

Urinlösliche Tumormarker beim Blasenkarzinom

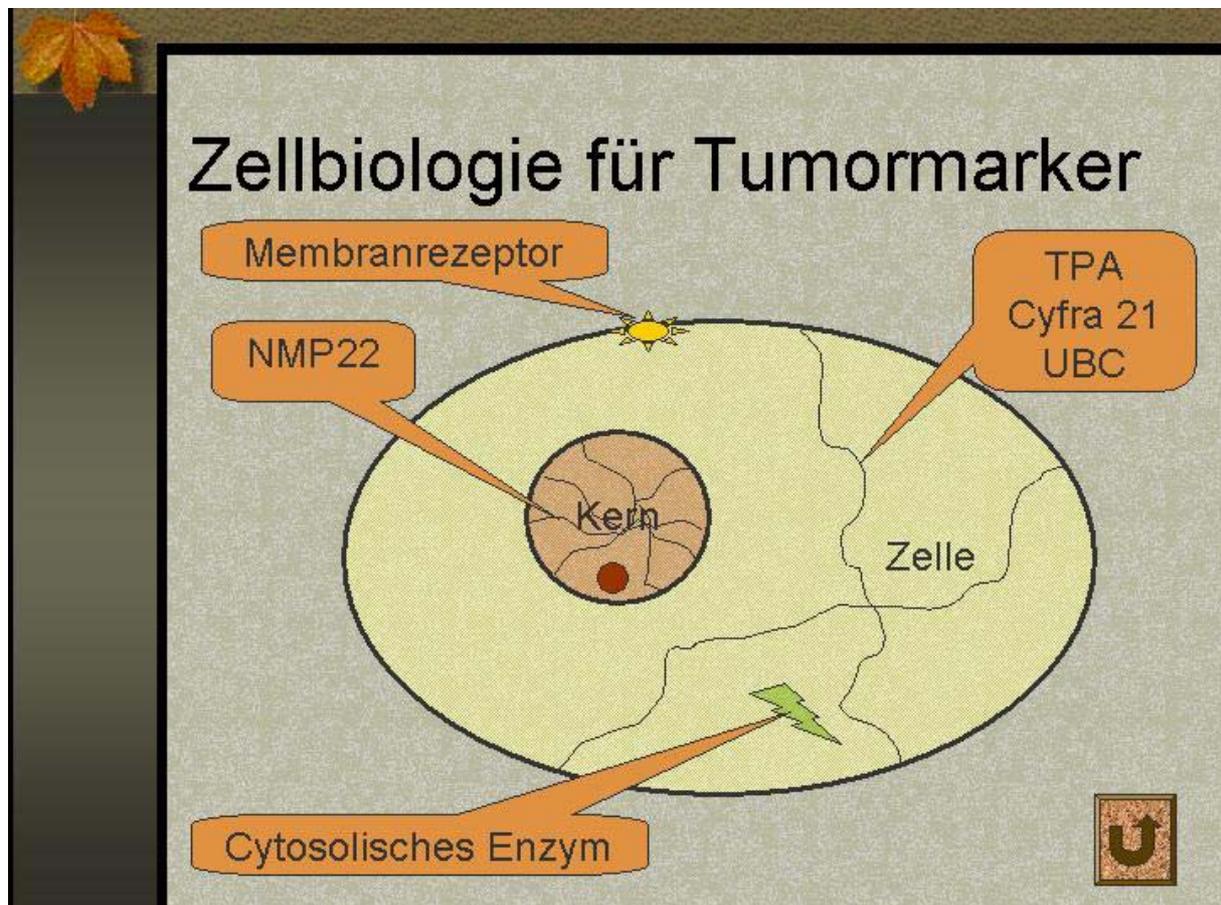
Physiologische Grundlagen

Damit eine Substanz im Urin als Tumormarker gemessen werden kann, müssen bestimmte Voraussetzungen erfüllt sein.

1. Die Substanz muss eine hohe Affinität zum Blasenkarzinom besitzt.
2. Die Substanz muss in gelöster Form in den Urin abgegeben werden und ausreichend lange stabil bleiben.
3. Einen Übertritt der Substanz aus der Niere, und damit aus der Blutbahn in den Urin, muss ausgeschlossen sein.

Zu eins:

Im Verlauf der letzten Jahre ist es gelungen, eine Vielzahl von Substanzen zu identifizieren, die mit bösartigen Gewebeveränderungen an der Harnblase verbunden werden können. Hierbei handelte sich hauptsächlich um Eiweißstoff, die Mittels immunologischer Testsysteme (ELISA) gemessen werden können. In allen Fällen wird die jeweilige Substanz von Tumorzellen des Harnblasenkarzinoms in den Urin freigesetzt. Da sowohl an der Zelloberfläche im Zellkörper selbst und im Zellkern tumorspezifische Veränderungen ablaufen, sind Testsysteme zu Antigenen aus all diesen Zellabschnitten entwickelt worden. Zur Verdeutlichung betrachten Sie bitte die Schemazeichnung.



Schemazeichnung

Zu zwei:

Im Rahmen der Tumorentstehung an der Oberfläche der Blaseninnenhaut (Urothel) kommt es zur Vermehrung von Zellmaterial. Von diesem bösartigen Tumor lösen sich Zellen kontinuierlich ab (Desquamation). Diese abgelösten Zellen lösen sich im Urin auf und dadurch wird die jeweilige Testsubstanz in den Urin freigesetzt. Ferner sterben in den Tumorzellenverbänden vermehrt Zellen ab (Apoptose), was ebenfalls zur vermehrten Freisetzung der jeweiligen Testsubstanz in den Urin führt. Bei fortgeschrittenen Tumoren kommt es außerdem zum Absterben von Tumormaterial (Nekrose). Auch hierbei wird die Testsubstanz in gelöster Form in den Urin (meist vermehrt) freigesetzt. Jeder einzelne dieser Vorgänge und auch eine Kombination dieser einzelnen Vorgänge führt zur gesteigerten Freisetzung der urinlöslichen Tumormarker.

Zu drei:

Die Moleküle, die als urinlösliche Tumormarker in Frage kommen, müssen eine solche Größe besitzen, dass sie nicht aus der Blutbahn durch die Niere frei in den Urin filtriert werden können. Dies ist für die etablierten urinlöslichen Tumormarker gegeben.

Verfügbare urinlösliche Tumormarker zur Diagnostik des Blasenkarzinoms

Vom niedergelassenen Urologen anwendbare Testsysteme

1. : Nukleäres Matrixprotein
22

Erster und bislang einziger urinlöslicher Tumormarker, der die Zertifizierung durch die FDA



(Amerikanische Food and Drug Administration Behörde) besitzt. Hierbei ist besonders zu bemerken, dass sowohl das Testsystem (inklusive der Probengewinnung) zum Nachweis von NMP 22 wie auch das Molekül NMP 22 als urinlöslicher Tumormarker geprüft wurde. Damit ist dieses Nachweissystem durch die strengsten Kontrollen gegangen, und die vorgelegten Prüfdaten waren so überzeugend, dass die amerikanische Zulassungsbehörde diesen Test als tauglich und aussagesicher beurteilt hat. Damit besitzt NMP 22 als zweiter Tumormarker auf der Welt (nachdem PSA Test, für das Prostatakarzinom) eine FDA-Zulassung. Die Zulassung erstreckt sich sowohl auf das Screening für Blasenkarzinom als auch auf die Verlaufskontrolle nach Blasenkarzinomerkrankung.

Der Test existiert inzwischen in drei Messsystemen, dem [quantitativen NMP 22 ELISA](#), dem [quantitativen NMP22 Laborautomatentest Immulite](#) und einem [NMP 22 Schnelltest BladderChek™](#). Auch der Schnelltest ist inzwischen FDA zertifiziert.

2. UBC: Urinary bladder cancer antigen

Dieser Test kann von einem Urologen in einem Labor bestimmt werden lassen. Eine Zulassungsprüfung für diesen Testparameter gibt es bislang nicht. Methodisch verbindliche Prozeduren zur Probengewinnung und Stabilisierung existieren ebenfalls nicht.

3. Cyfra 21: Cytoskeletales Antigen

Dieser Test kann von einem Urologen in einem Labor bestimmt werden lassen. Eine Zulassungsprüfung für diesen Testparameter gibt es bislang nicht. Methodisch verbindliche Prozeduren zur Probengewinnung und Stabilisierung existieren ebenfalls nicht.

In forschenden Kliniken angewandte Testsysteme

1. Telomerase: Zellkernenzym
2. Lewis X: Blutgruppenantigen
3. TPA: Tissue polypeptide antigen

Quantitativer NMP 22 ELISA

Methodik:

- Probengewinnung:
 - Erster Schritt

Anweisung zum Urinsammeln

Schritt 1

Nehmen Sie einen großen **Plastik-Harnsammelbehälter** (kein Glas !) und urinieren Sie in diesen. Die Urinabnahme muß **zwischen 00:00 Uhr und 12:00 Uhr** durchgeführt werden !



- Zweiter Schritt

Schritt 2

Nehmen Sie das kleine Plastikfläschchen und schrauben Sie es auf. (In diesem Behälter ist eine dicke blaue Schutzflüssigkeit. Vorsichtig öffnen, so daß der Inhalt nicht verschüttet wird).

ACHTUNG

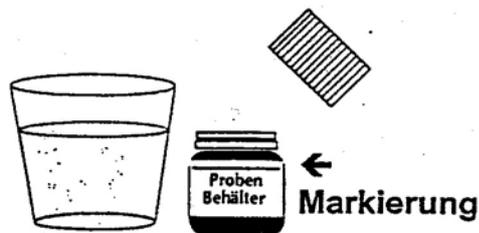


- Dritter Schritt

Schritt 3

Soviel Harn vom Sammelbecher in das kleine Probenfläschchen umfüllen, bis die Markierung auf dem Etikett erreicht ist.

Bitte beachten: Füllen Sie den Harn sofort nach dem Urinieren in das Stabilisatorfläschchen (bis zum oberen Rand der blauen Markierung !)



- Vierter Schritt
-

Schritt 4

Das Probenfläschchen fest verschließen.



- Fünfter Schritt
-

Schritt 5

Den restlichen Urin im Harnsammelbecher in die Toilette entsorgen und den Becher in den Abfall werfen.



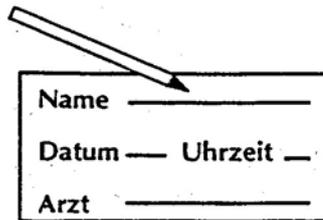
- Sechster Schritt

Schritt 6

Schreiben Sie bitte

- Ihren Namen
- den Namen Ihres Arztes
- das Datum und die Uhrzeit der Probenahme auf einen Zettel und senden Sie die Probe sofort (innerhalb 48 Stunden) an Ihren Urologen oder Laborarzt.

Beim Laborarzt muß die Probe vor dem Einfrieren unbedingt abzentrifugiert werden.



| | |
|-------|---------------------|
| Name | _____ |
| Datum | _____ Uhrzeit _____ |
| Arzt | _____ |

- Messung mittels ELISA-Reader und Handaufarbeitung der Probe



Die gewonnene, stabilisierte Urinprobe ([siehe oben](#)) wird im Labor zuerst zentrifugiert. Der Überstand wird abgenommen und ein Teil als Probe in die Microtiterplatte gegeben. Nachfolgend wird die Probe mittels Inkubationsschritten und Waschschritten aufgearbeitet und dann in einem ELISA-Reader gemessen. Das Gerät gibt dann den Messwert aus, der dem Arzt übermittelt wird.

- Messung mittels Immulite Laborsystem (Halbautomat)

Die gewonnene, stabilisierte Urinprobe ([siehe oben](#)) wird im Labor zuerst zentrifugiert. Der Überstand wird abgenommen und ein Teil als Probe in ein



Reaktionsgefäß gegeben. Nachfolgend übernimmt der Laborautomat die komplette Probenverarbeitung. Am Ende dieses Prozesses wird ebenfalls der Messwert als Zahl ausgegeben. Dieser Wert wird dem Arzt übermittelt. Diese Technik ist im Besonderen für medizinische Großlabore gedacht. So kann auch ein

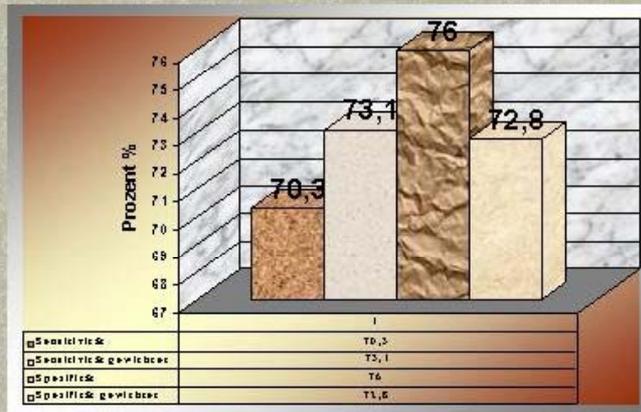
Probenaufkommen von mehreren hundert Proben NMP 22 am Tag bearbeitet werden. Das Messgerät ist jedoch für eine Vielzahl von möglichen Parametern im Labor einsetzbar.

Anwendung:

Im Einsatzbereich des Screenings kann NMP 22 aus dem Urin von Personen mit erhöhtem Risiko für die Entwicklung eines Blasenkarzinoms bestimmt werden. Hierbei spielt es dann keine Rolle, ob die Personen Symptome für das Blasenkarzinom besitzen oder nicht. Für diese Anwendung wird der Grenzwert auf sieben Units pro Milliliter festgesetzt. Wenn der Messwerte von sieben Units pro Milliliter überschritten wird, besteht ein erhöhtes Risiko dafür, das eventuell eine Blasenkrebskrankung vorliegen könnte. Durch fachurologisch begleitende Diagnostik und Erhebung der Krankengeschichte muss geprüft werden, ob Ausschlusskriterien für diesen Test bei der zu untersuchenden Person vorliegen. Erst wenn dies ausgeschlossen werden kann, erhält der gemessene Zahlenwert größer sieben eine klinische Bedeutung. Hiernach muss eine Blasenspiegelung erfolgen, um eine Klärung des Risikopatienten zu erreichen. Erst eine Gewebeentfernung mit nachfolgender pathologischer Untersuchung sichert die Diagnose. Die gemessene Zahl für NMP ergibt niemals eine Diagnose.

Im Einsatzbereich der Tumornachsorge kann NMP 22 aus dem Urin von ehemaligen Tumorträgern gewonnen werden. Bei Personen mit erhöhtem NMP 22 vor der Tumorsektion ist die Aussagekraft des Messparameters höher als bei primär Marker-negativen Personen. Routinemäßig ist für diesen Einsatzbereich der Grenzwert auf zehn Units pro Milliliter eingestellt. Aus fast 50 Publikationen seit dem Jahr 1996 bis 2002 errechnet sich bei fast neuntausend untersuchten Probanden eine Nachweisrate für Blasenkarzinome von fast 75%.

Metaanalyse zu NMP22 over all Sensitivität & Spezifität



- NMP22 Publikationen 81
- Auswertbare Publikationen 43
- Untersuchte Proben 8871
- Zeitraum 1996-2002

Zur Verlaufskontrolle nur sollte ein Formular ausgefüllt werden, welches den zeitlichen Verlauf der NMP 22 Werte darstellt.

[Formular siehe letzte Seite.](#)

BladderChek™ Point of Care Test



Idealerweise sollte das Gefäß zur Urin-Sammlung steril sein, um dem Urologen die Chance zu bieten, aus dem gewonnenen Urin gleichzeitig noch andere Untersuchungen zum Beispiel auf vorhandene Entzündungen durchzuführen. Es ist jedoch nicht zwingend erforderlich dass das Gefäß steril ist. Zwingend erforderlich ist allerdings dass es aus Plastik ist, da NMP 22 als Moleküle an den Glaswänden von Glasgefäßen bindet und dann nicht mehr messbar ist.

Die Urinprobe sollte danach mit einer kleinen beiliegenden Pipette in die kreisrunde Auffangöffnung des Testsystems gegeben werden. Hierbei werden vier Tropfen direkt nacheinander eingefüllt. Das Testsystem wird danach bei Raumtemperatur für 30 Minuten in horizontaler Lage sich selbst überlassen. Alle chemischen Reaktionen laufen automatisch ab. Am Ende dieser Zeit nicht jedoch später als 50 Minuten nach der Probeneinfüllung kann das Ergebnis der Untersuchung am System abgelesen werden. Ein positiver NMP 22 Wert (größer zehn Units pro Milliliter) wird dadurch erkennbar, dass zwei Markierungslinien am Teststreifen zuerkennen sind. Bei nur einem Streifen ist der Test negativ (d. h. NMP22 ist nicht erhöht).

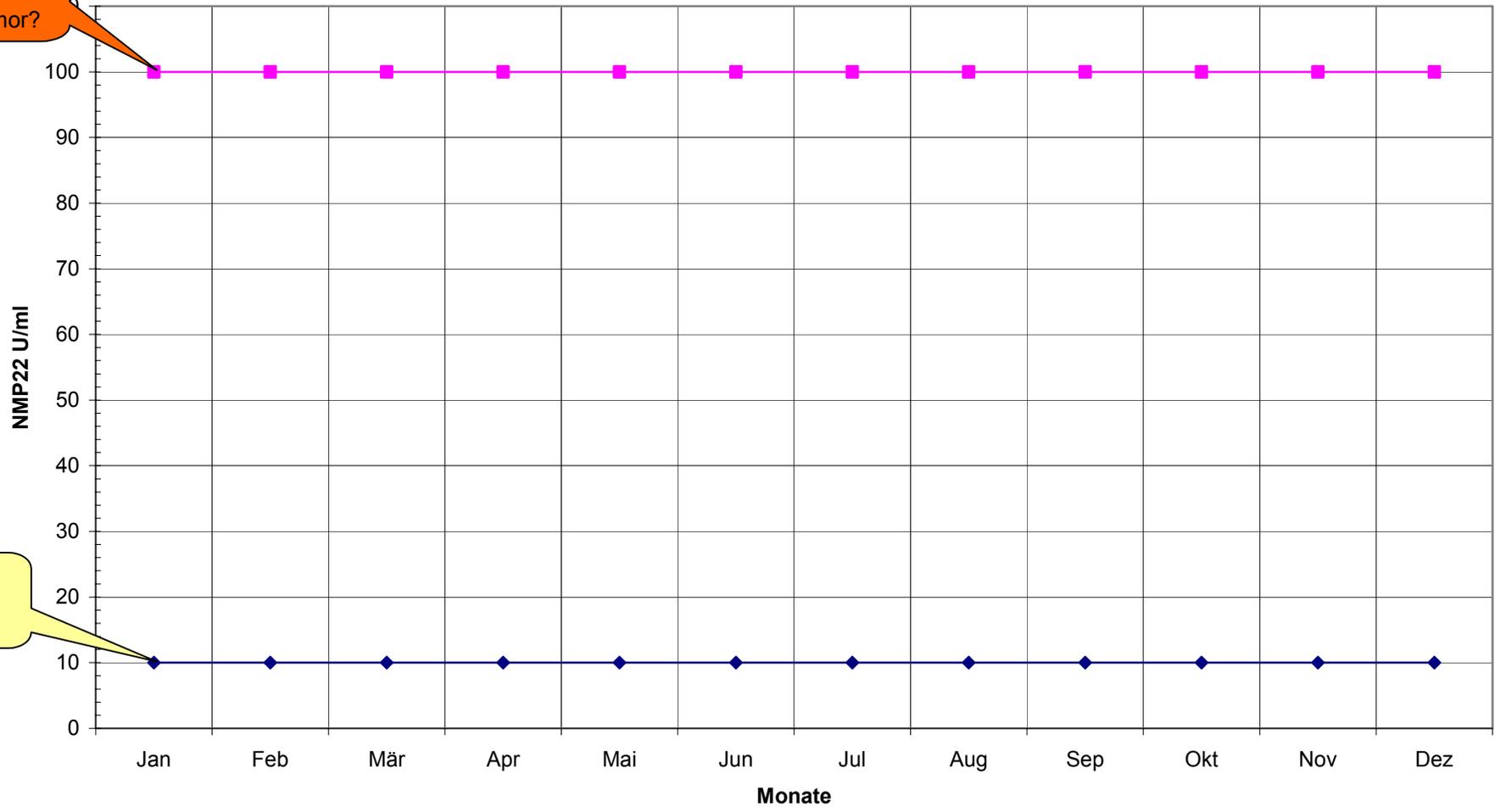


NMP22 - Verlaufsbogen

Jahr: 20__

Name _____ Vorname _____ Geburtsdatum _____

extremes
Risiko
Fremdtumor?



cut - off
Wert
10U/ml