PSA > 1ng/ml)			2. Testgüte für die Diagnose des PCa im Vergleich zu PSA		
6. McLerran D, 2008 [30] Fall-Kontrollstudie	n=400 davon n=240 PCa Rest Kontrollen unabhängiges Validierungsset (n= ca. 100)	Proteomanalyse aus Serum mittel SELDI-TOF-MS mit IMAC Cu	keine	Testgüte für in anderer Studie charakterisiertes Proteomprofil zur Diagnose des PCa im Vergleich zu PSA	Testgüteparameter (verblindete Validierung an ca. 100 Pat. 50 % PCa) Profiler bringt keine statistisch signifikante Diskriminierung Testset validiert an neueren Proben	verblindete Validierung
7. McLerran D, 2008 [29] Fall-Kontrollstudie	n=542 n=181PCa n=143 BPH n=220 normale Kontrollen	Proteomanalyse aus Serum mittel SELDI-TOF-MS	keine	1. PCa-spezifisches Proteinprofil 2. Testgüte für die Diagnose des PCa im Vergleich zu PSA	Testgüteparameter Profiler bringt keine statistisch signifikante Diskriminierung Biasquellen identifiziert : Proben für Testset vor 1996 erhoben, Lagerungsprobleme	verblindete Validierung
8. Mobley JA, 2004 [31] Fall-Kontrollstudie	n=168 n=70 PCa n=98 gesunde Kontrollen	Proteomanalyse aus Serum mittels MALDI-TOF	keine	1. PCa-spezifisches Proteinprofil 2. Testgüte für die Diagnose des PCa im Vergleich zu PSA	0. Drop out 1. Ergebnisse Proteomanalyse 36 Peaks identifiziert zur Diskriminierung PCa-benigne 2. Testgüteparameter Sensitivität: 94,1 % Spezifität: 99 % 1 x Falschpositiv 4 x falsch negativ 5 nicht diagnostiziert	verblindete Validierung

Artikel (Autor, Jahr) Studientyp	Anzahl Patienten/ Patientmerkmale	Intervention	Vergleichsintervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen
9. Ornstein DK, 2004 [33] Fall-Kontrollstudie	n=154 Pat. mit PSA 2 m 5 ng/ml-15 ng/ml und/oder auffällige DRU n=63 Testset, n=91 Evaluierungsset	Proteomanalyse mittels SELDI-TOF-MS mit WCX2-Chip	keine	1. Proteomprofil 2. Testgüteparameter für Diagnose PCa	Testgüteparameter Sensitivität: 100 % Spezifität: 67 %	verblindete Validierung, vom Testset unabhängiges Validierungsset
10. Pan YZ, 2006 [40] Fall-Kontrollstudie	n=83 PCa n=99 gesunde Kontrollen	Proteomanalyse mittels SELDI-TOF-MS 2 Chips	keine	1. Proteomprofil 2. Testgüteparameter für Diagnose PCa	1. Ergebnisse Proteomanalyse Testset 18 statistisch signifikante Serumproteine wurden bei PCa im Vergleich zu den Kontrollen identifiziert (p < 0,001) 2. Testgüteparameter Sensitivität: 92 % Spezifität: 96,7 %	keine verblindete Validierung
11. Petricoin EF, 2002 [32] Fall-Kontrollstudie/ Kohortenstudie	n=266 Testset n=56 Pat. mit PCa (PSA > 3,9 ng/ml) Gesunde Kontrollen (PSA <1 ng/ml) Validierungsset: n=216 z.T. aus Screeningstudie (klinisch asymptomatisch) 38Ca 17,6% 177 benigne	Proteomanalyse mittels SELDI-TOF-MS	keine	1. Proteomprofil 2. Testgüteparameter für Diagnose PCa	0. Drop out keine 1. Ergebnisse Proteomanalyse Testset 7 Peaks zur Differenzierung identifiziert: m/z 2092, 2367, 2582, 3080, 4819, 5439, 18220 2. Testgüteparameter Sensitivität: 95 % [95 % KI 82-99 %] (36/38) Spezifität: 78 % [95 % KI 72-83 %] (177/228) bei PSA 4-10 ng/ml: Spezifität 71 % Schlussfolgerung der Autoren: evtl. künftiger Test um bei erhöhtem PSA zu entscheiden, ob eine Biopsie erfolgen soll.	verblindete Beurteilung vom Testset unabhängiges Validierungsset
12. Qu Y,	n=386 Pat.	Proteomanalyse mittels	keine	1. Proteomprofil	1. Ergebnisse Proteomanalyse Testset (n=60)	

Artikel (Autor, Jahr) Studientyp	Anzahl Patienten/Patientenmerkmale	Intervention	Vergleichsintervention	Outcomes	Ergebnisse	Bemerkungen
2002 [41] Fall-Kontroll-Studie	n=197 PCa n=92 BPH n=96 gesunde Kontrollen n=60 Zufallsgezogene Proben als Testset	SELDI-TOF-MS mit IMAC 3		2. Testgüteparameter für Diagnose PCa	Entwicklung von 2 ‚Classifiern‘: 1. mit 74 Peaks 2. mit 21 Peaks 2.Testgüteparameter Sensitivität: 1. 100 % 2. 97 % Spezifität: 1. 100 % 2. 97 %	
13. Yasui Y, 2003 [42] Fall-Kontrollstudie	n=386 n=98 mit fortgeschrittenem PCa n=99 mit lokal begrenztem PCa n=93 mit BPH n=96 normale Kontrollen	Proteomanalyse aus dem Serum mittels SELDI-TOF-MS mit IMAC 3		1. Proteomprofil 2. Testgüteparameter für Diagnose PCa	0. Drop out keine 1. Ergebnisse Proteomanalyse Testset 2.Testgüteparameter bei Sensitivität und Spezifität im Testset von > 90 % zur Diskriminierung zwischen Karzinom und BPH im Validierungsset Sensitivität: 93,3 % Spezifität: 46,7 %	gleiches Kollektive wie Qu Y , Validierung an den weiteren Proben

5.2 Ausgeschlossene Studien

Tabelle 5: Ausgeschlossene Reviews

Autor, Jahr	Inhalt	Grund für Ausschluss
Diamandis EP, 2004 [43]	Review zu Massenspektrometrie als eine diagnostische Methode und eine Methode um Biomarker für maligne Tumoren zu ermitteln.	Narrativer Review
Downes MR, 2006 [22]	Detaillierter Review zu Techniken der Proteomanalyse für Urinbiomarker beim Prostatakarzinom.	Narrativer Review
Drake RR, 2009 [44]	Detaillierter Review zur Verwendung von Prostatasekreten für die Identifizierung von Biomarkern.	Narrativer Review
Ferguson, RE, 2004 [45]	Review zu Proteomanalysen bei malignen urologischen Tumoren.	Narrativer Review
Issaq HJ, 2002 [46]	Review zur SELDI-Technik als Proteomic für Biomarker.	Narrativer Review
Kommu S, 2004 [47]	Kurzer Review zu Proteomanalysen aus dem Urin, nicht prostatakarzinomspezifisch.	Narrativer Review
Kuruma H, 2004 [48]	Detaillierter Review zu Techniken der Proteomanalysen aus dem Urin und eigene Untersuchungen an PCa-Zelllinien.	Narrativer Review
Mathaaroo-Ball B., 2007 [49]	Review zu Techniken der Proteomanalyse zur Identifizierung neuer Biomarker für das PCa.	Narrativer Review
Ornstein DK, 2006 [50]	Review über Techniken der Proteomanalysen zur Identifizierung neuer Biomarker für das PCa.	Narrativer Review
Parekh DJ, 2007 [51]	Review über Biomarker zur Diagnose des Prostatakarzinoms.	Narrativer Review
Ramirez ML, 2008 [52]	Review über alternative Serummarker (anstatt PSA) für das Prostatakarzinom.	Narrativer Review, ausschließlich Serummarker
Risk MC, 2009 [53]	Review zu neuen Biomarkern für die Diagnose des Prostatakarzioms.	Narrativer Review
Roboz J, 2005 [54]	Review zu Techniken der Massenspektrometrie als Methoden zur Prostatakarzinomdiagnose.	Narrativer Review

Autor, Jahr	Inhalt	Grund für Ausschluss
Schiffer E, 2007 [55]	Review zu Biomarkern für das Prostatakarzinom.	Narrativer Review
Semmes OJ, 2006 [56]	Review zur Massenspektrometrie als 'Proteomic' für die Entdeckung von Biomarkern, mit denen Prostatakarzinom diagnostiziert werden kann.	Narrativer Review
Steuber T, 2008 [57]	Review zu Serummarkern für das Prostatakarzinom.	Narrativer Review, ausschließlich Serummarker
Wittke S, 2007 [58]	Review zur Proteomanalyse mittels Kapillarelektrophorese gekoppelte Massenspektrometrie bei Prostata- und Blasenkarzinom.	Narrativer Review
You J, 2010 [59]	Detaillierter Review zu Biomarkern für die Diagnose und Progression des Prostatakarzinoms.	Narrativer Review

Tabelle 6: Ausgeschlossene Volltexte

Autor, Jahr	Inhalt/ggf. Ergebnisse	Grund für Ausschluss
Ahram M, 2002 [60]	Proteomanalyse aus Zelllysaten von 12 PCa Gefrierschnitten von 8 Pat. verglichen mit gesundem PCa Gewebe in diesen Schnitten – mit 2D-SAGE und HPLC Tandem MS – ergibt Veränderungen von 40 Proteinveränderungen in den Karzinomen, die jedoch heterogen sind, nur 6 davon sind in mehr als 1 Ca zu finden.	Analyse aus Gewebe Erstcharakterisierung, n < 50
Cazares LH, 2009 [61]	Proteomanalyse mittel Imaging-Massenspektrometrie mit MALDI-TOF an Gefrierschnitten + Immunhistochemie zur Identifizierung von Proteinen, n=74 Testgüte a) Eines Algorithmus aus drei Peaks: Diagnostische Accuracy 81 % (Sensitivität und Spezifität nicht angegeben). b) Von m/z 4,355, Fragment einer spez. Kinase (MEKK2 nach Proteinidentifizierung) Diskriminierung nach normalisiertem	Analyse aus Gewebe Erstcharakterisierung

Autor, Jahr	Inhalt/ggf. Ergebnisse	Grund für Ausschluss
	Durchschnitts-Intensitäts-Wert cut-off für maximale Spezifität Sensitivität: 96,8 % Spezifität: 81,8 %.	
Cheung PK, 2004 [62]	Proteomanalyse von High-Grade-PIN und Prostatakarzinomgeweben nach Herstellen von Zelllysaten aus Gefrierschnitten (insgesamt n=20) – 2D-SAGE und SELDI-MS – ergibt den Wachstumsdifferenzierungsfaktor 15 als spezifisch für das Prostatakarzinom.	Analyse aus Gewebe Erstcharakterisierung, n < 50
Deng X, 2006 [63]	Proteomanalyse kombiniert aus Microarrays und Massenspektrometrie, Ergebnisse werden nach bestimmtem statistischen Verfahren verlinkt.	Microarray. Erstcharakterisierung, n < 50
Garbis SD, 2008 [64]	Proteomanalyse von 20 Gefrierschnitten (10 PCa, 10 BNH), mit DLC-MS (MALDI-TOF), 1420 Proteinprofile, 825 davon reproduzierbar, Identifizierung von 29 Proteinen.	Analyse aus Gewebe Erstcharakterisierung, n < 50
Griffin TJ, 2001 [65]	Proteomanalyse von Zelllysaten mittels ICAT (isotope coded affinity tag) und ESI-MS (Electrospray-Ionisierung-Massenspektrometrie) – Anwendung an PCa-Zelllinien.	Erstcharakterisierung, n < 50
Jin G, 2008 [66]	Serum – Proteomanalysen mittels SELDI-TOF-MS und Microarrays einer Datenbank unter Einschluss von Genomprofilen. Keine Ableitung von Sensitivität und Spezifität möglich.	Kombination von Proteom- und Genomanalyse Erstcharakterisierung Testgüteparameter nicht berechenbar
Lexander H, 2005 [67]	Proteomanalyse aus Zelllysaten, gewonnen von Prostatektomiepräparaten, 29 PCa, 10 benigne, 63 differierende Peaks zwischen benignen und malignen Zellen, meist bei malignen Überexpression (56), Beschreibung der Proteine.	Analyse von Gewebe Erstcharakterisierung n < 50
Lin JF, 2007 [68]	Proteomanalyse n=26.	Erstcharakterisierung n < 50
Liu AY, 2005 [69]	Proteomanalyse mittel MALDI-Imaging n=49.	Erstcharakterisierung n < 50
Miller JC, 2003 [70]	Proteomanalyse aus Serum mittels 2 verschiedener Microarrays, Identifizierung von stat. sign. unterschiedlichen Proteinmarkern PCa und benignes Gewebe. Testgüteparameter nicht berechenbar.	Erstcharakterisierung Testgüteparameter nicht berechenbar

Autor, Jahr	Inhalt/ggf. Ergebnisse	Grund für Ausschluss
Miura Y, 2007 [71]	GlykoProteomanalyse.	Erstcharakterisierung n < 50
Sardana G, 2008 [72]	Proteomanalyse aus Zellysaten von Prostatakarzinomzelllinien mittels 2-dimensionaler Chromatographie und gekoppelter Massenspektrometrie, 2 identifizierte Marker validiert an 42 Serumproben von Pat. mit und ohne PCa.	n < 50
Schwamborn K, 2007 [73]	Proteomanalyse mittels MALDI-Imaging aus Zellysaten und Gefrierschnitten aus Prostatektomiepräparaten, durchschnittl. 85 Peaks 1-20 kDa, n=22, 11 maligne und 11 nichtmaligne Schnitte. Nach Auswertung der Peaks und Algorithmus mittels einer SVM (Support Vector Machine) Sensitivität 88 %, Spezifität 90,7 %.	Analyse von Gewebe Erstcharakterisierung n < 50
Semmes OJ, 2005 [74]	Proteomanalyse aus Zellysaten mittels SELDI-TOF-MS nach Kalibrierung und Standardisierung der Geräte in verschiedenen Institutionen Identifizierung von 3 Peaks (m/z 5910, 7773, 9297 +/- 0,2 %), Anwendung an 14 PCa und 14 Kontrollen.	Erstcharakterisierung n < 50
Taylor BS, 2008 [75]	Proteomanalyse aus Serum mittels Proteinmicroarrays und anschließender Massenspektrometrie bei n=34 Pat.	Erstcharakterisierung n < 50
Ummanni R, 2008 [76]	Proteomanalyse aus Zellysaten von PCa-Biopsien mittels 2D-SAGE und MALDI-TOF-MS-MS von 11 BPH und 12 PCa. 88 stat. sign. differente Peaks, verschiedene Proteine identifiziert, u. a. Prohibitin, hier positive Korrelation zu mRNA identifiziert.	Analyse aus Gewebe Erstcharakterisierung n < 50
Zheng Y, 2003 [77]	Proteomanalyse aus Gefrierschnitten von n=17 PCa-Präparaten und n < 10 benignen Präparaten mittels LCM (Laser Capture Microdissection) und SELDI-TOF-MS, Identifizierung einer Überexpression in 94 % der PCa bei m/z 24,7 aus epithelialen Prostatazellen.	Analyse aus Gewebe Erstcharakterisierung n < 50
Zimmermann U, 2007 [78]	Proteomanalyse aus Biopsien.	Analyse aus Gewebe Erstcharakterisierung n < 50

Literatur

1. Deutsche Gesellschaft für Urologie (DGU). Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms. Version 1.01. Düsseldorf: DGU; 2009. Available from: <http://www.aezq.de/aezq/publikationen/kooperation>
2. Mistry K, Cable G. Meta-analysis of prostate-specific antigen and digital rectal examination as screening tests for prostate carcinoma. *J Am Board Fam Pract* 2003;16(2):95-101.
3. Harvey P, Basuita A, Endersby D, Curtis B, Iacovidou A, Walker M. A systematic review of the diagnostic accuracy of prostate specific antigen. *BMC Urol* 2009;9:14.
4. Djavan B, Zlotta A, Kratzik C, Remzi M, Seitz C, Schulman CC, Marberger M. PSA, PSA density, PSA density of transition zone, free/total PSA ratio, and PSA velocity for early detection of prostate cancer in men with serum PSA 2.5 to 4.0 ng/mL. *Urology* 1999;54(3):517-22.
5. Djavan B, Remzi M, Zlotta AR, Ravery V, Hammerer P, Reissigl A, Dobronski P, Kaisary A, Marberger M. Complexed prostate-specific antigen, complexed prostate-specific antigen density of total and transition zone, complexed/total prostate-specific antigen ratio, free-to-total prostate-specific antigen ratio, density of total and transition zone prostate-specific antigen: results of the prospective multicenter European trial. *Urology* 2002;60(4 Suppl 1):4-9.
6. Hoogendam A, Buntinx F, de Vet HC. The diagnostic value of digital rectal examination in primary care screening for prostate cancer: a meta-analysis. *Fam Pract* 1999;16(6):621-6.
7. Heijmink SW, van MH, Kiemeneij LA, Witjes JA, Frauscher F, Barentsz JO. A comparison of the diagnostic performance of systematic versus ultrasound-guided biopsies of prostate cancer. *Eur Radiol* 2006;16(4):927-38.
8. Wilkins MR, Williams KL, Appel RD, Hochstrasser DF, (eds.). *Proteome Research: New Frontiers in Functional Genomics*. Berlin: Springer; 1997.
9. Banks RE, Dunn MJ, Hochstrasser DF, Sanchez JC, Blackstock W, Pappin DJ, Selby PJ. Proteomics: new perspectives, new biomedical opportunities. *Lancet* 2000;356(9243):1749-56.
10. Klose J. Protein mapping by combined isoelectric focusing and electrophoresis of mouse tissues. A novel approach to testing for induced point mutations in mammals. *Humangenetik* 1975;26(3):231-43.
11. O'Farrel PH. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J Biol Chem* 1975;250:4007-21.

12. Bjellqvist B, Ek K, Righetti PG, Gianazza E, Gorg A, Westermeier R, Postel W. Isoelectric focusing in immobilized pH gradients: principle, methodology and some applications. *J Biochem Biophys Methods* 1982;6(4):317-39.
13. Budzikiewicz H, Schäfer M. *Massenspektrometrie - Eine Einführung*. Weinheim: Wiley; 2005.
14. Karas M, Hillenkamp F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Anal Chem* 1988;60(20):2299-301.
15. Tanaka K, Ido Y, Akita S, Yoshida Y, Yoshida T. Presented at the Second Japan-China Joint Symposium on Mass Spectrometry (abstract), Takarazuka Hotel, Osaka, 15.-18.09.1987. 1987.
16. Weinberger SR, Boschetti E, Santambien P, Brenac V. Surface-enhanced laser desorption-ionization retention chromatography mass spectrometry (SELDI-RC-MS): a new method for rapid development of process chromatography conditions. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002;782(1-2):307-16.
17. Caprioli RM, Farmer TB, Gile J. Molecular imaging of biological samples: localization of peptides and proteins using MALDI-TOF MS. *Anal Chem* 1997;69(23):4751-60.
18. National Collaborating Centre for Cancer. *Prostate cancer: diagnosis and treatment*. London: NICE; 2008. Available from: <http://guidance.nice.org.uk/CG58>
19. Dutch Urological Association. *Prostate cancer. Nation-wide guideline. Version 1.0. DUA; 2007.*
20. Heidenreich A, Bolla M, Joniau S, van der Kwast TH, Matveev V, Mason MD, Mottet N, Schmid HP, Wiegel T, Zattoni F. *Guidelines on Prostate Cancer*. EAU; 2009.
21. Centre for Evidence Based Medicine (CEBM). *Levels of Evidence*. Oxford: CEBM; 2009. Available from: <http://www.cebm.net>
22. Downes MR, Byrne JC, Dunn MJ, Fitzpatrick JM, Watson RW, Pennington SR. Application of proteomic strategies to the identification of urinary biomarkers for prostate cancer: a review. *Biomarkers* 2006;11(5):406-16.
23. Rehman I, Azzouzi AR, Catto JW, Allen S, Cross SS, Feeley K, Meuth M, Hamdy FC. Proteomic analysis of voided urine after prostatic massage from patients with prostate cancer: a pilot study. *Urology* 2004;64(6):1238-43.
24. Theodorescu D, Fliser D, Wittke S, Mischak H, Krebs R, Walden M, Ross M, Eltze E, Bettendorf O, Wulfing C, Semjonow A. Pilot study of capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry as a tool to define potential prostate cancer biomarkers in urine. *Electrophoresis* 2005;26(14):2797-808.
25. Theodorescu D, Schiffer E, Bauer HW, Douwes F, Eichhorn F, Polley R, Schmidt T, Schofer W, Zurbig P, Good DM, Coon JJ, Mischak H. Discovery and validation of urinary biomarkers for prostate cancer. *Proteomics Clin Appl* 2008;2(4):556-70.
26. Oberpenning F, von Knobloch R, Sprute W, Rathert M, Bierer S, Gerß J, Semjonow A. DiaPat-Prostatkarzinom-Urintest. *Urologe* 2008;47(6):731-5.

27. Okamoto A, Yamamoto H, Imai A, Hatakeyama S, Iwabuchi I, Yoneyama T, Hashimoto Y, Koie T, Kamimura N, Mori K, Yamaya K, Ohyama C. Protein profiling of post-prostatic massage urine specimens by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry to discriminate between prostate cancer and benign lesions. *Oncol Rep* 2009;21(1):73-9.
28. M'Koma AE, Blum DL, Norris JL, Koyama T, Billheimer D, Motley S, Ghiassi M, Ferdowsi N, Bhowmick I, Chang SS, Fowke JH, Caprioli RM, Bhowmick NA. Detection of pre-neoplastic and neoplastic prostate disease by MALDI profiling of urine. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;353(3):829-34.
29. McLerran D, Grizzle WE, Feng Z, Bigbee WL, Banez LL, Cazares LH, Chan DW, Diaz J, Izbicka E, Kagan J, Malehorn DE, Malik G, Oelschlager D, Partin A, Randolph T, Rosenzweig N, Srivastava S, Srivastava S, Thompson IM, Thornquist M, Troyer D, Yasui Y, Zhang Z, Zhu L, Semmes OJ. Analytical validation of serum proteomic profiling for diagnosis of prostate cancer: sources of sample bias. *Clin Chem* 2008;54(1):44-52.
30. McLerran D, Grizzle WE, Feng Z, Thompson IM, Bigbee WL, Cazares LH, Chan DW, Dahlgren J, Diaz J, Kagan J, Lin DW, Malik G, Oelschlager D, Partin A, Randolph TW, Sokoll L, Srivastava S, Srivastava S, Thornquist M, Troyer D, Wright GL, Zhang Z, Zhu L, Semmes OJ. SELDI-TOF MS whole serum proteomic profiling with IMAC surface does not reliably detect prostate cancer. *Clin Chem* 2008;54(1):53-60.
31. Mobley JA, Lam YW, Lau KM, Pais VM, L'Esperance JO, Steadman B, Fuster LM, Blute RD, Taplin ME, Ho SM. Monitoring the serological proteome: the latest modality in prostate cancer detection. *J Urol* 2004;172(1):331-7.
32. Petricoin EF, III, Ornstein DK, Paweletz CP, Ardekani A, Hackett PS, Hitt BA, Velasco A, Trucco C, Wiegand L, Wood K, Simone CB, Levine PJ, Linehan WM, Emmert-Buck MR, Steinberg SM, Kohn EC, Liotta LA. Serum proteomic patterns for detection of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(20):1576-8.
33. Ornstein DK, Rayford W, Fusaro VA, Conrads TP, Ross SJ, Hitt BA, Wiggins WW, Veenstra TD, Liotta LA, Petricoin EF, III. Serum proteomic profiling can discriminate prostate cancer from benign prostates in men with total prostate specific antigen levels between 2.5 and 15.0 ng/ml. *J Urol* 2004;172(4 Pt 1):1302-5.
34. Loeb S, Catalona WJ. Prostate-specific antigen in clinical practice. *Cancer Lett* 2007;249(1):30-9.
35. Adam BL, Qu Y, Davis JW, Ward MD, Clements MA, Cazares LH, Semmes OJ, Schellhammer PF, Yasui Y, Feng Z, Wright GL, Jr. Serum protein fingerprinting coupled with a pattern-matching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostate hyperplasia and healthy men. *Cancer Res* 2002;62(13):3609-14.
36. Banez LL, Prasanna P, Sun L, Ali A, Zou Z, Adam BL, McLeod DG, Moul JW, Srivastava S. Diagnostic potential of serum proteomic patterns in prostate cancer. *J Urol* 2003;170(2 Pt 1):442-6.
37. Bhanot G, Alexe G, Venkataraghavan B, Levine AJ. A robust meta-classification strategy for cancer detection from MS data. *Proteomics* 2006;6(2):592-604.

38. Li J, White N, Zhang Z, Rosenzweig J, Mangold LA, Partin AW, Chan DW. Detection of prostate cancer using serum proteomics pattern in a histologically confirmed population. *J Urol* 2004;171(5):1782-7.
39. Liu Y. Serum proteomic pattern analysis for early cancer detection. *Technol Cancer Res Treat* 2006;5(1):61-6.
40. Pan YZ, Xiao XY, Zhao D, Zhang L, Ji GY, Li Y, Yang BX, He DC, Zhao XJ. Application of surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight-based serum proteomic array technique for the early diagnosis of prostate cancer. *Asian J Androl* 2006;8(1):45-51.
41. Qu Y, Adam BL, Yasui Y, Ward MD, Cazares LH, Schellhammer PF, Feng Z, Semmes OJ, Wright GL, Jr. Boosted decision tree analysis of surface-enhanced laser desorption/ionization mass spectral serum profiles discriminates prostate cancer from noncancer patients. *Clin Chem* 2002;48(10):1835-43.
42. Yasui Y, Pepe M, Thompson ML, Adam BL, Wright GL, Jr., Qu Y, Potter JD, Winget M, Thornquist M, Feng Z. A data-analytic strategy for protein biomarker discovery: profiling of high-dimensional proteomic data for cancer detection. *Biostatistics* 2003;4(3):449-63.
43. Diamandis EP. Mass spectrometry as a diagnostic and a cancer biomarker discovery tool: opportunities and potential limitations. *Mol Cell Proteomics* 2004;3(4):367-78.
44. Drake RR, White KY, Fuller TW, Igwe E, Clements MA, Nyalwidhe JO, Given RW, Lance RS, Semmes OJ. Clinical collection and protein properties of expressed prostatic secretions as a source for biomarkers of prostatic disease. *J Proteomics* 2009;72(6):907-17.
45. Ferguson RE, Selby PJ, Banks RE. Proteomic studies in urological malignancies. *Contrib Nephrol* 2004;141:257-79.
46. Issaq HJ, Veenstra TD, Conrads TP, Felschow D. The SELDI-TOF MS approach to proteomics: protein profiling and biomarker identification. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;292(3):587-92.
47. Kommu S, Sharifi R, Edwards S, Eeles R. Proteomics and urine analysis: a potential promising new tool in urology. *BJU Int* 2004;93(9):1172-3.
48. Kuruma H, Egawa S, Oh-Ishi M, Kodera Y, Maeda T. Proteome analysis of prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2005;8(1):14-21.
49. Matharoo-Ball B, Ball G, Rees R. Clinical proteomics: discovery of cancer biomarkers using mass spectrometry and bioinformatics approaches--a prostate cancer perspective. *Vaccine* 2007;25 Suppl 2:B110-B121.
50. Ornstein DK, Tyson DR. Proteomics for the identification of new prostate cancer biomarkers. *Urol Oncol* 2006;24(3):231-6.
51. Parekh DJ, Ankerst DP, Troyer D, Srivastava S, Thompson IM. Biomarkers for prostate cancer detection. *J Urol* 2007;178(6):2252-9.
52. Ramirez ML, Nelson EC, Evans CP. Beyond prostate-specific antigen: alternate serum markers. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2008;11(3):216-29.

53. Risk MC, Lin DW. New and novel markers for prostate cancer detection. *Curr Urol Rep* 2009;10(3):179-86.
54. Roboz J. Mass spectrometry in diagnostic oncoproteomics. *Cancer Invest* 2005;23(5):465-78.
55. Schiffer E. Biomarkers for prostate cancer. *World J Urol* 2007;25(6):557-62.
56. Semmes OJ, Malik G, Ward M. Application of mass spectrometry to the discovery of biomarkers for detection of prostate cancer. *J Cell Biochem* 2006;98(3):496-503.
57. Steuber T, O'Brien MF, Lilja H. Serum markers for prostate cancer: a rational approach to the literature. *Eur Urol* 2008;54(1):31-40.
58. Wittke S, Schiffer E, Bauer HW. Kapillarelektrophorese gekoppelte Massenspektrometrie zur Proteomanalyse. Eine innovative diagnostische Methode bei Prostata- und Blasenkrebs. *Urologe A* 2007;46(7):733-9.
59. You J, Cozzi P, Walsh B, Willcox M, Kearsley J, Russell P, Li Y. Innovative biomarkers for prostate cancer early diagnosis and progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010;73(1):10-22.
60. Ahram M, Best CJ, Flaig MJ, Gillespie JW, Leiva IM, Chuaqui RF, Zhou G, Shu H, Duray PH, Linehan WM, Raffeld M, Ornstein DK, Zhao Y, Petricoin EF, III, Emmert-Buck MR. Proteomic analysis of human prostate cancer. *Mol Carcinog* 2002;33(1):9-15.
61. Cazares LH, Troyer D, Mendrinis S, Lance RA, Nyalwidhe JO, Beydoun HA, Clements MA, Drake RR, Semmes OJ. Imaging mass spectrometry of a specific fragment of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase 2 discriminates cancer from uninvolved prostate tissue. *Clin Cancer Res* 2009;15(17):5541-51.
62. Cheung PK, Woolcock B, Adomat H, Sutcliffe M, Bainbridge TC, Jones EC, Webber D, Kinahan T, Sadar M, Gleave ME, Vielkind J. Protein profiling of microdissected prostate tissue links growth differentiation factor 15 to prostate carcinogenesis. *Cancer Res* 2004;64(17):5929-33.
63. Deng X, Geng H, Bastola DR, Ali HH. Link test--A statistical method for finding prostate cancer biomarkers. *Comput Biol Chem* 2006;30(6):425-33.
64. Garbis SD, Tyrirtzis SI, Roumeliotis T, Zerefos P, Giannopoulou EG, Vlahou A, Kossida S, Diaz J, Vourekas S, Tamvakopoulos C, Pavlakis K, Sanoudou D, Constantinides CA. Search for potential markers for prostate cancer diagnosis, prognosis and treatment in clinical tissue specimens using amine-specific isobaric tagging (iTRAQ) with two-dimensional liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *J Proteome Res* 2008;7(8):3146-58.
65. Griffin TJ, Han DK, Gygi SP, Rist B, Lee H, Aebersold R, Parker KC. Toward a high-throughput approach to quantitative proteomic analysis: expression-dependent protein identification by mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom* 2001;12(12):1238-46.

66. Jin G, Zhou X, Cui K, Zhang XS, Chen L, Wong ST. Cross-platform method for identifying candidate network biomarkers for prostate cancer. *IET Syst Biol* 2009;3(6):505.
67. Lexander H, Palmberg C, Auer G, Hellstrom M, Franzen B, Jornvall H, Egevad L. Proteomic analysis of protein expression in prostate cancer. *Anal Quant Cytol Histol* 2005;27(5):263-72.
68. Lin JF, Xu J, Tian HY, Gao X, Chen QX, Gu Q, Xu GJ, Song JD, Zhao FK. Identification of candidate prostate cancer biomarkers in prostate needle biopsy specimens using proteomic analysis. *Int J Cancer* 2007;121(12):2596-605.
69. Liu AY, Zhang H, Sorensen CM, Diamond DL. Analysis of prostate cancer by proteomics using tissue specimens. *J Urol* 2005;173(1):73-8.
70. Miller JC, Zhou H, Kwekel J, Cavallo R, Burke J, Butler EB, Teh BS, Haab BB. Antibody microarray profiling of human prostate cancer sera: antibody screening and identification of potential biomarkers. *Proteomics* 2003;3(1):56-63.
71. Miura Y, Hato M, Shinohara Y, Kuramoto H, Furukawa J, Kurogochi M, Shimaoka H, Tada M, Nakanishi K, Ozaki M, Todo S, Nishimura S. BlotGlycoABCTM, an integrated glycoblotting technique for rapid and large scale clinical glycomics. *Mol Cell Proteomics* 2008;7(2):370-7.
72. Sardana G, Jung K, Stephan C, Diamandis EP. Proteomic analysis of conditioned media from the PC3, LNCaP, and 22Rv1 prostate cancer cell lines: discovery and validation of candidate prostate cancer biomarkers. *J Proteome Res* 2008;7(8):3329-38.
73. Schwamborn K, Krieg RC, Reska M, Jakse G, Knuechel R, Wellmann A. Identifying prostate carcinoma by MALDI-Imaging. *Int J Mol Med* 2007;20(2):155-9.
74. Semmes OJ, Feng Z, Adam BL, Banez LL, Bigbee WL, Campos D, Cazares LH, Chan DW, Grizzle WE, Izbicka E, Kagan J, Malik G, McLerran D, Moul JW, Partin A, Prasanna P, Rosenzweig J, Sokoll LJ, Srivastava S, Srivastava S, Thompson I, Welsh MJ, White N, Winget M, Yasui Y, Zhang Z, Zhu L. Evaluation of serum protein profiling by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for the detection of prostate cancer: I. Assessment of platform reproducibility. *Clin Chem* 2005;51(1):102-12.
75. Taylor BS, Pal M, Yu J, Laxman B, Kalyana-Sundaram S, Zhao R, Menon A, Wei JT, Nesvizhskii AI, Ghosh D, Omenn GS, Lubman DM, Chinnaiyan AM, Sreekumar A. Humoral response profiling reveals pathways to prostate cancer progression. *Mol Cell Proteomics* 2008;7(3):600-11.
76. Ummanni R, Junker H, Zimmermann U, Venz S, Teller S, Giebel J, Scharf C, Woenckhaus C, Dombrowski F, Walther R. Prohibitin identified by proteomic analysis of prostate biopsies distinguishes hyperplasia and cancer. *Cancer Lett* 2008;266(2):171-85.
77. Zheng Y, Xu Y, Ye B, Lei J, Weinstein MH, O'Leary MP, Richie JP, Mok SC, Liu BC. Prostate carcinoma tissue proteomics for biomarker discovery. *Cancer* 2003;98(12):2576-82.

78. Zimmermann U, Ummanni R, Junker H, Venz S, Teller S, Giebel J, Walther R. Erstellung eines Proteinprofils aus Gewebeprobe der Prostata. *Urologe A* 2007;46(9):1089-91.

Anhang

Oxford - Levels of Evidence (March 2009)

Level 1A	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	1a SR (with homogeneity*) of RCTs SR (with homogeneity*) of inception cohort studies; CDR† validated in different populations SR (with homogeneity*) of Level 1 diagnostic studies; CDR† with 1b studies from different clinical centres SR (with homogeneity*) of prospective cohort studies SR (with homogeneity*) of Level 1 economic studies
Level 1b	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	Individual RCT (with narrow Confidence Interval‡) Individual inception cohort study with > 80% follow-up; CDR† validated in a single population Validating** cohort study with good††† reference standards; or CDR† tested within one clinical centre Prospective cohort study with good follow-up**** Analysis based on clinically sensible costs or alternatives; systematic review(s) of the evidence; and including multi-way sensitivity analyses
Level 1c	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	All or none§ All or none case series Absolute SpPins and SnNouts†† All or none case-series Absolute better-value or worse-value analyses ††††
Level 2a	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	SR (with homogeneity*) of cohort studies SR (with homogeneity*) of either retrospective cohort studies or untreated control groups in RCTs SR (with homogeneity*) of Level >2 diagnostic studies SR (with homogeneity*) of 2b and better studies SR (with homogeneity*) of Level >2 economic studies
Level 2b	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	Individual cohort study (including low quality RCT; e.g., <80% followup) Retrospective cohort study or follow-up of untreated control patients in an RCT; Derivation of CDR† or validated on split sample §§§ only Exploratory** cohort study with good††† reference standards; CDR† after derivation, or validated only on split-sample§§§ or databases Retrospective cohort study, or poor follow-up Analysis based on clinically sensible costs or alternatives; limited review(s) of the evidence, or single studies; and including multi-way sensitivity analyses
Level 2c	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	"Outcomes" Research; Ecological studies "Outcomes" Research Ecological studies Audit or outcomes research

Level 3a	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	SR (with homogeneity*) of case-control studies SR (with homogeneity*) of 3b and better studies SR (with homogeneity*) of 3b and better studies SR (with homogeneity*) of 3b And better studies
Level 3b	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	Individual Case-Control Study Non-consecutive study; or without consistently applied reference standards Non-consecutive cohort study, or very limited population Analysis based on limited alternatives or costs, poor quality estimates of data, but including sensitivity analyses Incorporating clinically sensible variations.
Level 4	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	Case-series (and poor quality cohort and casecontrol studies§§) Case-series (and poor quality prognostic cohort studies***) Case-control study, poor or nonindependent reference standard Case-series or superseded reference standards Analysis with no sensitivity analysis
Level 5	Therapy/Prevention, Aetiology/Harm Prognosis Diagnosis Differential diag/symptom prevalence Economic and decision analyses	Expert opinion without explicit critical appraisal, or based on physiology, bench research or "first principles" Expert opinion without explicit critical appraisal, or based on physiology, bench research or "first principles" Expert opinion without explicit critical appraisal, or based on physiology, bench research or "first principles" Expert opinion without explicit critical appraisal, or based on physiology, bench research or "first principles" Expert opinion without explicit critical appraisal, or based on economic theory or "first principles"

NOTES

Users can add a minus-sign "-" to denote the level of that fails to provide a conclusive answer because:

EITHER a single result with a wide Confidence Interval

OR a Systematic Review with troublesome heterogeneity.

Such evidence is inconclusive, and therefore can only generate Grade D recommendations.

*	By homogeneity we mean a systematic review that is free of worrisome variations (heterogeneity) in the directions and degrees of results between individual studies. Not all systematic reviews with statistically significant heterogeneity need be worrisome, and not all worrisome heterogeneity need be statistically significant. As noted above, studies displaying worrisome heterogeneity should be tagged with a "-" at the end of their designated level.
†	Clinical Decision Rule. (These are algorithms or scoring systems that lead to a prognostic estimation or a diagnostic category.)
‡	See note above for advice on how to understand, rate and use trials or other studies with wide confidence intervals.
§	Met when all patients died before the Rx became available, but some now survive on it; or when some patients died before the Rx became available, but none now die on it.
§§	By poor quality cohort study we mean one that failed to clearly define comparison groups and/or failed to measure exposures and outcomes in the same (preferably blinded), objective way in both exposed and nonexposed individuals and/or failed to identify or appropriately control known confounders and/or failed to carry out a sufficiently long and complete follow-up of patients. By poor quality case-control study we mean one that failed to clearly define comparison groups and/or failed to measure exposures and outcomes in the same (preferably blinded), objective way in both cases and controls and/or failed to identify or appropriately control known confounders.
§§§	Split-sample validation is achieved by collecting all the information in a single tranche, then artificially dividing this into "derivation" and "validation" samples.
††	An "Absolute SpPin" is a diagnostic finding whose Specificity is so high that a Positive result rules-in the diagnosis. An "Absolute SnNout" is a diagnostic finding whose Sensitivity is so high that a Negative result rules out the diagnosis.
‡‡	Good, better, bad and worse refer to the comparisons between treatments in terms of their clinical risks and benefits.
†††	Good reference standards are independent of the test, and applied blindly or objectively to applied to all patients. Poor reference standards are haphazardly applied, but still independent of the test. Use of a non-independent reference standard (where the 'test' is included in the 'reference', or where the 'testing' affects the 'reference') implies a level 4 study.
††††	Better-value treatments are clearly as good but cheaper, or better at the same or reduced cost. Worse-value treatments are as good

	and more expensive, or worse and the equally or more expensive.
**	Validating studies test the quality of a specific diagnostic test, based on prior evidence. An exploratory study collects information and trawls the data (e.g. using a regression analysis) to find which factors are 'significant'.
***	By poor quality prognostic cohort study we mean one in which sampling was biased in favour of patients who already had the target outcome, or the measurement of outcomes was accomplished in <80% of study patients, or outcomes were determined in an unblinded, non-objective way, or there was no correction for confounding factors.
****	Good follow-up in a differential diagnosis study is >80%, with adequate time for alternative diagnoses to emerge (for example 1-6 months acute, 1 – 5 years chronic).

Oxford Centre for Evidence-based Medicine Levels of Evidence (March 2009)
(for definitions of terms used see glossary at <http://www.cebm.net/?o=1116>)

Produced by Bob Phillips, Chris Ball, Dave Sackett, Doug Badenoch, Sharon Straus, Brian Haynes, Martin Dawes since November 1998. Updated by Jeremy Howick March 2009.