

Aus der Universitätsklinik für Urologie Tübingen

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. A. Stenzl

**Die Wertigkeit des UBC-Point-of-Care Tests in der
Diagnostik des Urothelkarzinoms - Untersuchung
einer repräsentativen Standardpopulation**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
René Benjamin Ritter
aus
Frankfurt am Main**

2013

Dekan:	Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Professor Dr. C. Schwentner
2. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. H.-G. Kopp

Für meine Eltern Gabriele und Albrecht

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 - Prozentualer Anteil ausgewählter Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2006	1
Abb. 2 - Abklärungsalgorithmus der Mikrohämaturie.....	4
Abb. 3 - Papilläres Harnblasenkarzinom	7
Abb. 4 - Papilläres Harnblasenkarzinom unter photodynamischer Diagnostik.....	7
Abb. 5 - Schema Durchführung UBC Rapid Test	31
Abb. 6 - concile Ω 100 Reader	32
Abb. 7 - Aufbau des Messsystems im concile Ω 100 Reader	32
Abb. 8 - Aufbau des Messsystems im concile Ω 100 Reader	33
Abb. 9 - Selbsttest der CCD-Kamera, CCD-Foto des Teststreifens.....	33
Abb. 10 - NMP22 BladderChek® Schnelltest	34
Abb. 11 - Mikroskopische Betrachtung einer Urinzytologie	37
Abb. 12 - Altersverteilung der Patienten in Jahren	42
Abb. 13 - Geschlechtsverteilung	42
Abb. 14 - Verhältnis Tumorpationen zu Patienten ohne Tumornachweis	43
Abb. 15 - Geschlechtsverteilung der Tumorpationen.....	43
Abb. 16 - TNM-Tumorstadien.....	44
Abb. 17 - Tumor-Grading	44
Abb. 18 - Vergleich visuelle Auswertung Serie UBC (I) und UBC (II)	45
Abb. 19 - Sensitivitäten und Spezifitäten nach Cut-Off-Wert	48
Abb. 20 - Sensitivitäten in Abhängigkeit des T-Stadiums	50
Abb. 21 - Sensitivitäten in Abhängigkeit des Tumor-Gradings.....	51
Abb. 22 - Lineare Regression für UBC (I) & UBC (II).....	52
Abb. 23 - ROC alle Patienten UBC (I) & UBC (II).....	53
Abb. 24 - ROC Primärdiagnostik UBC (I) & UBC (II)	54
Abb. 25 - ROC Rezidivdiagnostik UBC (I) & UBC (II).....	55
Abb. 26 - Sensitivitäten nach T-Stadium und Tumor-Grading UBC Reader	56
Abb. 27 - Lineare Regression der beiden ELISA-Messungen	57
Abb. 28 - ROC alle Patienten UBC (I) ELISA & UBC (II) ELISA	58
Abb. 29 - ROC Primärdiagnostik UBC (I) ELISA & UBC (II) ELISA	59
Abb. 30 - ROC Rezidivdiagnostik UBC (I) ELISA & UBC (II) ELISA	59
Abb. 31 - Sensitivitäten nach T-Stadien und Grading UBC-ELISA	60
Abb. 32 - Lineare Regression der Messungen von ELISA und Reader	61
Abb. 33 - Sensitivitäten der unterschiedlichen Messverfahren im Vergleich.....	62

Abb. 34 - Rate der falsch-positiven Befunde bei Patienten ohne Tumornachweis.....	67
Abb. 35 - Rate der falsch-negativen Befunde bei Patienten mit Tumornachweis.....	67
Abb. 36 - Modell der graphischen Ergebnisdarstellung im Reader.....	80

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 - TNM-Stadien des Harnblasenkarzinoms nach UICC 2009.....	9
Tab. 2 - Nicht-invasive Urinumormarker.....	17
Tab. 3 - Sensitivität und Spezifität Urinzytologie	18
Tab. 4 - Sensitivität und Spezifität BTA.....	19
Tab. 5 - Sensitivität und Spezifität BTA-Stat	20
Tab. 6 - Sensitivität und Spezifität BTA-TRAK	21
Tab. 7 - Sensitivität und Spezifität NMP22	22
Tab. 8 - Sensitivität und Spezifität NMP22 BladderChek.....	22
Tab. 9 - Sensitivität und Spezifität UBC ELISA	26
Tab. 10 - Sensitivität und Spezifität UBC Rapid	26
Tab. 11 - Beispiel einer Kontingenztafel.....	39
Tab. 12 - Kontingenztafel deutlich positive Bande UBC (I).....	46
Tab. 13 - Kontingenztafel deutlich positive Bande UBC (II).....	46
Tab. 14 - Kontingenztafel schwach positive Bande UBC (I) + UBC (II).....	47
Tab. 15 - Kontingenztafel jede positive Bande UBC (I)	47
Tab. 16 - Kontingenztafel jede positive Bande UBC (II)	48
Tab. 17 - Kontingenztafel Urinzytologie.....	68
Tab. 18 - Kontingenztafel NMP22 BladderChek	69

Inhalt

1. EINLEITUNG	1
1.1 HARNBLASENKARZINOM.....	1
1.1.1 <i>Epidemiologie</i>	1
1.1.2 <i>Ätiologie</i>	2
1.1.3 <i>Symptomatik</i>	3
1.1.4 <i>Diagnostik</i>	4
1.1.5 <i>Histologische Einteilung</i>	7
1.1.6 <i>Therapie nicht-muskelinvasiver Blasentumore</i>	9
1.1.7 <i>Therapie muskelinvasiver, nicht metastasierter Blasentumore</i>	11
1.1.8 <i>Therapie metastasierter Blasentumore</i>	13
1.1.9 <i>Nachsorge</i>	14
1.1.10 <i>Prognose</i>	15
1.2. NICHT-INVASIVE URINTUMORMARKER	15
1.2.1 <i>Urinzytologie</i>	17
1.2.2 <i>BTA</i>	19
1.2.3 <i>BTA stat</i>	20
1.2.4 <i>BTA-TRAK</i>	21
1.2.5 <i>NMP22</i>	21
1.2.6 <i>CYFRA 21-1</i>	23
1.2.7 <i>BLCA-4</i>	23
1.2.8 <i>Survivin</i>	23
1.2.9 <i>HA-HAase</i>	24
1.3 <i>UBC</i>	24
1.4 <i>FRAGESTELLUNG</i>	27
2. MATERIAL UND METHODEN	28
2.1 <i>PATIENTENKOLLEKTIV</i>	28
2.2 <i>AUSSCHLUSSKRITERIEN</i>	28
2.3 <i>UNTERSUCHUNGSABLAUF</i>	29
2.3.1 <i>Urinstatus</i>	29
2.3.2 <i>UBC Rapid</i>	30

2.3.3 NMP22 BladderChek®.....	33
2.3.4 UBC ELISA	34
2.3.5 Urinzytologie	35
2.4 DATENERFASSUNG.....	38
2.5 STATISTISCHE ANALYSE	38
2.6 BERECHNUNGEN.....	39
2.6.1 Kontingenzanalysen und Berechnungen der Testwertigkeiten.....	39
2.6.2 Receiver operating characteristic Kurven und Area under the curve ..	40
2.6.3 Lineare Regressionen	40
2.7 ETHIK.....	41
2.8 DATENSCHUTZ.....	41
3. ERGEBNISSE	42
3.1 PATIENTENKOLLEKTIV.....	42
3.1.1 Alters- und Geschlechtsverteilung des Patientenkollektivs	42
3.1.2 Alters- und Geschlechtsverteilung der Patienten mit positivem Tumornachweis.....	42
3.1.3 Tumorstadium und Malignitätsgrad.....	43
3.1.4 Unterteilung Primär- und Rezidiv-Tumoren.....	44
3.2 ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN	44
3.2.1 Visuelle Auswertung.....	45
3.2.3 Ergebnisse des concile® Ω100 Reader	51
3.2.4 Ergebnisse der Messungen des UBC-ELISA.....	56
3.2.5 Vergleich der Messwerte von Reader und UBC-ELISA	61
3.2.6 Vergleich der Sensitivitäten nach T-Stadien und Grading.....	61
3.2.7 Potenzielle Einflussgrößen.....	62
3.2.8 Vergleichende Messungen anderer Urinparameter im Kollektiv.....	68
4. DISKUSSION.....	70
4.1 URINBASIERTE TUMORMARKER IN DER DIAGNOSTIK DES UROTHELKRZINOMS .	70
4.2 EINSATZGEBIETE URINBASIERTER TUMORMARKER	71
4.3 LIMITATIONEN DER HEUTE EINGESETZTEN URINMARKER	72
4.3.1 Technische Limitationen.....	72

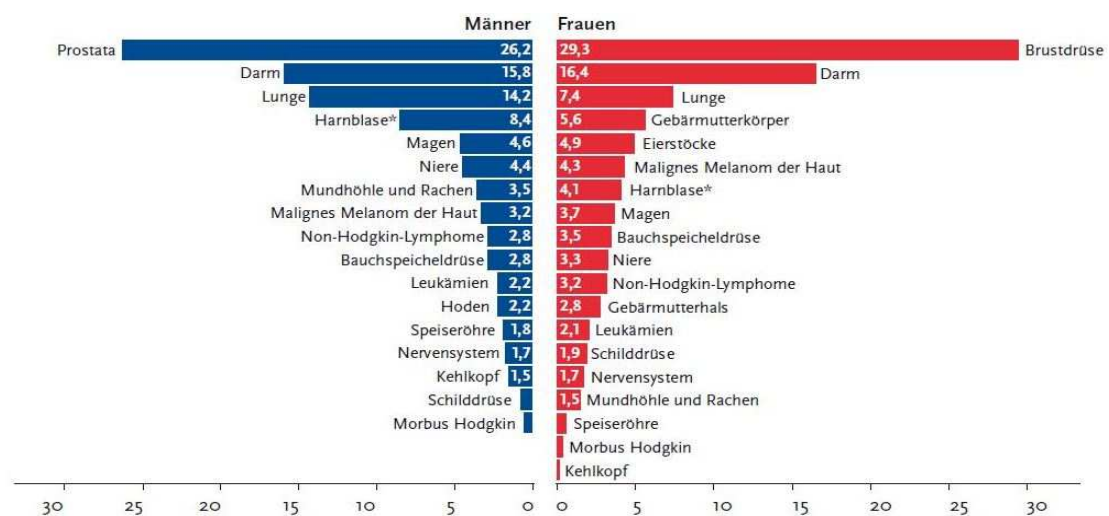
4.3.2 Störfaktoren.....	73
4.4 DIAGNOSTISCHE WERTIGKEIT ERHÄLTLICHER POC-SYSTEME	77
4.5 LIMITATION EINES LATERAL-FLOW SYSTEMS	78
4.6 MÖGLICHKEITEN DER DARSTELLUNG VON STETIGEN VARIABLEN EINES POC-TESTS.....	79
4.7 LIMITATION DER VORLIEGENDEN ARBEIT.....	81
4.7.1 Patientenkollektiv	81
4.7.2 Untersucherabhängigkeit	81
4.7.3 Oberer Harntrakt	82
4.8 SCHLUSSFOLGERUNGEN.....	82
5. ZUSAMMENFASSUNG.....	84
6. ABKÜRZUNGEN.....	85
7. LITERATURVERZEICHNIS.....	87
8. ANHANG	97
DANKSAGUNG	97
LEBENS LAUF	98

1. Einleitung

1.1 Harnblasenkarzinom

1.1.1 Epidemiologie

Das Harnblasenkarzinom stellt nach dem Prostatakarzinom den zweithäufigsten malignen urologischen Tumor dar. Die Zahl der Neuerkrankungen in Deutschland betrug 2006 bei den Männern 19360 sowie bei den Frauen 8090, was einem Risikoverhältnis Männer:Frauen von etwa 2,4:1 entspricht. Damit lag das Harnblasenkarzinom bei der prozentualen Verteilung der Krebsneuerkrankungen bei den Männern mit 8,4% auf Platz 4, bei den Frauen mit 4,1% auf Platz 7 [Robert Koch-Institut, 2010]. Es tritt vor dem 45. Lebensjahr nur sehr selten auf. Die Inzidenz betrug in Deutschland 2006 altersspezifisch für Männer 5,6 Fälle auf 100.000 Einwohner in der Gruppe der 40-45jährigen gegenüber 199 Fällen auf 100.000 Einwohner bei den 70-74jährigen [Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland, 2012]. Das mittlere Erkrankungsalter beträgt 72 Jahre für Männer sowie 74 Jahre für Frauen [Robert Koch-Institut, 2010]. Im Verlauf der letzten 3 Jahrzehnte kam es zu einem deutlichen Anstieg der Inzidenz bis etwa Mitte der 1990er Jahre. Danach war die Inzidenz wieder leicht rückläufig.



*einschließlich bösartiger Neubildungen in situ und Neubildungen unsicheren Verhaltens

Abb. 1 - Prozentualer Anteil ausgewählter Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen ohne nicht-melanotischen Hautkrebs in Deutschland 2006

1.1.2 Ätiologie

Zahlreiche Risikofaktoren sind für das Harnblasenkarzinom mittlerweile allgemein anerkannt [Kälble, 2001, Leppert et al., 2006]

Zigarettenrauch

Bei Männern in Europa können etwa die Hälfte der neu auftretenden Harnblasenkarzinome auf Rauchen zurückgeführt werden. Bei den Frauen beträgt diese Quote etwa ein Drittel. Als karzinogene Substanz konnte hier durch verschiedene Studien 2-Naphthylamin nachgewiesen werden [Hoffmann et al., 1976].

In Bezug auf die Karzinomentstehung haben vor allem die Dauer des Konsums sowie die Anzahl der Zigaretten pro Tag einen großen Einfluss auf das Risiko. Nach Beendigung des Zigarettenkonsums sinkt dieses Risiko deutlich ab. Die Latenz ist jedoch erheblich, so dass das Risiko auch nach 25 Jahren Abstinenz noch nicht das eines Nichtraucher erreicht hat [Rübben, 2007].

Aromatische Amine

Diverse Studien, die ersten bereits 1938 im Tierversuch [Hueper, 1938], konnten mittlerweile die karzinogene Wirkung mehrerer aromatischer Amine nachweisen. Für 2-Naphtylamin etwa konnte eine 7fach erhöhte Blasentumorinzidenz im Vergleich zu nicht exponierten Personen nachgewiesen werden [Schulte et al., 1986]. Etwa ein Viertel der malignen Blasentumore wird heute auf eine berufliche Exposition zurückgeführt [Sadetzki et al., 2000]. Auch wenn diese Zahl in den nächsten Jahren auf Grund erhöhter Sicherheitsmaßnahmen sinken wird, wird es auf Grund einer Latenz von bis zu 20 Jahren weiterhin Blasentumore durch berufliche Exposition geben.

Medikamente

Bei mehreren Medikamenten, so zum Beispiel dem Chemotherapeutikum Cyclophosphamid, konnte eine karzinogene Wirkung auf das Urothel belegt werden. Im Fall von Cyclophosphamid kommt es als Nebenwirkung zu einer

chemisch induzierten Zystitis, welche auch asymptomatisch verlaufen, und als Langzeitfolge ein Urothelkarzinom verursachen kann [Fairchild et al., 1979].

Auch für Phenacetin, der Vorgängerzsubstanz des antiphlogistischen sowie antipyretischen Medikamentes Paracetamol, konnte Mitte der 1980er Jahre eine karzinogene Wirkung für die Entstehung von Urothelkarzinomen, hier allerdings primär im oberen Harntrakt, nachgewiesen werden. Diese Substanz ist heute nicht mehr zugelassen.

Chronische Entzündung, Dauerkatheter

Eine über viele Jahre bestehende Dauerkatheterversorgung führt häufig zu einer chronischen Entzündungsreaktion der Blasenschleimhaut, welche wiederum im Langzeitverlauf zur Entstehung von Harnblasenkarzinomen führen kann. Dies sind jedoch zumeist Plattenepithelkarzinome [Kaufman et al., 1977].

Flüssigkeitszufuhr

Eine erhöhte Flüssigkeitszufuhr von 2,5 Litern täglich konnte als protektiver Faktor für die Entstehung eines Harnblasenkarzinoms detektiert werden. Insbesondere bei Rauchern ist diese protektive Wirkung deutlich [Michaud et al., 1999].

1.1.3 Symptomatik

Erste Anzeichen eines Harnblasentumors können sowohl eine schmerzlose Mikro- oder Makrohämaturie (80-90%) als auch das Beschwerdebild eines klassischen Harnwegsinfektes mit Dysurie, Algurie und Pollakisurie bis hin zur Inkontinenz sein. Flankenschmerzen durch Harnstau, in Folge der Verlegung eines oder beider Ostien durch den Tumor, sind ebenfalls möglich. Es findet sich auch die klassische B-Symptomatik mit Gewichtsverlust und Nachtschweiß, sie ist jedoch meist das Zeichen einer fortgeschrittenen Erkrankung.

1.1.4 Diagnostik

Die Diagnostik soll zum Einen das Vorliegen der Erkrankung sichern, zum Anderen sollen Patienten mit unterschiedlichen Tumorstadien und damit unterschiedlichen Prognosen von einander separiert werden, um sie so gezielt einer stadiengerechten Therapie zuführen zu können. Hierzu stehen nicht-invasive und invasive diagnostische Verfahren zur Verfügung. In wie weit eine weitergehende Diagnostik erforderlich ist, hängt neben erhobenen Befunden, wie etwa einer Mikrohämaturie, auch vom persönlichen Risikoprofil des Patienten ab, um unnötige Untersuchungen zu vermeiden. Ist das individuelle Risiko als gering einzustufen, kann auf die invasive Diagnostik zunächst verzichtet werden, Kontrolluntersuchungen des Befundes sind jedoch dann nach 6 und 12 Monaten angezeigt. Ein Abklärungsalgorithmus in Anlehnung an die Empfehlungen der American Urological Association (AUA) findet sich in Abb. 2.

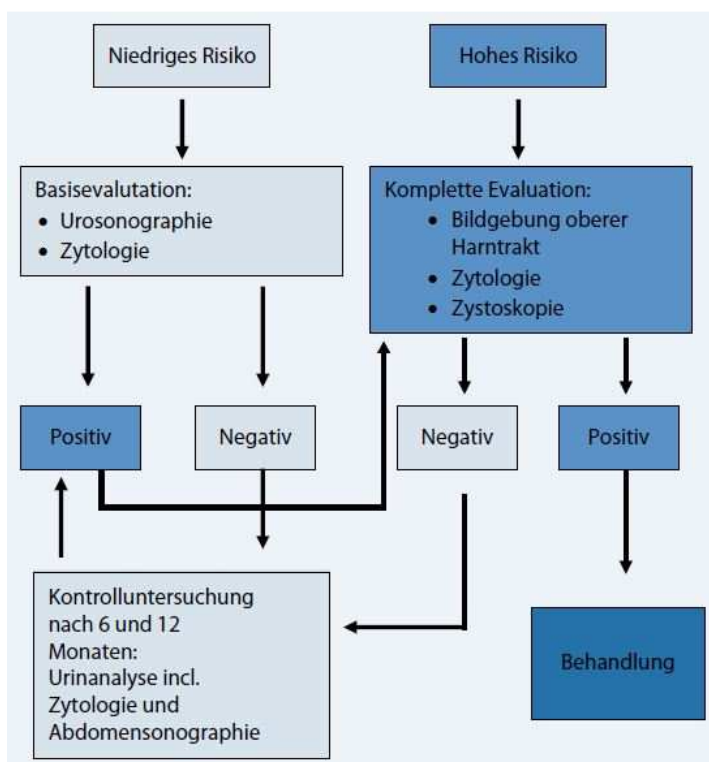


Abb. 2 - Abklärungsalgorithmus der Mikrohämaturie unter Berücksichtigung von Risikofaktoren [Huppe und Wawroschek, 2011]

Nicht-invasive Diagnostik

Anamnese
Körperliche Untersuchung
Urinanalyse
Urinsediment-Mikroskopie
Urinzytologie
Sonographie von Nieren und Blase
Ausscheidungsurographie (AUR)
CT / MRT

Invasive Diagnostik

Zystoskopie
Fluoreszenzzytoskopie
TUR-Blase

Anamnese

Zur Anamnese gehören Fragen nach Veränderungen des Miktionsverhaltens mit Hämaturie, Pollakisurie, Dysurie oder Nykturie und Fragen nach Schmerzen im Bereich von Blase, Dammregion oder Flanken. Weiterhin ist das Rauchverhalten sowie eine mögliche berufliche Exposition mit chemischen Substanzen relevant. Frühere urologische Erkrankungen, vor allem auch bekannte Blasentumoren in der Vorgeschichte, um Rezidiv-Tumoren abgrenzen zu können, oder stattgehabte Bestrahlungstherapien sollten ebenfalls mit erfasst werden.

Körperliche Untersuchung

Die körperliche Untersuchung beinhaltet eine Inspektion und Palpation des Abdomens, Prüfung auf klopf- und druckschmerzhaftigkeit der Nieren, eine Inspektion des äußeren Genitals, die palpatorische Untersuchung von inguinalen Lymphknoten und bei männlichen Patienten auch eine digital rektale Palpation der Prostata.

Urinanalyse und Sediment-Mikroskopie

Nach makroskopischer Urinbeurteilung, hinsichtlich Färbung und Trübung, erfolgt die chemische Urinanalyse mittels Teststreifen. Hierbei können der pH-Wert, das spezifische Gewicht sowie das Vorkommen von Leukozyten, Protein,

Ketonen, Blut, Glukose und Nitrit bestimmt werden. Zusätzlich erfolgt eine mikroskopische Untersuchung des Urinsediments.

Urinzytologie

Bei der Urinzytologie werden die mit dem Urin ausgeschiedenen Zellen mikroskopisch hinsichtlich diverser Malignitätskriterien wie etwa Polymorphie, erhöhter Mitosezahl, Hyperchromasie und vermehrtem Nukleolengehalt untersucht. Grundsätzlich sind zwei Möglichkeiten der Diagnostik zu unterscheiden. Zum einen ist eine Untersuchung von Spontanurin möglich. Zum anderen kann auch eine Spülzytologie erfolgen, also die Entnahme von Spülflüssigkeit in Rahmen der Zystoskopie oder TUR-Blase.

Bildgebende Untersuchungen

Die Sonographie des Urogenitalsystems gehört heute zur urologischen Routine-Diagnostik und wird aufgrund der fehlenden Strahlenexposition sehr häufig durchgeführt. Hierbei können sowohl die Harnblase als auch die Nieren hinsichtlich Tumoren untersucht werden. Weiterhin kann gegebenen Falls ein Harnaufstau der Nieren erkannt werden.

Eine radiologische Beurteilung des oberen Harntraktes erlaubt die Ausscheidungsurographie. Hierbei erfolgt eine intravenöse Applikation von Kontrastmittel sowie in der Folge die Anfertigung von Röntgenbildern in festgelegtem zeitlichem Abstand. Kontrastmittelaussparungen können hier Hinweise auf das Vorliegen eines Tumors geben. Gleichzeitig können die Abflussverhältnisse beider Nieren beurteilt werden. Diese Untersuchung sollte auch in der präoperativen Diagnostik von gesicherten Harnblasentumoren durchgeführt werden um eventuelle Zweitmalignome zu erkennen.

Aufwendigere bildgebende Untersuchung wie die Computertomographie (CT) oder die Kernspintomographie werden sowohl in der Staging-Untersuchung bei nachgewiesenem Harnblasentumor wie auch zur Diagnostik des oberen Harntraktes eingesetzt. Aufgrund von Aufwand, Kosten und Strahlenexposition (CT) ist jedoch die Indikation genau zu prüfen.

Zystoskopie und transurethrale Resektion (TUR)

Die Zystoskopie stellt den Goldstandard der Diagnostik wie auch der Nachsorge von Harnblasentumoren dar. Die Sensitivität für die Detektion liegt dabei bei über 90% [Rübben, 2007]. Hierbei können Informationen zu Lage und Anzahl sowie zum Wachstumstyp der Tumoren gesammelt werden.

Ist zystoskopisch ein Tumornachweis erfolgt, besteht der nächste Schritt in der transurethralen Resektion der exophytischen Tumoranteile, der Tumorbasis sowie Anteile der tiefer liegenden Muskulatur um muskel-invasive von nicht invasiven Tumoren abzugrenzen.

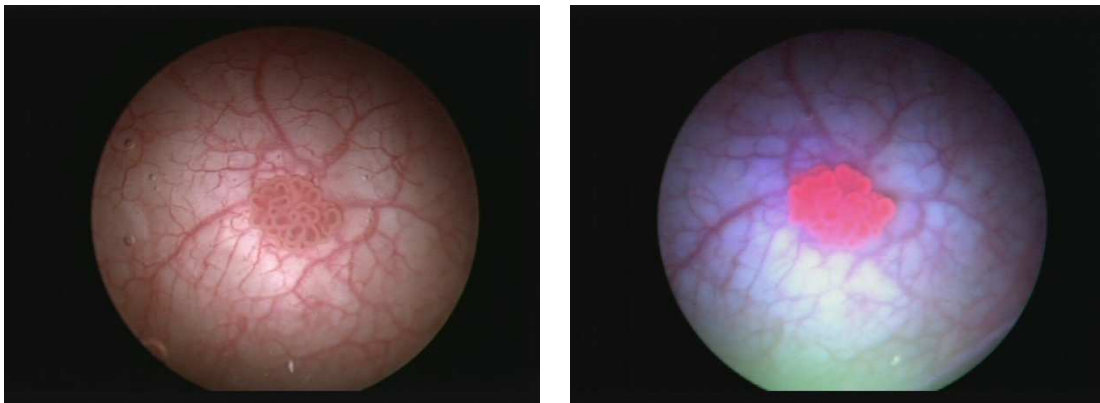


Abb. 3 (links) - Papilläres Harnblasenkarzinom, Bilddatenbank Urologische Universitätsklinik Tübingen

Abb. 4 (rechts) - Papilläres Harnblasenkarzinom unter photodynamischer Diagnostik, Bilddatenbank Urologische Universitätsklinik Tübingen

1.1.5 Histologische Einteilung

1.1.5.1 Tumorentitäten

Den größten Anteil der malignen Harnblasentumoren stellt in den westlichen Industrienationen mit etwa 95% das Urothelkarzinom dar, wobei hier zwischen papillären und soliden Tumoren unterschieden werden muss. Plattenepithelkarzinome sowie Adenokarzinome machen knapp 5% aus. Noch weit geringere Anteile finden sich für seltene Tumore wie beispielsweise Sarkome. In Entwicklungsländern mit Vorkommen der Bilharziose variieren

diese Zahlenverhältnisse sehr stark. Hier sind Plattenepithelkarzinome weitaus häufiger.

1.1.5.2 WHO-Klassifikation

Das histopathologische Grading der World Health Organisation (WHO), welches 1973 erstellt und 2004 überarbeitet wurde, unterscheidet vier Typen von urothelialen Neoplasien. In der Definition von 1973 waren dies Urothelpapillome, Grad 1 (gut differenziert), Grad 2 (mittelmäßig differenziert) und Grad 3 (schlecht differenziert). Die neue Definition von 2004 unterscheidet zwischen Papillomen, Papillary urothelial neoplasm of low malignant potential (PUNLMP) sowie low-grade und high-grade urothelialen Karzinomen. Bis diese neue Klassifikation hinreichend durch Studien belegt ist, wird derzeit noch empfohlen, beide Definitionen bei der Beschreibung eines Tumors anzuwenden [Lopez-Beltran und Montironi, 2004].

1.1.5.3 TNM-Klassifikation

Gemäß der TNM-Klassifikation der Union Internationale Contre le Cancer (UICC) werden Harnblasenkarzinome wie folgt eingeteilt:

TNM-Stadien des Blasenkarzinoms.	
T: Primärtumor	
Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Hinweis auf einen Primärtumor
Ta	Nicht-invasives papilläres Karzinom
Tis	Carcinoma in situ: flaches anaplastisches Epithel ohne Invasion
T1	Tumor infiltriert die Lamina propria
T2	Tumor infiltriert die Muskulatur
T2a	Tumor infiltriert bis in innere Hälfte der Lamina muscularis
T2b	Tumor infiltriert bis in äußere Hälfte der Lamina muscularis
T3	Tumor infiltriert das perivesikale Fettgewebe
T3a	Nur mikroskopische Infiltration des Fettgewebes
T3b	Makroskopische Infiltration / extravesikale Tumormasse
T4	Tumor infiltriert Prostata, Uterus, Vagina, Becken- oder Abdominalwand
T4a	Tumor infiltriert Prostata, Uterus, Vagina
T4b	Tumor infiltriert die Becken- oder Abdominalwand

N: Lymphknotenstatus	
Nx	Regionale Lymphknoten nicht untersucht
N0	Keine regionalen Lymphknotenmetastasen
N1	Solitäre Lk-Metastase (hypogastrisch, obturatorisch, extern iliakale oder präsakrale Lymphknoten)
N2	Multiple Lk-Metastasen (hypogastrisch, obturatorisch, extern iliakale oder präsakrale Lymphknoten)
N3	Lk-Metastasen entlang der Aa. iliacaes communes
M: Fernmetastasen	
Mx	Präsenz von Fernmetastasen nicht untersucht
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen nachgewiesen

Tab. 1 - TNM-Stadien des Harnblasenkarzinoms nach UICC 2009 [Stenzl et al., 2011]

1.1.6 Therapie nicht-muskelinvasiver Blasen Tumore

1.1.6.1 Transurethrale Resektion

Bei jeder Erstdiagnose eines Blasen Tumors sowie jedem zystoskopischen Rezidiv-Verdacht sollte primär eine transurethrale Resektion des Tumors erfolgen. Dies stellt im Falle einer kompletten Resektion bei oberflächlichen Tumoren die Therapie der Wahl dar. Weiterhin kann anhand des histopathologischen Präparates das genaue Tumorstadium festgelegt werden. Hiervon hängt ab, ob lediglich Nachkontrollen, eine transurethrale Nachresektion, eine intravesikale Instillationstherapie, etwa mit Mitomycin oder Bacillus Calmette-Guerin (BCG) oder sogar eine radiakle Zystektomie als weiteres Vorgehen zu empfehlen sind.

Bei der transurethralen Resektion erfolgt zunächst das Eingehen durch die Harnröhre mit einem Arbeitsschaft. Durch diesen kann anschließend der Arbeitseinsatz mit Elektroschlinge eingeführt werden. Nach systematischer Inspektion der Blasenschleimhaut und Detektion des Tumors erfolgt die Resektion unter Sicht an der Tumorbasis. Hiernach Spülen der Blase zur Gewinnung der Histologie und erneute Resektion vom Tumorgrund. Die

folgende Blasenspülung wird als zweite Probe getrennt zur histopathologischen Untersuchung eingesandt.

Zur Verbesserung der Detektion von flächigen Läsionen, wie etwa Carcinoma in situ (Cis), ist seit einigen Jahren die photodynamische Diagnostik mit 5-Aminolävulinsäure (5-ALA) oder Hexaminolevulinat (Hexvix) Standard. Hierbei erfolgt 60 – 120 Minuten vor dem Eingriff die Applikation einer dieser beiden Substanzen in die Harnblase. Neben der Zystoskopie mit Weißlicht wird dann auch eine Zystoskopie und gegebenenfalls eine Resektion mit blauem Licht der Wellenlänge 375 – 450 nm durchgeführt. Hierbei leuchten suspektere Läsionen rot auf.

Im unmittelbaren Anschluss an eine transurethrale Tumoresektion hat sich mittlerweile zur Rezidiv-Reduktion die einmalige intravesikale Frühinstillation von 40mg Mitomycin C bewährt.

1.1.6.2 Instillationstherapie

In Abhängigkeit vom TNM-Stadium sowie vom Grading des Tumors kann eine intravesikale Chemoinstillationstherapie durchgeführt werden. Diese Therapie kann die Rezidivhäufigkeit, welche bei oberflächlichen Tumoren bis zu 70% beträgt, senken.

Unterschiedliche Substanzen sind für die intravesikale Chemotherapie etabliert. Eine Instillation von abgeschwächten Mycobakterien von Typ BCG löst eine lokale Entzündung und dadurch bedingt eine antikanzerogene wirkende Immunreaktion in der Blasenschleimhaut aus. Die Instillationstherapie wird sechs mal im wöchentlichen Abstand durchgeführt. Nach 3 Monaten erfolgt eine transurethrale Nachresektion. Sollte sich dabei kein Rezidiv nachweisen lassen, wird eine Erhaltungstherapie nach 3, 6 und 12 Monaten durchgeführt. Sollte sich in der Nachresektion ein high grade Rezidiv zeigen, ist die Einleitung einer Zystektomie indiziert. Ein Risiko der BCG-Therapie sind schwerwiegende Komplikationen wie systemische BCGitis, abszedierende Entzündungen von Nieren oder Hoden sowie Ausbildung einer Schrumpfbliase. Diese treten jedoch nur bei unter 5% der behandelten Patienten auf [Rübben, 2007].

Mitomycin gehört zur Gruppe der Antibiotika, welche die DNA-Synthese hemmen. Es wird jedoch heute nur noch als Zytostatikum eingesetzt. Mitomycin wird häufig als perioperative Einmalinstillation nach transurethralen Resektionen instilliert, kann jedoch ähnlich BCG auch als dauerhafte Instillationstherapie wöchentlich über 6 Wochen, gefolgt von monatlichen Instillationen, verwendet werden. Die Wirksamkeit auf das Rezidivrisiko ist geringfügig niedriger im Vergleich zu BCG, Nebenwirkungen sind jedoch seltener [Rübben, 2007].

1.1.7 Therapie muskelinvasiver, nicht metastasierter Blasentumore

Etwa 12% der Harnblasenkarzinome weisen bereits bei Erstdiagnose ein muskelinvasives Wachstum, jedoch ohne Lymphknoten- oder Fernmetastasen, auf. In Abhängigkeit von Alter und Allgemeinzustand des Patienten müssen hier unterschiedliche, jedoch primär kurative Therapie-Konzepte diskutiert werden.

1.1.7.1 Radikale Zystektomie

Indikationen für eine radikale Zystektomie sind zum einen primär muskelinvasive Tumore, nach TNM mindestens T2a oder T1 Tumore, welche nicht auf eine intravesikale Therapie ansprechen. Gemäß den Guidelines der European Association of Urology (EAU) kann auch bei hoch-Risiko T1-Tumoren, sehr großen, multifokal auftretenden oder in Kombination mit Carcinoma in situ vorkommenden Tumoren, die Durchführung einer raschen radikalen Zystektomie in Erwägung gezogen werden. Eine lymphogene oder hämatogene Metastasierung stellt eine relative Kontraindikation dar. Eine Abweichung hiervon ist jedoch in Form einer palliativen Zystektomie zum Erhalt der Lebensqualität bei Tumorbedingter Blasenentleerungsstörung oder rezidivierender starker Makrohämaturie möglich.

Im Rahmen der radikalen Zystektomie werden zunächst die bilateralen pelvinen Lymphknoten entfernt. Dann erfolgt beim Mann die Entfernung der Harnblase mit distalen Harnleiteranteilen, der Prostata, den Samenblasen sowie der

proximalen Samenleiter. Bei der Frau werden zusätzlich zur Harnblase mit distalen Harnleitern im Regelfall der Uterus, das ventrale Vaginaldrittel sowie die Ovarien entfernt.

Für beider Geschlechter gilt, dass gegebenen Falls zusätzlich, je nach Befund des intraoperativen Schnellschnitts des Harnröhrenabsetzungsrandes oder bei in der vorangegangenen transurethralen Resektion in der Harnröhre nachgewiesenem Tumorbefall, eine Entfernung der Harnröhre notwendig sein kann. Hiervon hängt entscheidend ab, welche Form des Blasenersatzes verwendet werden kann. Unterschieden werden die kontinenten Formen der Harnableitung von den inkontinenten.

Kontinente orthotope Ileum-Neoblase

Hierbei schaltet man einen etwa 40cm langen Ileumabschnitt, welcher mindestens 20cm proximal der Ileo-Coekalklappe liegt, aus. Dieser wird antimesenterial längs inzidiert, zu einer kugelförmigen Neoblase vernäht und mit dem proximalen Ende der Harnröhre anastomosiert. Die gemeinsame Implantation beider Harnleiter erfolgt am oralen Ende [Studer, 1989, Studer et al., 1989, Studer, 2004]. Ein alternatives Verfahren mit seitengetrennter Harnleiterimplantation ist die Neoblase nach Hautmann [Hautmann, 1991, Hautmann, 2010].

Kontinenter heterothoper Blasenersatz

Hierzu zählen die Ureterosigmoideostomie, bei der die Ureteren direkt in das Sigma eingeleitet werden, der MAINZ-I-Pouch, welcher aus Teilen des Ileum sowie dem Colon ascendes besteht und als Kontinenzmechanismus die eingestülpte und am Nabel ausgeleitete Appendix besitzt, sowie der MAINZ-II-Pouch, bei dem die Harnleiter in einen Rekto-Sigmoidalen Pouch eingeleitet und der Urin mit dem Stuhlgang ausgeschieden wird.

Inkontinenter Harnblasenersatz

Bestehen Kontraindikationen, etwa aufgrund von Tumorbefall der distalen Harnröhre, vorbestehender Inkontinenz, mangelnder Compliance des Patienten

oder Unfähigkeit zum Selbstkatheterismus, für eine kontinente Harnableitung, kann eine inkontinente Ableitungsform gewählt werden. Das am häufigsten verwendete Verfahren hierfür ist das Ileum-Conduit, bei dem beide Harnleiter in eine kurze ausgeschaltete Ileumschlinge und diese direkt in die Bauchhaut ausgeleitet werden. Alternativ ist auch die Verwendung von Kolon als Kolon-Conduit etabliert. Wenn die Verwendung von Darmanteilen, zum Beispiel aufgrund bestehender chronischer Darmentzündungen wie Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa sowie vorangegangener Darmoperationen, nicht möglich sein sollte, ist auch die direkte Implantation der Harnleiter in die Haut als Ureterocutaneostomie möglich. Dieses Verfahren findet ebenfalls Anwendung bei älteren beziehungsweise multimorbiden Patienten, deren Operationsrisiko stark erhöht ist.

1.1.7.2 Organerhaltende Therapiekonzepte

Auch für organerhaltende Therapien gibt es mittlerweile verschiedene Ansätze. Von der organerhaltenden Blasenteilresektion bis hin zu einer transurethralen Resektion gefolgt von einer Radiochemotherapie ist alles möglich. Auch wenn Daten belegen, dass die Überlebenszeit bei einer trimodalen Therapie (transurethrale Resektion, Radiatio und systemische Chemotherapie) ähnlich einer radikalen Zystektomie ist, ist diese Vorgehensweise nur für ein streng ausgewähltes Patientenkollektiv sinnvoll und wurde bisher nicht in Studien direkt mit der radikalen Zystektomie verglichen [Stenzl et al., 2011, Zietman et al., 2001].

1.1.8 Therapie metastasierter Blasen Tumore

Etwa 30 % der Patienten mit urotheliale Karzinom haben bei Diagnosestellung ein muskelinvasives Tumorstadium. Die Hälfte dieser Patienten zeigt ein erneutes Tumoraufreten nach radikaler Zystektomie, wobei Fernmetastasen häufiger sind. 10 – 15% aller Patienten mit einem Harnblasenkarzinom sind bereits bei Diagnosestellung in einem metastasierten Stadium [Stenzl et al., 2011]. Im Einzelfall kann eine palliative Zystektomie sinnvoll sein. Die Primärtherapie metastasierter Stadium liegt jedoch, unter

Beachtung der Prognose, in einer Kombinationschemotherapie. Bei weit fortgeschrittenen Tumoren, sehr alten Patienten oder multiplen Komorbiditäten kann auch „best supportive care“, also bestmögliche Unterstützung beim Erhalt der Lebensqualität sowie Symptomlinderung, eine Behandlungsoption sein.

1.1.8.1 Systemische Chemotherapie

Sowohl ein Tumorprogress nach radikaler Zystektomie als auch ein primär metastasiertes Stadium oder ein lokal inoperabler Befund stellen Indikationen für eine systemische Chemotherapie dar. Seit den 1980er Jahren haben sich die Cisplatin-haltigen Chemotherapien in der Behandlung des metastasierten Urothelkarzinoms bewährt. Standard war lange Zeit des MVAC-Schema (Methotrexat, Vinblastin, Adriamycin, Cisplatin), welches jedoch heute aufgrund geringerer Nebenwirkungsraten durch die Kombination Gemcitabin/Cisplatin ersetzt wurde. Das mediane Überleben beträgt unter beiden Chemotherapien etwa 14 Monate [von der Maase et al., 2000]. Die Durchführung ist jedoch aufgrund vielfältiger Nebenwirkungen wie etwa Mukositis, Knochenmarkdepression mit leukopenischem Fieber bis hin zum Tod, vom individuellen Gesundheitszustand des Patienten beziehungsweise den vorliegenden Komorbiditäten sowie der zu erwartenden Prognose abhängig. Für eine Cisplatin-haltige Chemotherapie wird in erster Linie eine ausreichende Nierenfunktion mit einer glomerulären Filtrationsrate (GFR) > 60ml/min gefordert. Alternativ kann auch die Kombination Carboplatin/Gemcitabin eingesetzt werden, welche jedoch wegen einer deutlich geringeren Wirksamkeit nicht primär empfohlen wird. Die Anwendung von Einzelsubstanzchemotherapien wird ebenfalls nicht primär empfohlen. Als Second-line Therapie bei Progression unter einer Gemcitabin-Cisplatin-Therapie wird derzeit am häufigsten Vinflunin angewendet [Stenzl et al., 2011].

1.1.9 Nachsorge

Die Nachsorge sollte abhängig von Tumorstadium, unilokulärem bzw. multilokulärem Tumorwachstum, primärer Therapie sowie Therapie-Optionen bei Rezidiv individuell auf den Patienten abgestimmt werden. Im Falle einer

primär transurethralen Tumorsektion sind in den ersten beiden Jahren Kontroll-Untersuchungen alle 3 Monate sinnvoll [Hautmann et al., 2009]. Danach kann das Kontroll-Intervall gegebenenfalls auf 6 Monate für weitere 2 Jahre angepasst werden. Zu den Kontroll-Untersuchungen gehört neben einer gezielten Anamnese auch eine Urin-Mikroskopie sowie –zytologie und je nach Primärtumor und Risikoprofil auch eine Zystoskopie. Nach kompletter Resektion der Blase ist die genaue Untersuchung der Urinabflussverhältnisse inklusive einer Kontrolle des Säure-Base-Status obligat.

1.1.10 Prognose

Die Prognose eines Harnblasenmalignoms hängt primär von der Tiefe des Tumorwachstums ab. Oberflächliche Tumoren im Stadium Ta entwickeln zu 70% ein oberflächliches Lokalrezidiv. Für die Progression in ein höheres Tumorstadium bei oberflächlichen Tumoren ist das Grading des Tumors von entscheidender Bedeutung. Für G1-Tumore beträgt das Progressionsrisiko etwa 4%, für G2 Tumoren 20% und für G3-Tumoren 56%. Die 5-Jahresüberlebensrate (5JÜR) für T1G1 Tumore beträgt 85%, das Rezidivrisiko liegt zwischen 30 und 70%.

Bei invasiven Harnblasentumoren ist der Lymphknotenstatus das entscheidende Prognosekriterium. So liegt das 10-Jahres rezidivfreie Überleben bei einem pN0-Befund bei 80% und sinkt bei einem pN1-Befund auf 34% ab. Die 5JÜR im Falle einer solitären Lymphknotenmetastase beträgt 33% und liegt bei multiplen Metastasen deutlich darunter [Manski, 2011].

1.2. Nicht-invasive Urintumormarker

Die guten Behandlungsmöglichkeiten eines Urothelkarzinoms im Frühstadium, im Gegensatz zur schlechten Prognose späterer Stadien, stellen eine besondere Anforderung an entsprechende Frühdiagnostik. Die Früherkennung sollte in einer Phase erfolgen, in der die Tumorerkrankung zwar mittels medizinischer Diagnostik, wie etwa klinischer Untersuchung, Labortests oder bildgebender Untersuchungen, nachgewiesen werden kann, jedoch im

günstigsten Fall noch keine Symptome bestehen. Unter dem Begriff Urinumormarker versteht man zelluläre Bestandteile oder Substanzen, die bei Vorliegen eines Urothelkarzinoms in messbar höherer Konzentration im Urin erkrankter als gesunder Menschen vorliegen und dadurch mit hinreichender Sicherheit das Vorliegen eines Harnblasenkarzinoms anzeigen können [Rathert, 2007].

Die Urinzytologie als relativ einfacher nicht-invasiver diagnostischer Test zeigt in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms eine sehr hohe Spezifität von 95-100% bei jedoch nur eingeschränkter Sensitivität von 30-60% [Kausch und Bohle, 2003]. Dies führte zur Entwicklung zahlreicher Urinumormarker, welche eine möglichst hohe Spezifität bei gleichzeitig hoher Sensitivität zum Ziel haben. Idealerweise sollte ein solcher Test bei einer sehr hohen Sensitivität zur korrekten Detektion von erkrankten Patienten, einer sehr hohen Spezifität, zum Ausschluss möglichst vieler falsch-positiver Ergebnisse, leicht durchzuführen sein, geringe Kosten verursachen, geringe technische Anforderungen haben, untersucherunabhängig sein und eine hohe Reproduzierbarkeit aufweisen. Die meisten dieser Tumormarkertests basieren auf der höheren Zellteilungsrate beziehungsweise dem höheren Zellumsatz bei Vorliegen einer malignen Entartung. Sie weisen zelluläre Produkte wie etwa Zytokeratine, zelluläre Matrixproteine oder DNA-Fragmente, nach, welche sich aufgrund der erhöhten Zellteilungsrate auch in vermehrter Konzentration im Urin finden lassen. Viele dieser Tumormarker gehören zur Gruppe der nicht-invasiven Testverfahren, da zu ihrer Durchführung lediglich Spontanurin benötigt wird. Nur wenige, wie etwa Immunocyt oder UroVysion, basieren auf der Untersuchung einer Spülzytologie und sind damit nur bedingt nicht-invasiv. Im Allgemeinen zielen Tumormarker darauf ab, prognostische Aussagen bei erkrankten Patienten zu machen und Primärtumore sowie Rezidive zu diagnostizieren. In bestimmten Fällen dienen sie jedoch auch der Durchführung von Screening-Untersuchungen bei Patienten mit Risikofaktoren für eine bestimmte Erkrankung, wie beispielsweise der PSA-Test in der Diagnostik des Prostatakarzinoms. Eine Übersicht über die wichtigsten bisher untersuchten Urinumormarker zeigt Tabelle 2.

Untersuchungsgrundlage	Tumormarker
Zellmorphologie / - oberflächenantigen	Urinzytologie, Immunozyt*, DD23*
Lösliche Proteine	BTA, BTA-Stat, BTA-TRAK, NMP22, BLCA-4, Survivin, HA-Haase (Hyaluronsäure), UBC, Cytokeratin 20*, CYFRA 21-1
DNA-/RNA-Bestandteile	Mikrosatelliten-DNA-Test*, Telomerase (hTERT)*, Quanticyt*, UroVysion*

**Tab. 2 - Nicht-invasive Urinumormarker [Hautmann et al., 2009].
Mit * gekennzeichnete Tests erfordern Spülurin.**

1.2.1 Urinzytologie

Die Urinzytologie ist, neben der Zystoskopie, fester Bestandteil der Blasenkarzinomdiagnostik und –nachsorge. Sie kann sowohl mit Spontanurin als auch mit Blasenspülflüssigkeit durchgeführt werden, die Sensitivität und Spezifität unterscheiden sich bei beiden Untersuchungsmaterialien kaum [Planz et al., 2005]. Die Verwendung von Blasenspülflüssigkeit ist daher nur dann angezeigt, wenn sowieso eine Zystoskopie erfolgt. Auf die Verwendung von Morgenurin sollte jedoch verzichtet werden, da das saure hyperosmolare Milieu innerhalb der Blase die abgeschilferten Zellen denaturieren und eine zytologische Diagnostik erschweren kann [Tritschler et al., 2006].

Ziel der Urinzytologie ist die Detektion und Beurteilung von abgeschilferten Urothelzellen im Urin. Die Sensitivität zeigt eine Korrelation zum Differenzierungsgrad der Tumorzellen. Die diagnostische Sicherheit steigt hier mit zunehmender Entdifferenzierung deutlich an und kann bei G3-Stadien bis zu 95% betragen. Bei hochdifferenzierten Tumoren kann die Sensitivität zwar weit niedriger liegen, dies wird jedoch durch die geringe Progressionstendenz hochdifferenzierter Tumoren wieder ausgeglichen und besonders bei zystoskopisch mitunter schlecht zu detektierenden Cis-Tumoren bietet die Urinzytologie Vorteile [Rübber, 2007]. Da die Zytologie ein subjektives Untersuchungsverfahren ist, setzt sie jedoch gut ausgebildetes und erfahrenes Untersuchungspersonal voraus, welches die separierten Zellen nach folgen Kriterien beurteilt [Tritschler et al., 2006]:

- Kernhyperchromasie (d. h. Verdichtung des Kernchromatins mit Vergrößerung der Chromatinstruktur)
- Vergrößerung des Kerns mit Verschiebung der Kern-Plasma-Relation
- Kernpolymorphie
- Kernentrundung
- Prominenz und Vermehrung der Kernkörperchen
- Prominenz der Kernmembran

Autor	Jahr	Patienten (n)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Murphy	1997	67	54	90
Miyanaga	1997	132	37,9	n.a.
Schamhart	1998	192	17,7	98,9
Pode	1999	250	39,8	95,1
Leyh	1999	107	33	99
Del Nero	1999	105	46,6	n.a.
Thomas	1999	220	33	99
Sharma	1999	278	29,4	55,9
Gutierrez Banos	2000	100	76,5	91,5
Raitanen	2000	151	30,3	n.a.
Gutierrez Banos	2001	379	61,7	92,3
Babjuk	2002	218	33,3	100
Abd El Gawad	2005	86	54,3	100
Babjuk	2008	88	19,8	99
Summe		2373		
Mittelwert			40,5	92,8
Median			35,6	98,9

Tab. 3 - Sensitivität und Spezifität Urinzytologie (Quellen [Abd El Gawad et al., 2005, Babjuk et al., 2002, Babjuk et al., 2008, Del Nero et al., 1999, Gutierrez Banos et al., 2001, Gutierrez Banos et al., 2000, Leyh et al., 1999, Miyanaga et al., 1997, Murphy et al., 1997, Pode et al., 1999, Raitanen et al., 2000, Schamhart et al., 1998, Sharma et al., 1999, Thomas et al., 1999])

1.2.2 BTA

Der ursprüngliche Bladder tumor antigen-Test (BTA) beruht auf dem Nachweis bestimmter Polypeptidketten der Basalmembran. Diese Zellschicht bildet im intakten Gewebeverbund eine Schwelle, die Tumorzellen nicht direkt überwinden können. In Tumorzellen werden daher verschiedene Proteasen exprimiert, die diese Basalzellschicht auflösen können und somit erst infiltratives Wachstum möglich machen. Die dabei freigesetzten Polypeptidkomplexe können mit dem BTA-Assay nachgewiesen werden. Es handelt sich hierbei um einen Latex-Agglutinationstest, welcher den qualitativen Nachweis der Fragmente im Spontanurin ermöglicht. Dieser Test galt zu Anfang als Tumorspezifisch, dies wurde jedoch widerlegt.

Autor	Jahr	Patienten (n)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Yogi	1991	110	45,6	60,9
Sarosdy	1995	499	40,4	95,9
Leyh	1997	164	54	92
Murphy	1997	67	29	78
Van der Poel	1998	138	34,4	81,3
Miyanaga	1997	132	57,6	n.a.
Schamhart	1998	192	32,3	81,6
Del Nero	1999	105	50,6	n.a.
Takashi	1999	119	79	60
Summe		1526		
Mittelwert			47,0	78,5
Median			45,6	81,3

Tab. 4 - Sensitivität und Spezifität BTA (Quellen [Del Nero et al., 1999, Leyh und Mazeman, 1997, Miyanaga et al., 1997, Murphy et al., 1997, Sarosdy et al., 1995, Schamhart et al., 1998, Takashi et al., 1999, Van der Poel et al., 1998, Yogi et al., 1991])

1.2.3 BTA stat

Der BTA stat-Test ist eine Weiterentwicklung des eigentlichen BTA-Testes, nutzt jedoch als Zielstruktur einen anderen Angriffspunkt. BTA stat detektiert ein dem Komplementfaktor H in Zusammensetzung, Struktur und Funktion sehr ähnliches Protein (human complement factor H-related protein - hCFHrp) im Urin. In Interaktion mit dem Komplementfaktor C3b hemmt dieses Protein die Bildung eines ‚membrane attack complex‘ und unterbindet so die Zytolyse. Das Protein hCFH unterbricht die Komplementkaskade und verschafft Tumorzellen so einen Überlebensvorteil.

Der qualitative BTA stat-Test besteht aus einer Testkassette, in deren Applikationsfeld 5 Tropfen Spontanurin gegeben werden. Das Ergebnis kann nach 5 Minuten abgelesen werden. Harnwegsinfekte oder andere benigne urologische Begleiterkrankungen können die Spezifität deutlich reduzieren [Sarosdy et al., 1997].

Autor	Jahr	Patienten (n)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Pode	1999	250	82,8	68,9
Leyh	1999	107	65,0	64,0
Irani	1999	81	65,3	71,8
Sharma	1999	278	67,7	82,4
Gutierrez Banos	2000	100	78,4	87,2
Mian	2000	180	52,8	70,0
Oge	2000	69	89,0	78,7
Raitanen	2000	151	81,5	n.a.
Giannopoulos	2001	213	72,9	64,6
Gutierrez Banos	2001	379	73,6	83,3
Babjuk	2002	218	74,4	87,1
Friedrich	2002	115	70,3	70,6
Halling	2002	265	72,0	74,0
Summe		2406		
Mittelwert			72,7	75,2
Median			72,9	72,9

Tab. 5 - Sensitivität und Spezifität BTA-Stat (Quellen [Babjuk et al., 2002, Friedrich et al., 2002, Giannopoulos et al., 2001, Gutierrez Banos et al., 2001, Gutierrez Banos et al., 2000, Halling et al., 2002, Irani et al., 1999, Leyh et al., 1999, Mian et al., 2000a, Oge et al., 2000, Pode et al., 1999, Raitanen et al., 2000, Serretta et al., 2000, Sharma et al., 1999])

1.2.4 BTA-TRAK

Der BTA-TRAK-Test basiert ebenfalls auf der Detektion eines dem Komplementfaktor H ähnlichen Proteins im Urin. Im Gegensatz zum BTA stat handelt es sich hierbei jedoch um ein quantitatives Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) das sowohl mit frischen als auch mit gefrorenen Proben durchgeführt werden kann [Ellis et al., 1997].

Autor	Jahr	Patienten (n)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Ellis	1997	216	72	75
Irani	1999	81	77,5	62,5
Thomas	1999	220	66	69
Casetta	2000	94	57	57
Serretta	2000	74	62	79
Babjuk	2002	218	75,6	72,6
Abd El Gawad	2005	86	100	92,5
Babjuk	2008	88	53,8	83,9
Summe		1077		
Mittelwert			70,5	73,9
Median			69,0	73,8

Tab. 6 - Sensitivität und Spezifität BTA-TRAK (Quellen [Abd El Gawad et al., 2005, Babjuk et al., 2002, Babjuk et al., 2008, Casetta et al., 2000, Ellis et al., 1997, Irani et al., 1999, Serretta et al., 2000, Thomas et al., 1999])

1.2.5 NMP22

Auch der NMP22-Test zählt zu den uringebundenen Markersystemen. Mittels NMP22-Test kann das „nuclear matrix protein“ nachgewiesen werden, ein Bestandteil des Mitoseapparates der Zellen. Bei erhöhter Zellteilungsrate und damit auch vermehrter Bildung des Mitoseapparates ist dieses Protein in erhöhter Konzentration im Urin nachweisbar. Der Test wurde zunächst als Immunoessay angeboten und erstmals 1996 von Soloway et al. in der Nachsorge von Blasen tumorpatienten evaluiert [Soloway et al., 1996]. Hier zeigte sich bei einem Cut-Off von 10,0 Units pro Milliliter (U/ml) eine Sensitivität von 69,7% bei einer Spezifität von 78,5%. Aufgrund der umfangreichen

Überprüfungen in den folgenden Jahren und den festgestellten validen Testergebnissen erfolgte zwischenzeitlich auch die Zulassung von der amerikanischen Medikamentenzulassungsstelle FDA (Food and Drug Administration) in der Diagnostik des Blasenkarzinoms. Seit 2004 ist der NMP22-Test auch unter dem Namen NMP22 BladderChek von der Firma Matritech als Schnelltest verfügbar.

Autor	Jahr	Patienten (n)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Del Nero	1999	105	82,8	86,6
Sharma	1999	278	82,4	82
Casetta	2000	94	56	56
Gutierrez Banos	2000	100	84,3	87,2
Oge	2000	69	66,6	69,6
Serretta	2000	179	74	55
Giannopoulos	2001	213	63,5	75
Friedrich	2002	115	68,5	65,2
Abd El Gawad	2005	86	91,3	87,5
Summe		1239		
Mittelwert			74,4	73,8
Median			74,0	75,0

Tab. 7 - Sensitivität und Spezifität NMP22 (Quellen [Abd El Gawad et al., 2005, Casetta et al., 2000, Del Nero et al., 1999, Friedrich et al., 2002, Giannopoulos et al., 2001, Gutierrez Banos et al., 2000, Oge et al., 2000, Serretta et al., 2000, Sharma et al., 1999])

Autor	Jahr	Patienten (n)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Moonen	2005	28	100	92,0
Minagawa	2006	43	63,6	62,5
Tritschler	2007	100	65	40
Gonzalo Rodriguez	2008	15	83,3	100
Arora	2010	53	79	80
Choi	2010	1070	77,5	88,8
Hwang	2011	424	40,6	n.a.
Kehinde	2011	203	88	67
Smrkolj	2011	108	17,7	100
Summe		2044		
Mittelwert			68,3	78,8
Median			77,5	84,4

Tab. 8 - Sensitivität und Spezifität NMP22 BladderChek (Quellen [Arora et al., 2010, Choi et al., 2010, Gonzalo Rodriguez et al., 2008, Hwang et al., 2011, Kehinde et al., 2011, Minagawa et al., 2006, Moonen et al., 2005, Smrkolj et al., 2011, Tritschler et al., 2007])

1.2.6 CYFRA 21-1

Zytokeratine sind wasserunlösliche Faserproteine, die am Aufbau des Zytoskeletts von menschlichen Zellen beteiligt sind. Derzeit sind 20 verschiedene Subtypen von Zytokeratinen beschrieben, deren Verteilungsmuster in den verschiedenen Körpergewebearten stark variiert. CYFRA 21-1 ist ein Test zum Nachweis von Fragmenten des Zytokeratin 19 unter Verwendung von zwei monoklonalen Antikörpern (BM 19.21 und KS 19.1) [Sanchez-Carbayo et al., 1999b].

1.2.7 BLCA-4

Der BLCA-4 Test besteht aus einem sogenannten ‚sandwich ELISA‘, einem Immunoassay mit 2 monoklonalen Antikörpern. Ziel ist der Nachweis des löslichen Proteins BLCA-4, einem Transkriptionsfaktor und Bestandteil des nukleären Mitoseapparates. Die Menge an publizierten Daten für den BLCA-4-Test ist bisher gering. Die klinische Zulassungsstudie, welche nur mit einem einfachen Immunoassay durchgeführt wurde, zeigte eine Sensitivität von 96,4 % bei einer Spezifität von 100 %. Eine neuere Studie mit dem ‚sandwich ELISA‘ an 168 Patienten zeigte eine Sensitivität von 89 % bei einer Spezifität von 100 % [Lokeshwar et al., 2005].

1.2.8 Survivin

Survivin ist ein anti-Apoptose-Protein. Immunhistochemische Studien haben gezeigt, dass die Expression für Survivin in Blumentumorgewebe erhöht ist. Der Nachweis von Survivin erfolgt mittels BioDot Mikrofiltrations-Detektionssystem durch polyklonale Kaninchen-Antikörper. Die bisher durchgeführten Studien mit nur wenigen Patienten zeigen eine Sensitivität von 64 bis 100 % bei einer Spezifität zwischen 87 und 100 % [Lokeshwar et al., 2005].

1.2.9 HA-HAase

Hyaluronsäure ist ein physiologisch in Körperflüssigkeiten, Bindegewebe und extrazellulärer Matrix vorkommendes Protein mit verschiedenen Aufgaben. In Verbindung mit Tumorzellen konnte nachgewiesen werden, dass Hyaluronsäure die Migration von Tumorzellen, unter anderem über die Interaktion mit spezifischen Zelloberflächenrezeptoren, unterstützt. Zusätzlich haben einzelne Fragmente der Hyaluronsäure angiogenetische Effekte [Lokeshwar et al., 2000]. Untersuchungen an verschiedenen Tumortypen haben gezeigt, dass die Konzentration von Hyaluronsäure und dem assoziierten abbauenden Enzym dabei erhöht nachgewiesen werden kann, so auch in Blasentumoren [Hautmann et al., 2001]. Der HA-HAase-Test bestimmt die Konzentration von Hyaluronsäure sowie dem abbauenden Enzym Hyaluronidase im Urin. Eine Studie mit 504 Patienten zeigte für den HA-HAase-Test eine Sensitivität von 91% bei einer Spezifität von 84% [Lokeshwar und Soloway, 2001].

1.3 UBC

Zytokeratine (CK) sind Bestandteile des Zytoskeletts epithelialer Zellen des Menschen, derzeit sind 20 verschiedene Zytokeratine bekannt. Sie können unterteilt werden in Typ I, zu denen die CKs 9 bis 20 gehören, sowie den Typ II mit den CKs 1 bis 8. Für die Bildung von Intermediärfilamenten sind Paare aus Typ I und Typ II notwendig. Die unterschiedlichen Epithelarten exprimieren 2-10 verschiedene Zytokeratine, welche sich durch verschiedene Seitenketten unterscheiden und in ihrem CK-Expressionsmuster das jeweilige Epithel charakterisieren. CK 7, 8, 13 und 19 werden von allen Urothelzellen exprimiert. Typischerweise wird beim Urothelkarzinom ein bestimmtes Zytokeratin überexprimiert oder die Expression eines anderen stark verringert. In der Regel bleibt die Expression von CK 8, 18 und 19 beim Urothelkarzinom erhalten. Eine Expression von CK 14 deutet auf eine plattenepitheliale Differenzierung hin und ist gleichzeitig ein Marker für eine schlechtere Prognose [Rathert, 2007]. Anhand dieser Beobachtungen wird deutlich, dass der Nachweis der

Überexpression von bestimmten Zytokeratinen als Tumormarker für Urothelkarzinome herangezogen werden kann.

Der Nachweis von Zytokeratinen bzw. deren Fragmente in Serumspiegeln als Tumormarker ist bereits seit längerem bekannt. Der ‚urinary bladder cancer‘ Test (UBC) basiert, ähnlich wie der CYFRA 21-1-Test, auf dem Nachweis von Zytokeratinfragmenten im Urin und weist Fragmente der Zytokeratine 8 und 18 nach. Der Test wurde erstmals 1999 durch die Arbeitsgruppe von Sanchez-Carbayo beschrieben. Sie testeten den Urin von insgesamt 242 Probanden, von denen 86 ein zystoskopisch nachgewiesenes Urothelkarzinom der Blase hatten, 76 befanden sich in der Nachsorge nach Resektion eines Urothelkarzinoms. Von den übrigen 80 Probanden der Kontrollgruppe hatten 25 eine andere maligne Erkrankung, 25 Probanden hatten eine benigne urologische Erkrankung und 30 Probanden waren nach eigenen Angaben gesund. In dieser Studie wurde die Konzentration der Zytokeratinfragmente in der Urinprobe der Probanden mittels „sandwich“ ELISA bestimmt. Es zeigte sich eine Sensitivität von 87,0 % (95% CI: 79,2 bis 92,7%) bei einer Spezifität von 86,8 % (95% CI: 77,1 bis 93,5 %) [Sanchez-Carbayo et al., 1999a].

In einer weiteren Studie von Mungan et al. wurde der Test an 101 Patienten in der Nachsorge von oberflächlichen Blasentumoren der Stadien pTa, pT1 und Carcinoma in situ evaluiert. Die Konzentration der Zytokeratinfragmente wurde hierbei ebenfalls mittels „sandwich“ ELISA bestimmt. Als Cut-Off-Wert wurde 12 µg/l gemäß der Empfehlung des Herstellers festgelegt. Zusätzlich wurde der Wert mit einer speziellen Formel unter Berücksichtigung der Urin-Kreatininkonzentration korrigiert. Von den eingeschlossenen 101 Probanden hatten 29 (28,7%) im Verlauf des Erhebungszeitraumes ein Rezidiv. Die Sensitivität lag, sowohl korrigiert als auch unkorrigiert, bei 20,7 %, für die Spezifität ergaben sich Werte von 84,7 % unkorrigiert beziehungsweise 79,2 % korrigiert [Mungan et al., 2000].

Mian et al. evaluierten den UBC Test im Vergleich zum NMP 22-Test an 240 Patienten, von denen sich 159 in der Urothelkarzinom-Nachsorge befanden und 81 Symptome aufwiesen, die auf das Vorliegen eines Urothelkarzinoms

hindeuten könnten. Der Urin aller Probanden wurde mit dem UBC-ELISA sowie dem NMP22 ELISA bei einem Cut-Off-Wert von 12 µg/l für den UBC-Test beziehungsweise 10 U/ml für den NMP22-Test ausgewertet. Hier zeigte sich für den UBC-Test eine Sensitivität von 64,8 % bei einer Spezifität von 92 % [Mian et al., 2000b].

Autor	Jahr	Patienten (n)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Sanchez-Carbayo	1999	242	87,0	86,8
Mian	2000	240	64,8	92,0
Mungan	2000	101	20,7	84,7
Giannopoulos	2001	213	80,5	80,2
Babjuk	2002	218	70,5	64,5
Hakenberg	2004	181	70,5	63,6
Kibar	2006	90	19,0	92,3
May	2007	166	40,3	75,0
Babjuk	2008	88	12,1	97,2
Jeong	2012	250	77,4	71,9
Summe		1789		
Mittelwert			54,3	80,8
Median			67,7	82,5

Tab. 9 - Sensitivität und Spezifität UBC ELISA (Quellen [Babjuk et al., 2002, Babjuk et al., 2008, Giannopoulos et al., 2001, Hakenberg et al., 2004, Jeong et al., 2012, Kibar et al., 2006, May et al., 2007, Mian et al., 2000b, Mungan et al., 2000, Sanchez-Carbayo et al., 1999a])

Autor	Jahr	Patienten (n)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Sanchez-Carbayo	1999	267	78,4	97,4
Mian	2000	180	66,0	90,0
Babjuk	2002	218	48,7	79,3
Hakenberg	2004	181	64,4	63,6
Schroeder	2004	115	35,6	75,0
Summe		961		
Mittelwert			58,6	81,1
Median			64,4	79,3

Tab. 10 - Sensitivität und Spezifität UBC Rapid (Quellen [Babjuk et al., 2002, Hakenberg et al., 2004, Mian et al., 2000a, Sanchez-Carbayo et al., 1999c, Schroeder et al., 2004])

1.4 Fragestellung

Nach wie vor ist heute die Zystoskopie der Goldstandard in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms. Diese Untersuchung ist jedoch invasiv, verhältnismäßig aufwendig und teuer in der Anwendung sowie belastend für den Patienten. Die Urinzytologie stellt eine sinnvolle Ergänzung in der Primär- sowie der Rezidivdiagnostik mit einer sehr hohen Spezifität dar. Leider ist die Sensitivität dieser Untersuchung, besonders bei low-grade-Tumoren, nicht ausreichend um auf invasive diagnostische Verfahren zu verzichten.

In Ergänzung der urinbasierten Diagnostik wurden daher unterschiedliche Urinmarkertests entwickelt, welche bei ausreichend hoher Sensitivität und Spezifität die Indikation zur Durchführung einer Zystoskopie einschränken sollten. Bislang ist jedoch kein Testverfahren bekannt, welches diese Anforderungen erfüllt und die Zystoskopie als Goldstandard ablösen könnte.

Um die Durchführbarkeit der Urinumormarkertests zu vereinfachen und den Test so einer breiten Anwendbarkeit als sogenannten Point-of-Care-Test (POC) zugänglich zu machen, wurden für verschiedene Testverfahren (BTA Stat, NMP22 BladderChek, UBC Rapid) Schnelltest-Kits entwickelt. Hierbei wird der frisch gewonnene Urin, je nach Verfahren verdünnt oder unverdünnt, auf das Applikationsfeld einer Testkassette gegeben und das Ergebnis in Form einer Messbande nach einer definierten Zeit abgelesen. Gemeinsam ist allen diesen Verfahren, dass sie lediglich ein qualitatives Ergebnis mit den Qualitäten ‚Messbande vorhanden‘ oder ‚Messbande nicht vorhanden‘ liefern und keine Information über den Ausprägungsgrad des Ergebnisses anbieten können.

Ziel der hier vorliegenden Studie war es, die Ergebnisse des bereits auf dem Markt befindlichen Schnelltests ‚UBC Rapid‘ (IDL Biotech AB, Bromma, Schweden) mit der quantitativen Auswertung durch das photometrische Messgerät concile Q100 Reader (concile GmbH, Freiburg) und der quantitativen Bestimmung des urinary bladder cancer antigen mittels ELISA zu vergleichen.

2. Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Für diese prospektive monozentrische Studie wurden in der Zeit von April 2012 bis Dezember 2012 in der Universitätsklinik für Urologie der Universität Tübingen Patienten ausgewählt, die sich einer Urethrozystoskopie, einer transurethralen Blasenresektion, einer radikalen Zystektomie wegen nachgewiesenem Urothelkarzinom oder einem anderen Eingriff, während dem routinemäßig eine Zystoskopie erfolgt, unterzogen. Der größte Teil der eingeschlossenen Patienten wurde im Rahmen der stationären Aufnahme zur Durchführung eines Eingriffs rekrutiert. Der übrige Teil stellte sich zur Abklärung einer bestehenden Mikrohämaturie oder anderen Symptomen, welche mit dem Vorliegen eines Urothelkarzinoms vereinbar sind, in der Ambulanz der Universitätsklinik für Urologie vor. Insgesamt wurden N=232 Patienten ausgewählt. Von diesen 232 eingeschlossenen Patienten befanden sich 59 Patienten in der Nachsorge nach Resektion eines oberflächlichen Urothelkarzinoms. Als kleinster zeitlicher Abstand zur letzten vorangegangenen Resektion wurden 3 Monate festgelegt.

2.2 Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien für die Auswahl der Patienten waren zuvor in einem Zeitraum von 10 Tagen vor Abgabe des Urins stattgehabte Manipulationen im Urogenitaltrakt wie etwa Urethrozystoskopien, Katheterisierung oder das Vorhandensein eines transurethralen beziehungsweise suprapubischen Dauerkatheters. Weiterhin wurde eine vorhandene Makrohämaturie als Ausschlusskriterium gewertet.

Von den 232 ausgewählten Patienten wurden anschließend 17 Patienten ausgeschlossen, da im Rahmen der Behandlung in der Universitätsklinik für Urologie widererwarten keine Zystoskopie, aufgrund einer Änderung des OP-Verfahrens, einer Ablehnung der Behandlung oder anderen Gründen,

durchgeführt wurde und somit keine Möglichkeit zur Überprüfung eines möglichen positiven Testergebnisses bestand. 8 Patienten wurden von der Auswertung ausgeschlossen, da im histopathologischen Präparat der radikalen Zystektomie oder nach vorangegangener transurethraler Resektion kein Tumorgewebe mehr nachgewiesen werden konnte und somit von einer vollständigen Tumorresektion vor Abgabe der Urinprobe ausgegangen werden musste. Weitere 5 Patienten wurden nach Abschluss der Datenerhebung ausgeschlossen, da das Präparat der transurethralen Resektion einen fraglichen, jedoch keinen eindeutigen Nachweis eines malignen Tumors zeigte. Bei weiteren 2 Patienten wurde im Rahmen der Zystoskopie ein verdächtiger Befund festgestellt, bis zum Abschluss der Datenerhebung erfolgte jedoch keine weitere Abklärung in Form einer photodynamischen Diagnostik oder transurethralen Resektion. Somit konnten von den initial ausgewählten 232 Patienten 198 Patienten in die statistische Auswertung einbezogen werden.

2.3 Untersuchungsablauf

Alle Patienten wurden, nach entsprechender Aufklärung über die Durchführung des Tests und schriftlicher Einverständniserklärung, gebeten, im Vorfeld des geplanten Eingriffs, üblicherweise im Rahmen der stationären Aufnahme am Vortag, einen Mittelstrahlurin abzugeben. Dieser wurde in einem sterilen Kunststoffgefäß gesammelt und direkt im Anschluss im urologischen Forschungslabor der Klinik mehreren Testverfahren unterzogen.

2.3.1 Urinstatus

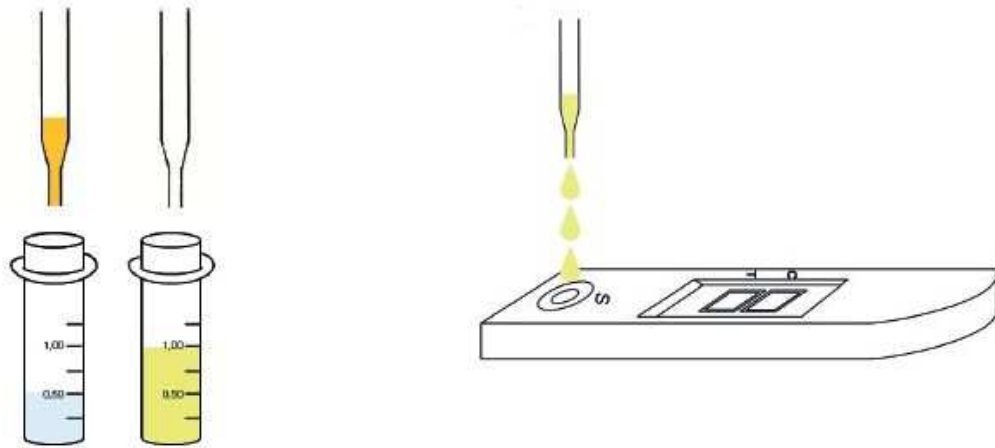
Der Urinstatus stellt eine essentielle Methode in der Urindiagnostik dar. Er besteht aus einer initialen makroskopischen Beurteilung der Urinprobe hinsichtlich Farbe und Trübung des Urins. Im zweiten Schritt erfolgt eine semiquantitative Untersuchung der Probe mittels eines Urinstreifentests. Im Rahmen dieser Untersuchung wurde dazu der Urinstreifentest Combur 10 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) verwendet. Dieser wird kurz in die frisch gewonnene Urinprobe getaucht und kann anschließend nach ca. 1 Minute

visuell, mit Hilfe einer Farbvergleichsskala, ausgewertet werden. Im Urologischen Forschungslabor der Universitätsklinik Tübingen kommt zur genaueren Auswertung jedoch das Analysegerät Meditron M (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) zu Anwendung, welches den Streifen reflexionsphotometrisch, unter Verwendung wellenlängenspezifischer Leuchtdioden, ausliest. Das Ergebnis dieser Messung umfasst spezifisches Gewicht, pH, Leukozyten-, Nitrit-, Protein-, Glukose-, Keton-, Urobilinogen-, Bilirubin- sowie Blut-/Hämoglobingehalt. Das Ergebnis wird vom Messgerät automatisch ausgedruckt und elektronisch an das klinikeigene Laborbefundsystem übermittelt. Abschließend wird ein Teil der Urinprobe zentrifugiert und das gewonnene Urinsediment in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer unter dem Mikroskop bei 400facher Vergrößerung auf zelluläre Bestandteile untersucht.

2.3.2 UBC Rapid

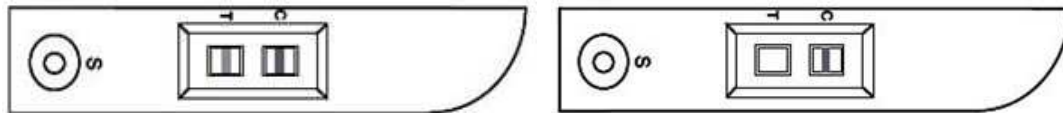
Im zweiten Schritt erfolgte die Untersuchung mittels des UBC Rapid-Test (IDL Biotech AB, Bromma, Schweden), welcher der Klinik kostenlos durch die Firma IDL zur Verfügung gestellt wurde. Zur Fehlervermeidung erfolgte die Messung, um wenige Minuten zeitversetzt, in zweifacher Ausführung.

Der Patientenurin wird dabei mit einer Pipette bis zur Markierung in ein Reagenzgefäß gegeben, welches, mit einer Verdünnungslösung gefüllt, bereits im Test-Kit des UBC Rapid-Tests enthalten ist. Im Anschluss werden aus dieser Lösung mit einer Eppendorf-Pipette 75µl auf das Applikationsfeld der UBC-Test-Kassette gegeben. Nach 10 Minuten wird das Ergebnis zunächst visuell ausgewertet. Im Ablesefeld des UBC Tests erscheinen hierbei ein oder zwei Querbanden. Die untere Bande ist hierbei die Messbande, die obere die Kontrollbande. Das Auftreten einer Messbande wurde dabei in 4 Kategorien unterteilt, keine Bande, sehr schwach sichtbare Bande, schwach sichtbare Bande oder deutlich sichtbare Bande, ausgewertet.



Verdünnung der Urinprobe

Urinprobe wird auf Teststreifen gegeben



Nach 10 min wird das Ergebnis
abgelesen (positiv)

(negativ)

Abb. 5 - Schema Durchführung UBC Rapid Test

Im direkten Anschluss an die visuelle Auswertung erfolgte die Auswertung durch das Point-of-Care-Messsystem concile® Q100 Reader (concile GmbH, Freiburg), welches der Klinik durch die Firma concile ebenfalls kostenlos zur Verfügung gestellt wurde. Dieses Testgerät führt eine photometrische Analyse des Teststreifens durch. Der Teststreifen wird hierzu in eine entsprechende Form eingelegt, welche an der Vorderseite in das Messgerät eingeführt wird. Nach ca. 10 Sekunden werden vom Reader die gemessenen Werte angezeigt und ausgedruckt.



Abb. 6 - concile Q100 Reader

Der Reader concile® Q100 indentifiziert die eingelegte Testkassette zunächst an Hand eines Barcodes auf der Unterseite der Kassette und stellt so die festgelegten Kalibrierungsdaten für den Test ein. Anschließend wird das Testfeld von einer Lichtquelle mit Komplementärfarbleicht beleuchtet, um Interferenzen bei der Analyse zu reduzieren. Der Aufbau des Messsystems ist in Abb. 7 und 8 dargestellt.

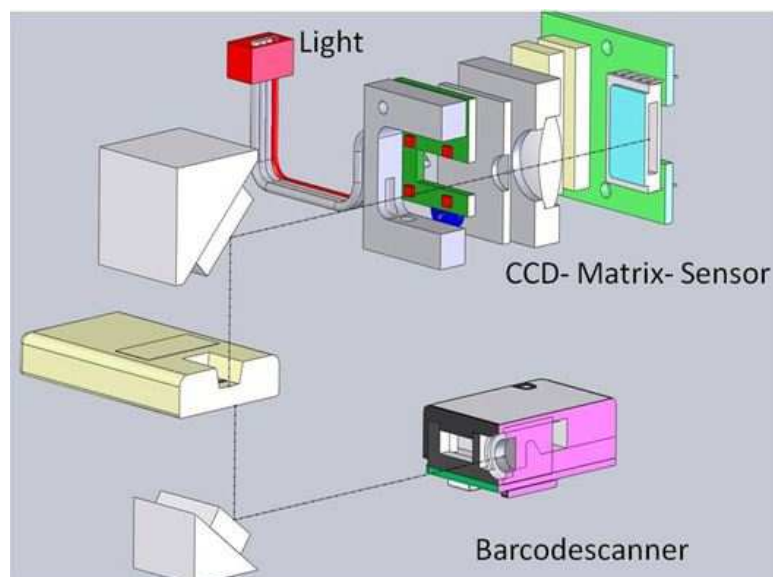


Abb. 7 - Aufbau des Messsystems im concile Q100 Reader

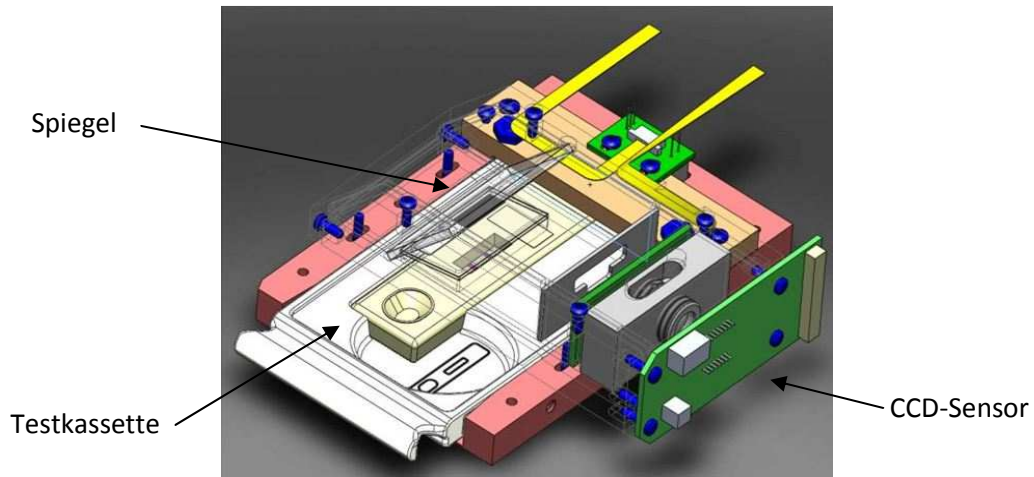


Abb. 8 - Aufbau des Messsystems im concile Ω 100 Reader

Der eingebaute CCD-Matrix-Sensor macht eine Fotoaufnahme der Lichtreflexion, welche durch das Gerät analysiert wird. Eine solche Fotoaufnahme eines Teststreifens im Vergleich zur Selbsttestaufnahme der Kamera zeigt beispielhaft Abb. 8.

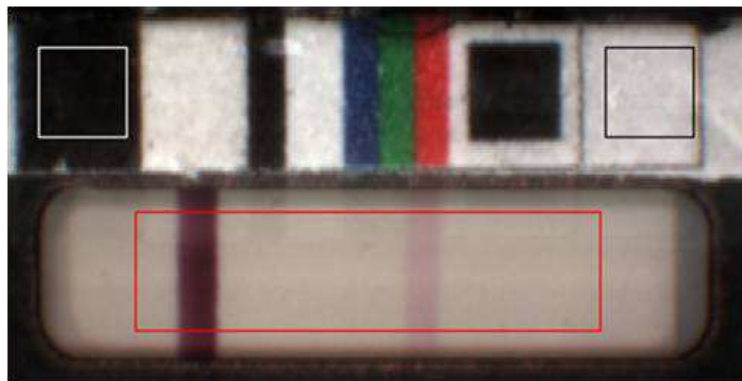


Abb. 9 - Selbsttest der CCD-Kamera (oben), CCD-Foto des Teststreifens (unten)

2.3.3 NMP22 BladderChek®

Parallel zur Messung mit dem UBC Rapid-Test erfolgte eine Bestimmung mit dem NMP22 BladderChek® Schnelltest. Hierfür wurden 4 Tropfen des frisch gewonnenen Urins unverdünnt mit einer Pipette auf die, mit ‚S‘ gekennzeichnete, Probenöffnung der Testkassette gegeben und das Ergebnis

nach 30 Minuten abgelesen. Der NMP22-Test funktioniert nach dem selben Muster mit einer Kontroll- sowie einer Messbande. Das Erscheinen einer Kontroll- und einer Messbande nach 30 Minuten wurde hierbei als positiver Test, nur einer Kontrollbande als negativer Test gewertet.

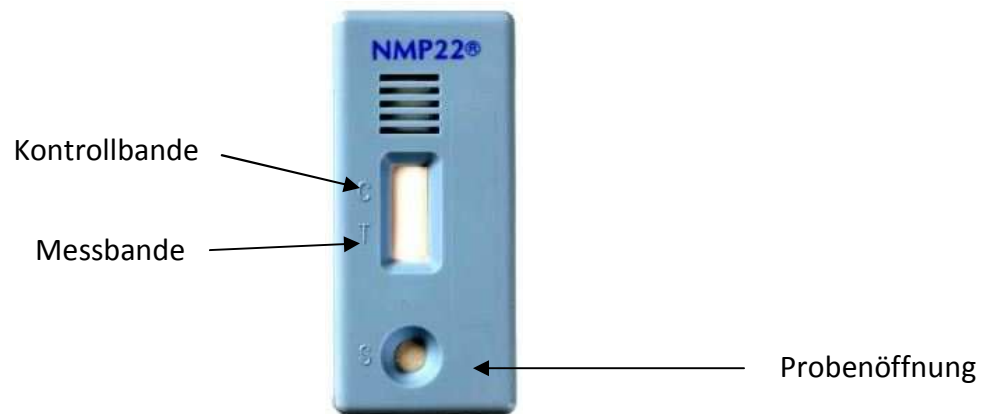


Abb. 10 - NMP22 BladderChek® Schnelltest

2.3.4 UBC ELISA

Nach Abschluss der Schnelltestverfahren erfolgte weiterhin eine Aufbereitung des Urins zur Durchführung der ELISA-Tests.

Der UBC ELISA ist ein Festphasen Sandwich Assay. Die zu messenden Proben reagieren während des Tests, ebenso wie die gleichzeitig mitlaufenden Kontrollen und Standards, mit den an der Innenwand des Testsystems haftenden Fängerantikörpern (6D7 und 3F3) sowie den konjugierten Detektorantikörpern. Die anschließend zu messende Farbentwicklung ist der Konzentration der Analyten direkt proportional.

Zur Durchführung des Tests wurde ein Reagenzglas mit Patientenurin befüllt und für 10 Minuten bei 1000 g zentrifugiert. Das gewonnene Zentrifugat wurde anschließend mit einem speziellen Diluent, welches im Testkit enthalten ist, im Verhältnis 1:10 verdünnt und dadurch fixiert. Aufgrund des zeitlichen Aufwandes konnte die Durchführung der ELISA-Test nicht tagesaktuell, sondern nur wöchentlich für die gesammelten Proben durchgeführt werden.

Der für den Test erforderliche Standard sowie das HRP Konjugat (Meerrettichperoxidase) wurden, gemäß der Anleitung des Herstellers, durch eine Verdünnung des mitgelieferten Konzentrates mit frisch entionisiertem Wasser beziehungsweise dem ebenfalls mitgelieferten Diluent, hergestellt. Im nächsten Schritt werden in jede mit Antikörpern beschichtete Mikroküvette 100µl Standard, Kontrolle sowie verdünnte Urinprobe pipettiert. Die Messung erfolgt jeweils doppelt für jede Probe. Nach Zugabe von 100µl HRP Konjugat werden die Mikroküvetten für 2 Stunden auf einem Schüttler inkubiert. Im Anschluss wird der Inhalt der Küvetten drei mal mit der vorbereiteten Waschlösung gewaschen. Weiterhin werden 200µl des TMB-Substrates zu den Proben in die jeweiligen Mikroküvetten gegeben und nach erneuter Inkubation von 15 Minuten im Dunkeln die Reaktion durch Zugabe von 100µl Stop-Lösung (0,5molare Schwefelsäure) angehalten. Abschließend erfolgt die photometrische Messung der Extinktion.

2.3.5 Urinzytologie

Nach Untersuchung des Urins mit den oben genannten Testverfahren wurde ein Teil des Patientenurins zur Durchführung der Urinzytologie im Verhältnis 1:2 mit Esposti-Fixativ versetzt und somit fixiert. 100ml der Esposti-Lösung enthalten 10ml Essigsäure 100% (Eisessig), 48ml Methanol und 42ml destilliertes Wasser. Die Fixierung ist bei 2-4°C für 1 Woche stabil.

Die Urinzytologie ist ein Verfahren, bei dem die zellulären Bestandteile des Urins speziell angefärbt und im Anschluss unter dem Mikroskop morphologisch untersucht werden. Hierzu ist es erforderlich, die in Urin enthaltenen abgeschilferten Urothelzellen zu konzentrieren, um eine ausreichende Anzahl für die Beurteilung heran ziehen zu können. Im ersten Schritt erfolgte eine Zentrifugation der fixierten Urinprobe für 12 Minuten in Rundglasröhrchen bei 800 UpM (Umdrehungen pro Minute). Hierzu kam eine Rotanta 96R Zentrifuge der Firma Hettich (Tuttlingen) zum Einsatz. Der gewonnene Überstand wurde bis auf etwa 2-3 ml abdekantiert und das verbliebene Zellsediment aufgeschüttelt. Der nächste Schritt, eine weitere Zentrifugation für 3 Minuten bei

1500 UpM in einer Zytocentrifuge (CytoSpin 2, Shandon Labortechnik GmbH, Frankfurt), erfolgte mit 600 – 800µl des Zellsedimentes in einem Füllkontainer zusammen mit einem Objektträger sowie einem davor befindlichen gelochten Filterpapier. Füllkontainer und Filterpapier wurden anschließend entfernt, das noch feuchte Zellsediment auf dem Objektträger mit dem Fixationspray Merckofix (Merck KGaA, Darmstadt) fixiert und an der Luft getrocknet.

Da die reine Konzentration und Fixation der Zellen noch keine mikroskopische Beurteilung zulässt, wurden die Zellen nun in weiteren Arbeitsschritten in der Methode nach Papanicolaou [Papanicolaou und Marshall, 1945] angefärbt. Die folgenden Schritte wurden automatisiert in einem Färbeautomaten (Shandon Labortechnik GmbH, Frankfurt) durchgeführt.

Zunächst wurde dabei der Fixationsfilm auf den Präparaten durch die Einwirkung von 30%iger Ethanol-Lösung für 30 Sekunden sowie einer nachfolgenden Spülung mit destilliertem Wasser abgelöst. Nach 2-minütiger Färbung mit Papanicolaou-I-Lösung (Harris' Hämatoxyllin-Lösung) und einer weiteren Spülung mit destilliertem Wasser folgt ein zweifaches kurzes Eintauchen in 0,25%ige Salzsäure sowie eine erneute Spülung unter fließendem Leitungswasser.

Im nächsten Schritt erfolgt eine Dehydrierung der Zellen durch eine aufsteigende Alkoholreihe und im Anschluss die Färbung mit Papanicolaou-II-Lösung (Orange-G-Lösung) für 3 Minuten. Nach einer Spülung mit Ethanol 96% erfolgt für weitere 3 Minuten die Färbung mit Papanicolaou-IIIb-Lösung (EA50, Merck) sowie eine erneute Spülung mit 96%igem Ethanol. Den Abschluss stellen das Eintauchen für 1 Minute in ein 1:1 Gemisch von Ethanol und Xylol sowie für 2 Minuten in Xylol mit anschließendem Eindeckeln der Präparate dar.

Die Beurteilung der hergestellten Präparate wurde mittels einem Zeiss Olympus Mikroskops unter 160facher und 400facher Vergrößerung vorgenommen. Hierbei wurden die zur Darstellung kommenden Zellen hinsichtlich standardisierter Malignitätskriterien, wie beispielsweise Zellkernpolymorphien, Veränderungen der Kern-Plasma-Relation oder Auffälligkeiten der

Chromatinverteilung oder -beschaffenheit untersucht. Als positives Ergebnis wurden eindeutig entdifferenzierte Zellen gewertet. Waren Zellen mit geringgradigen Atypien vorhanden, wurde dies als suspekter Untersuchungsbefund dokumentiert. Ein negatives Ergebnis erhielten die Proben, in denen keine pathologisch veränderten Zellen detektiert werden konnten.

Die Erfassung der Ergebnisse erfolgte in den Qualitäten negativ, suspekt oder positiv. Zur Vereinfachung wurden in dieser Arbeit alle positiven und alle suspekten Befunde als positiv und nur die eindeutig negativen Befunde als negativ gewertet.

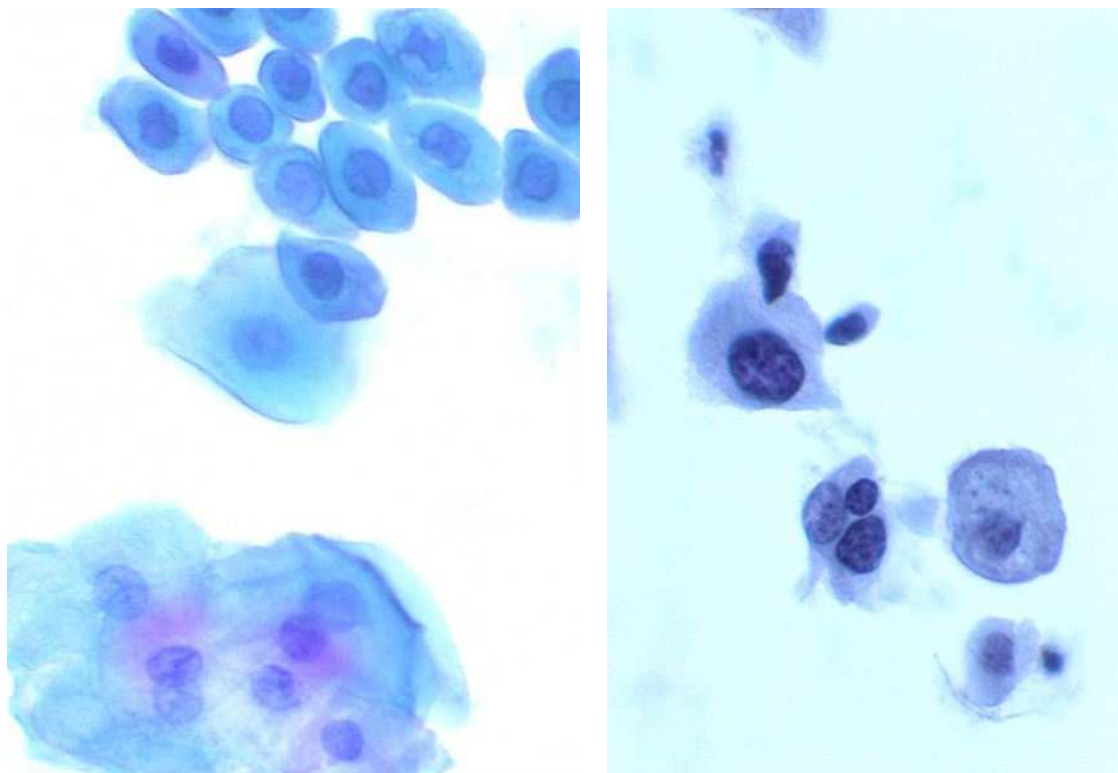


Abb. 11 - Mikroskopische Betrachtung einer Urinzytologie, Vergrößerung 400x, links unauffällige Urothelzellen, rechts Zellen eines Urothelkarzinoms

2.4 Datenerfassung

Zur Erfassung aller relevanten Untersuchungsdaten wurde eine Microsoft Excel®-Datenbank angelegt. Hier wurden für jede untersuchte Urinprobe mit Untersuchungsdatum zunächst die personenbezogenen Daten der Patienten aufgenommen. Zur Vervollständigung der klinischen Daten erfolgte eine genaue Sichtung der vorliegenden Arztbriefe, histopathologischen Befunde und Vorbefunde sowie der Laborbefunde. Bei Unklarheiten bezüglich der elektronisch gespeicherten Daten wurde im Einzelfall die Patientenakte herangezogen. Nach Abschluss der Datenerhebung mit Erfassung aller benötigten Daten erfolgte eine Anonymisierung der Daten um Rückverfolgung auszuschließen.

Für jede verwendete Urinprobe wurden folgende Daten erhoben: fortlaufende Nummer, Name, Vorname und Geburtsdatum, Entnahmedatum der Probe, Eingruppierung bezüglich Primär- oder Rezidivdiagnostik, Kontrollfeld zur Dokumentation einer erfolgten Zystoskopie, Messergebnisse der einzelnen Urinmarkertests, Ergebniss des Urinstatus (Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl, Nitrit), Ergebnis der Urinzytologie, histopathologischer Befund mit genauer Erfassung des TNM-Stadiums, Vorhandensein von urologischen und nicht-urologischen Begleiterkrankungen wie Urolithiasis, benigne Prostatahyperplasie oder Diabetes mellitus.

2.5 Statistische Analyse

Für die statistischen Berechnungen wurden die Daten nach Abschluss der Erhebung und Vervollständigung aller Datensätze aus der erstellten Datenbank in das Statistikprogramm JMP® Version 8 der Firma SAS (SAS Institute Inc., Cary, USA) migriert und mit diesem entsprechend ausgewertet.

Die Wertung der Ergebnisse erfolgte bei einem festgesetzten Signifikanzniveau. Testergebnisse wurden als signifikant angesehen, wenn die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines Irrtums unter 5 % ($p < 0,05$) lag.

Für die Erstellung der Graphiken wurde das Tabellen-Kalkulationsprogramm Microsoft® Office Excel® in der Version 2007 verwendet.

2.6 Berechnungen

2.6.1 Kontingenzanalysen und Berechnungen der Testwertigkeiten

Um die durchgeführten Testverfahren hinsichtlich ihrer Wertigkeit untersuchen zu können, wurden mit den gemessenen Daten Vierfeldertafeln, auch Kontingenztafeln genannt, erstellt aus denen sich die Sensitivität und Spezifität der einzelnen Tests berechnen lässt. Weiterhin können hieraus auch der positiv prädiktive sowie der negativ prädiktive Wert berechnet und die Accuracy (Akuratesse) angegeben werden.

	Kein Tumor (Pat. gesund)	Tumor (Pat. krank)
Testergebnis negativ	D (richtig negativ)	C (falsch negativ)
Testergebnis positiv	B (falsch positiv)	A (richtig positiv)

Tab. 11 - Beispiel einer Kontingenztafel

Die Sensitivität ist dabei die Rate der richtig-positiven Ergebnisse und beschreibt den Anteil an Patienten, bei denen tatsächlich ein Tumor vorliegt und auch ein positives Testergebnis festgestellt wird. Sie berechnet sich nach der Formel $\frac{A}{A+C}$.

Die Spezifität hingegen ist die Rate der richtig-negativen Ergebnisse, also der Anteil von Patienten, die keinen Tumor haben und auch ein negatives Testergebnis bekommen. Die Formel für die Spezifität lautet $\frac{D}{D+B}$.

Die Accuracy oder Akkuratessse stellt ein Maß für die Genauigkeit eines Testes dar und berechnet sich nach der Formel $\frac{A + D}{A + B + C + D}$.

Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient bei positivem Testergebnis tatsächlich erkrankt ist, wird mit dem positiv prädiktiven Wert (PPW) nach der Formel $\frac{D}{D + C}$ berechnet.

Bei vorliegen eines negativen Testergebnisses kann der negativ prädiktive Wert (NPW) die Wahrscheinlichkeit angeben, dass der Patient tatsächlich gesund ist. Hierfür ist die Formel $\frac{A}{A + B}$ zu verwenden.

2.6.2 Receiver operating characteristic Kurven und Berechnung der Area under the curve

Aus den gemessenen Konzentrationswerten wurden weiterhin Receiver operating characteristic Kurven (ROC-Kurven) erstellt. Hierbei wird jeder einzelne Messwert als Cut-Off-Wert definiert und für diesen die Sensitivität und Spezifität bestimmt. Die errechneten Werte werden im Anschluss in einem Diagramm aufgetragen, wobei die Sensitivität entlang der Ordinate dargestellt ist, die Abszisse bekommt die Zuordnung 1-Spezifität. Der Maximalwert wurde nach der Formel Sensitivität – (1-Spezifität) berechnet und als bester Cut-Off-Wert definiert.

Als Darstellung der Testgüte wird die Fläche unter der Kurve (Area under the curve, AUC) berechnet. Die AUC nimmt im Allgemeinen Werte zwischen 0,5 und 1 an. 0,5 entspricht dabei einem nutzlosen Test, 1 einem perfekten Test. Sie gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass zwei Personen (jeweils eine aus der Gruppe der Kranken und der Gesunden zufällig ausgewählt) durch den Test richtig zugeordnet werden.

2.6.3 Lineare Regressionen

Zur statistischen Prüfung der Korrelation zweier stetiger Variablen, in diesem Fall beispielsweise die Messwerte des Readers für die erste und die zweite

Messreihe, wurden lineare Regressionsanalysen erster Ordnung (Geradengleichung $y = mx + b$) verwendet und als Darstellung der Übereinstimmung jeweils der Determinationskoeffizient r^2 angegeben.

2.7 Ethik

Vor Durchführung der Studie wurde ein entsprechender Prüfplan erstellt, der neben Angaben zu Inhalt und Titel der Arbeit auch die beteiligten Personen und Finanzierung der Studie schildert. Der Prüfplan stellt außerdem die wissenschaftlichen Grundlagen dar und beschreibt Dauer und Ziel der Studie, die Studienpopulation beziehungsweise die Einschluss- und Ausschlusskriterien sowie Untersuchungsmethoden und die Einhaltung der Datenschutzbestimmungen. Dieser Prüfplan wurde der Ethikkommission des Universitätsklinikums Tübingen unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Luft vorgelegt und unter dem Ethik-Votum 032/2013BO2 angenommen.

2.8 Datenschutz

Der vertrauliche Umgang mit allen erhobenen Daten sowie die Wahrung der ärztlichen Schweigepflicht wurden genau beachtet. Die erhobenen Daten wurden ausschließlich mittels eines, vom internen Kliniknetz abgekoppelten Rechners, bearbeitet, zu dem nur autorisierte und direkt mit dem Projekt betraute Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der Klinik für Urologie Zugang hatten. Um Rückverfolgung der Daten zu den eingeschlossenen Patienten nach Abschluss der Datenerhebung zu verhindern, erfolgte abschließend eine terminale Anonymisierung. Die Auflagen des Datenschutzgesetzes wurden beachtet.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

3.1.1 Alters- und Geschlechtsverteilung des Patientenkollektivs

Grundlage der Studie bildete ein Patientenkollektiv von 232 Patienten, welches im Zeitraum von April 2012 bis Dezember 2012 in der Klinik für Urologie der Universitätsklinik Tübingen untersucht oder behandelt worden ist und bei dem im Rahmen dieser Behandlung eine Urinprobe zur Durchführung oben genannter Tests gewonnen werden konnte. Nach Anwendung aller bereits dargelegten Einschluss- und Ausschlusskriterien konnten 198 Patienten in die Studie eingeschlossen werden.

Von den 198 untersuchten Patienten waren 151 männlichen sowie 47 weiblichen Geschlechts, was einem Geschlechtsverhältnis von 76,3% : 23,7% (Männer : Frauen) entspricht.

Der älteste in die Auswertung einbezogene Patient war zum Zeitpunkt der Untersuchung 90 Jahre alt, die jüngste Patientin 20 Jahre. Das mittlere Alter aller Patienten betrug zum Untersuchungszeitpunkt 66 Jahre.

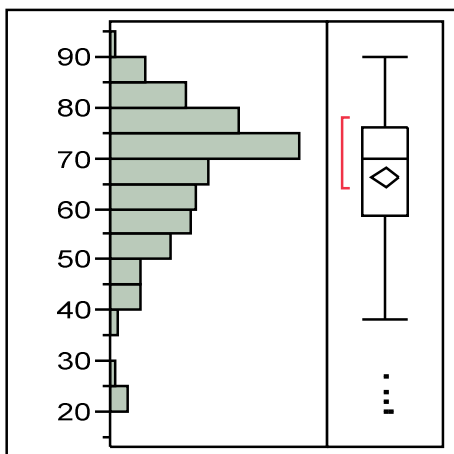


Abb. 12 - Altersverteilung der Patienten in Jahren

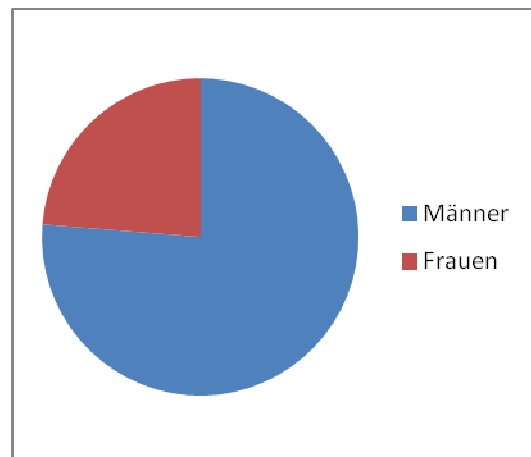


Abb. 13 - Geschlechtsverteilung

3.1.2 Alters- und Geschlechtsverteilung der Patienten mit positivem Tumornachweis

Im Rahmen der durchgeführten Zystoskopien bzw. transurethralen Resektionen und radikalen Zystektomien zeigte sich bei 58 Patienten ein positiver Nachweis eines Urothelkarzinoms im Stadium Ta bis T3 sowie bei weiteren 3 Patienten der isolierte Nachweis von Carcinoma in situ. Dies entspricht einer Verteilung von 30,8 % Tumorpatienten zu 69,2 % Patienten ohne Tumornachweis.

Der jüngste Patient hierunter war zum Zeitpunkt der Diagnose 38 Jahre alt, der älteste 90 Jahre. 53 Patienten mit positivem Tumornachweis waren männlich und nur 8 waren weiblich, was einer Geschlechtsverteilung von 86,9 % : 13,1 % (Männer : Frauen) entspricht.

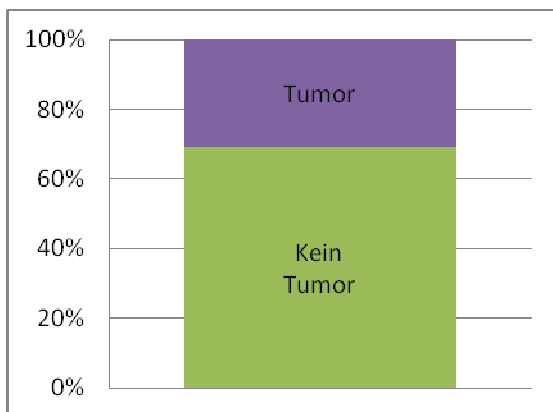


Abb. 14 - Verhältnis Tumorpatienten zu Patienten ohne Tumornachweis

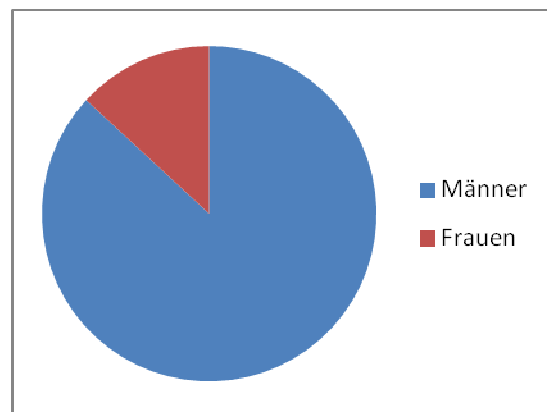


Abb. 15 - Geschlechtsverteilung der Tumorpatienten

3.1.3 Tumorstadium und Malignitätsgrad

Von den gesamten 61 Patienten mit positivem Tumornachweis hatte der größte Teil mit 41 (67,2 %) Patienten einen Tumor des Stadiums Ta, also einen oberflächlichen nicht-invasiven Tumor. 7 (11,5%) Patienten hatten ein Urothelkarzinom im Stadium T1 und 4 (6,6 %) Patienten im Stadium T2. Bei 6 (9,8 %) Patienten wurde im Rahmen einer radikalen Zystektomie sogar ein blasenüberschreitender Tumor im Stadium T3 diagnostiziert. Der Nachweis von Carcinoma in situ ohne Nachweis eines höhergradigen Tumors wurde bei 3 (4,9 %) Patienten gestellt.

Beim Grading der Tumoren wurde in der größten Gruppe mit 26 (44,8 %) Patienten ein G2-Tumor diagnostiziert. 15 (25,9 %) Patienten hatten einen G1- und 17 (29,3 %) Patienten einen G3-Tumor.

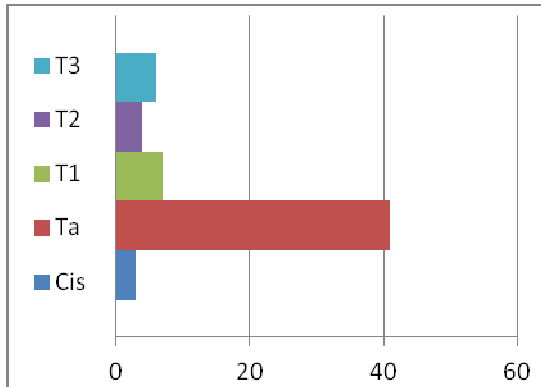


Abb. 16 - TNM-Tumorstadien

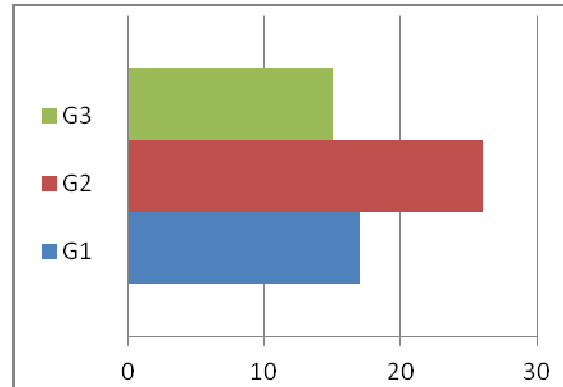


Abb. 17 - Tumor-Grading

3.1.4 Unterteilung Primär- und Rezidiv-Tumoren

Insgesamt befanden sich von den 198 ausgewerteten Patienten 51 (25,8 %) in der Nachsorge nach zuvor positivem Nachweis eines Urothelkarzinoms, bei 147 (74,2 %) war bis dahin kein Urothelkarzinom in der Vorgeschichte bekannt.

Bei der Untersuchung der 147 Patienten ohne vorangegangenen Tumornachweis fand sich in 39 (26,5 %) Fällen ein Harnblasenkarzinom, bei 108 (73,5 %) Patienten blieb der Befund negativ. Bei 22 (43,1 %) der 51 Patienten in Nachsorge fand sich im Rahmen der durchgeführten Untersuchung oder Behandlung erneut ein Urothelkarzinom, bei 29 (56,9 %) Patienten wurde kein Tumor gefunden.

3.2 Ergebnisse der Untersuchungen

Wie eingangs bereits beschrieben, wurden die Tests zur Fehlervermeidung jeweils doppelt durchgeführt. Um die beiden Messreihen voneinander unterscheiden bzw. Vergleiche vornehmen zu können, werden diese im Weiteren als UBC (I) und UBC (II) bezeichnet.

3.2.1 Visuelle Auswertung

Die visuelle Auswertung der Testkassetten erfolgte in 4 Kategorien unterteilt. War keine Bande im Feld ‚T‘ des Teststreifens erkennbar, wurde dies als negativ gewertet. War hier eine minimale Ausprägung der Messbande angedeutet, wurde ein sehr schwaches Testergebnis dokumentiert. War die Messbande erkennbar, jedoch geringer ausgeprägt als die Kontrollbande, wurde dies als schwach positives Ergebnis bewertet und bei einer deutlich sichtbaren Bande ein positives Ergebnis festgehalten. Insgesamt lag bei der visuellen Auswertung der Messkassetten der 198 ausgewerteten Patienten in der Serie UBC (I) in 99 (50 %) Fällen ein negatives Ergebnis vor. In 39 (19,7 %) Fällen wurde eine sehr schwache Reaktion des Teststreifens, bei weiteren 21 (10,6%) Proben ein schwaches Testergebnis dokumentiert. In 39 (19,7 %) Fällen wurde das Testergebnis als positiv gewertet. In Serie UBC (II) waren 105 (53,0 %) Testergebnisse negativ, 33 (16,7 %) wurden als sehr schwach positiv eingestuft, 19 (9,6 %) waren schwach und 41 (20,7 %) deutlich positiv.

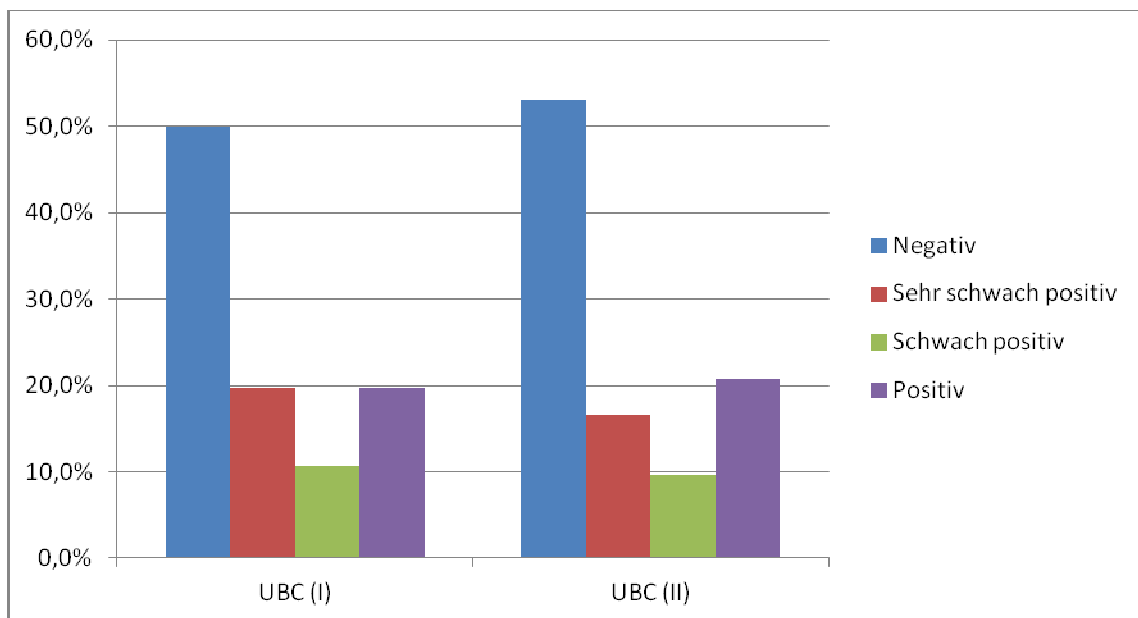


Abb. 18 - Vergleich visuelle Auswertung Serie UBC (I) und UBC (II)

3.2.1.1 Vergleich der Doppelbestimmungen

3.2.1.1.1 Cut-Off bei deutlich positiver Bande

Setzt man den Cut-Off für einen positiven Befund nur bei deutlich sichtbarer Messbande an, ergeben sich für UBC (I) und UBC (II) die folgenden Vierfeldertafeln:

	Kein Tumor (Pat. gesund)	Tumor (Pat. krank)
Testergebnis negativ	121	38
Testergebnis positiv	16	23

Tab. 12 - Kontingenztafel deutlich positive Bande UBC (I)

	Kein Tumor (Pat. gesund)	Tumor (Pat. krank)
Testergebnis negativ	120	37
Testergebnis positiv	17	24

Tab. 13 - Kontingenztafel deutlich positive Bande UBC (II)

Hieraus lässt sich eine Sensitivität für UBC (I) von 37,7 %, für UBC (II) von 39,3 % bestimmen. Die Spezifität lag in dieser Auswertung bei 88,3 % für UBC (I), respektive 87,6 % für UBC (II). Der positiv prädiktive Wert kann für UBC (I) mit 59,0 % für UBC (II) mit 58,5 % angegeben werden. Der negativ prädiktive Wert betrug hierbei 76,1 % für UBC (I) sowie 76,4 % für UBC (II) bei einer Accuracy von 72,7 % in beiden Messungen.

3.2.1.1.2 Cut-Off bei schwach positiver Bande

Wird der Cut-Off für die visuelle Auswertung niedriger angesetzt und bereits jedes schwach positive Ergebnis als positiver Befund gewertet, ergeben sich folgende Werte, die für UBC (I) und UBC (II) identisch sind.

	Kein Tumor (Pat. gesund)	Tumor (Pat. krank)
Testergebnis negativ	111	27
Testergebnis positiv	26	34

Tab. 14 - Kontingenztabelle schwach positive Bande UBC (I) + UBC (II)

Aus dieser Tabelle ergibt sich für UBC (I) und UBC (II) eine Sensitivität von 55,7 % und eine Spezifität von 81,0%. Der positiv prädiktive Wert liegt hier bei 56,7 %, der negativ prädiktive Wert bei 80,4 %. Die Accuracy beträgt 73,2 %.

3.2.1.1.3 Cut-Off bei jeder positiven Bande

Für die die visuelle Bestimmung ergibt sich bei der Auswertung, jede auftretende Messbande als positiv zu werten, folgende Vierfeldertafel für UBC (I).

	Kein Tumor (Pat. gesund)	Tumor (Pat. krank)
Testergebnis negativ	79	20
Testergebnis positiv	58	41

Tab. 15 - Kontingenztabelle jede positive Bande UBC (I)

Hieraus lässt sich eine Sensitivität von 67,2 % bei einer Spezifität von 57,7 % bestimmen. Der positive prädiktive Wert beträgt 41,4 %, der negativ prädiktive Wert 79,8 %. Die Accuracy lag bei 60,6 %.

Für UBC (II) lässt sich folgende Kontingenztabelle erstellen, aus welcher sich eine Sensitivität von 68,9 % und eine Spezifität von 62,8 % errechnen lässt. Der positiv prädiktive Wert liegt bei 45,2 %, der negativ prädiktive Wert bei 81,9 % bei einer Accuracy von 64,6 %.

	Kein Tumor (Pat. gesund)	Tumor (Pat. krank)
Testergebnis negativ	86	19
Testergebnis positiv	51	42

Tab. 16 - Kontingenztabelle jede positive Bande UBC (II)

3.2.1.1.4 Graphische Analyse

Abbildung 19 zeigt den graphischen Vergleich von Sensitivitäten und Spezifitäten der einzelnen Cut-Off-Werte.

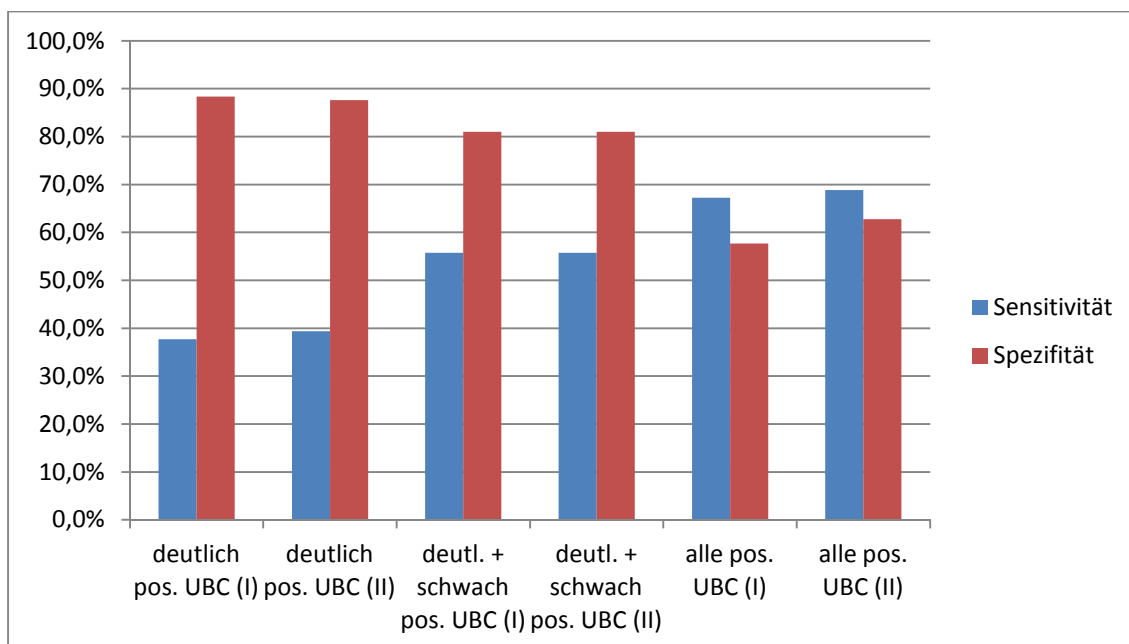


Abb. 19 - Sensitivitäten und Spezifitäten nach Cut-Off-Wert

3.2.2.1 Ergebnisse der visuellen Auswertung bei unterschiedlichen T-Stadien und Grading

Die Ergebnisse lassen sich, zumindest bezüglich der Sensitivität, weiter unterteilen nach den jeweils vorliegenden T-Stadien sowie dem Tumor-Grading. Für das Grading wurden hier die Gruppen G1- und G2-Tumoren als niedrig-maligne Tumoren sowie die G3- und Cis-Tumoren als hoch-maligne Tumoren zusammengefasst.

3.2.2.1.1 Cut-Off bei deutlich positiver Bande

Setzt man den Cut-Off für die visuelle Auswertung so an, dass nur die deutlich positiven Banden auch als positiver Befund gewertet werden, so zeigt sich für die Tumoren im Stadium Ta eine Sensitivität von nur 26,8 %. Für T1-Tumoren liegt diese bei 85,7 %, für die muskelinvasiven Tumoren im Stadium T2 bis T4 ergibt sich eine Sensitivität von 33,3 % bei allerdings nur 6 ausgewerteten Fällen.

Bei der Unterteilung nach dem Grading der Tumoren ist für die niedrig-malignen G1/G2-Tumoren eine Sensitivität von 25,6 % sowie für die G3/Cis-Tumoren von 59,1 % zu verzeichnen.

3.2.2.1.2 Cut-Off bei schwach positiver Bande

Wird als Cut-Off bereits jede schwach positive Bande als positiv gewertet, liegt die Sensitivität für Tumoren des Stadiums Ta bei 46,3 %, im Stadium T1 bei 100 % und im Stadium der muskelinvasiven Tumoren T2- T4 bei 50 %.

Für die Unterteilung nach dem Grading zeigt sich bei den niedrig-malignen G1/G2-Tumoren eine Sensitivität von 43,6 %, bei den G3/Cis-Tumoren liegt diese bei 77,3 %.

3.2.2.1.3 Cut-Off bei jeder positiven Bande

Bei der Wertung jeder positiven Bande als positivem Befund liegt die gemessene Sensitivität bei 61 % für die Ta-Tumoren, bei 100 % für die T1-Tumoren sowie bei 50 % für die Tumoren der Stadien T2 - T4.

Hier zeigt sich in der Grading-Aufteilung eine Sensitivität von 56,4 % bei den weniger aggressiven G1/G2-Tumoren und von 86,4 % bei den Tumoren des aggressiveren Typs G3/Cis.

3.2.2.1.4 Graphische Analyse

Abbildung 20 zeigt die unterschiedlichen Sensitivitäten in der Aufteilung nach T-Stadien bei den jeweiligen Cut-Off-Werten der visuellen Auswertung. Abbildung 21 stellt die Unterteilung nach dem Tumor-Grading bei den jeweiligen Cut-Off-Werten dar.

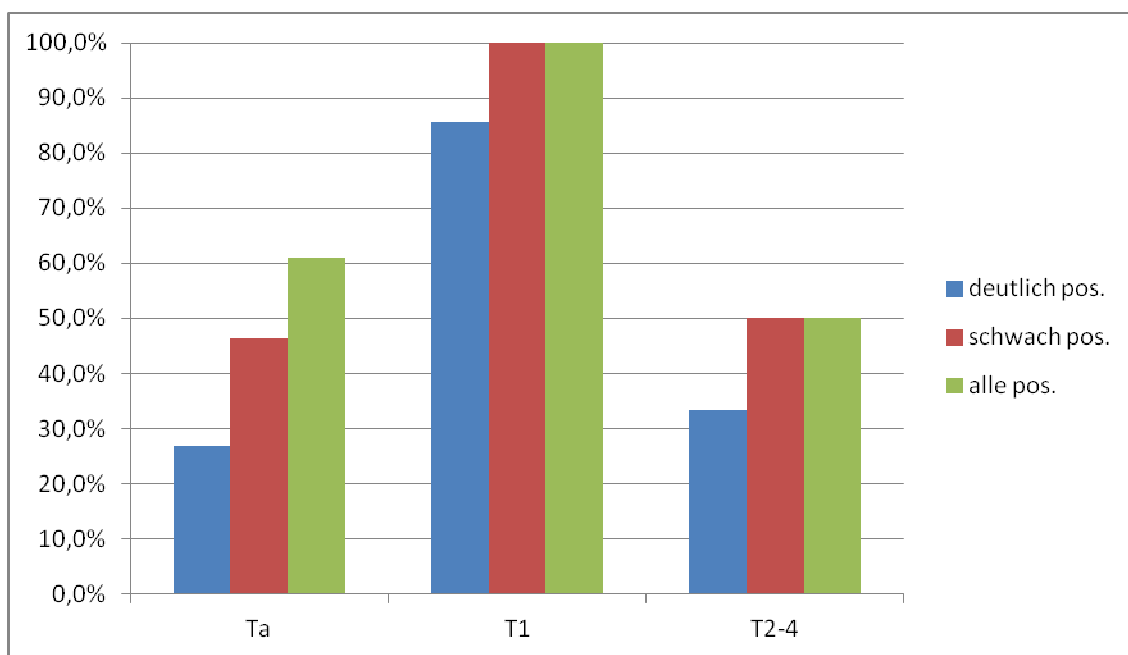


Abb. 20- Sensitivitäten in Abhängigkeit des T-Stadiums

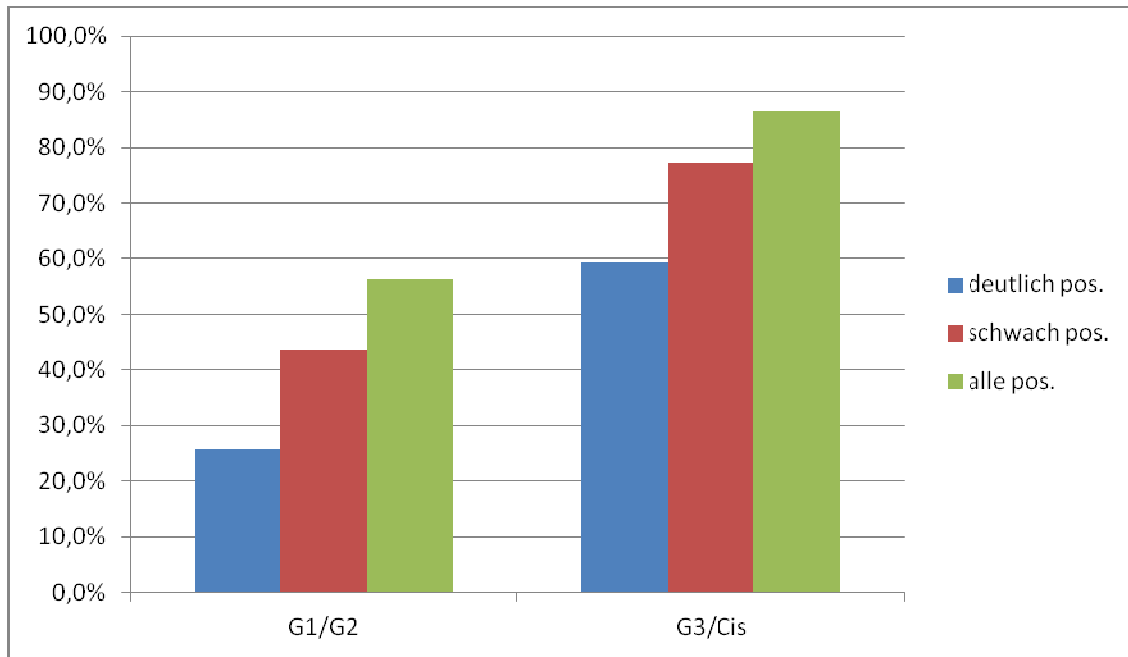


Abb. 21 - Sensitivitäten in Abhängigkeit des Tumor-Gradings

3.2.3 Ergebnisse des concile® Ω100 Reader

3.2.3.1 Vergleich der beiden Messungen UBC (I) und UBC (II)

Bei der Auswertung der beiden Messkassetten im Reader zeigte sich bei beiden Serien eine minimale UBC-Antigen-Konzentration von 3,272 µg/l. Der Maximalwert war bei beiden Serien stark unterschiedlich. Bei Serie 1 lag der höchste gemessene Wert bei einer Konzentration von 3272,0 µg/l, in Serie 2 wurden mit der gleichen Urinprobe maximal 6682,0 µg/l gemessen. Da sich diese Werte deutlich von den jeweils zweithöchsten gemessenen Werten, 587,4 µg/l bzw. 498,6 µg/l, abheben, die visuelle Auswertung bei beiden Messkassetten negativ war und auch in der ELISA-Bestimmung mit 1,9 µg/l bzw. 2,6 µg/l sehr geringe Werte gemessen wurden, ist in diesem Fall eine technisch bedingte Fehlbestimmung anzunehmen.

Der Mittelwert aller gemessenen Proben lag bei UBC (I) bei 28,20 µg/l (95% KI: 19,66 µg/l – 36,75 µg/l), die Standardabweichung betrug 60,97 µg/l.

Für UBC (II) ergab sich ein Mittelwert von 28,40 µg/l (95% KI: 20,37 µg/l – 36,44 µg/l) bei einer Standardabweichung von 57,32 µg/l.

In der linearen Regressionsanalyse der beiden Messungen ergibt sich ein statistisch signifikanter Determinationskoeffizient r^2 von 0,9095 ($p < 0,0001$). Dies belegt die gute Übereinstimmung der beiden Messungen.

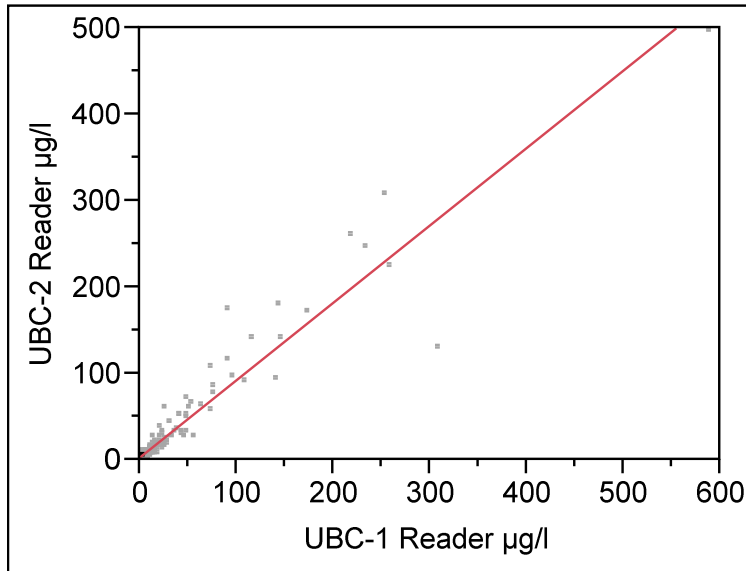


Abb. 22 - Lineare Regression für UBC (I) & UBC (II)

3.2.3.2 Ergebnisse der beiden Messungen UBC (I) und UBC (II)

Bei der Messung der Serie UBC (I) für das gesamte Patientenkollektiv zeigte sich in der tabellarischen Auswertung der Receiver-Operationscharakteristik eine Sensitivität von 60,7 % sowie eine Spezifität von 70,1 % bei einem optimalen Cut-Off-Wert für die UBC-Antigen-Konzentration von 12,25 µg/l. Die Area under the curve (AUC) lag für diese Messreihe bei 0,67704.

Bei der Messreihe der Serie UBC (II) zeigte sich eine Sensitivität von 57,4 % und eine Spezifität von 79,6 % bei einem optimalen Cut-Off-Wert von 14,49 µg/l. Hier lag die AUC bei 0,68643.

Um eine Verbesserung der Sensitivität auf beispielsweise 70 % zu erreichen, muss der Cut-Off-Wert bei UBC (I) auf 9,13 µg/l gesenkt werden, was sich in einem Abfall der Spezifität auf 56,2 % bemerkbar macht. In der Serie UBC (II) war hierfür eine Senkung des Cut-Off-Wertes auf 8,93 µg/l notwendig, was in einem Abfall der Spezifität auf 54,7 % resultiert.

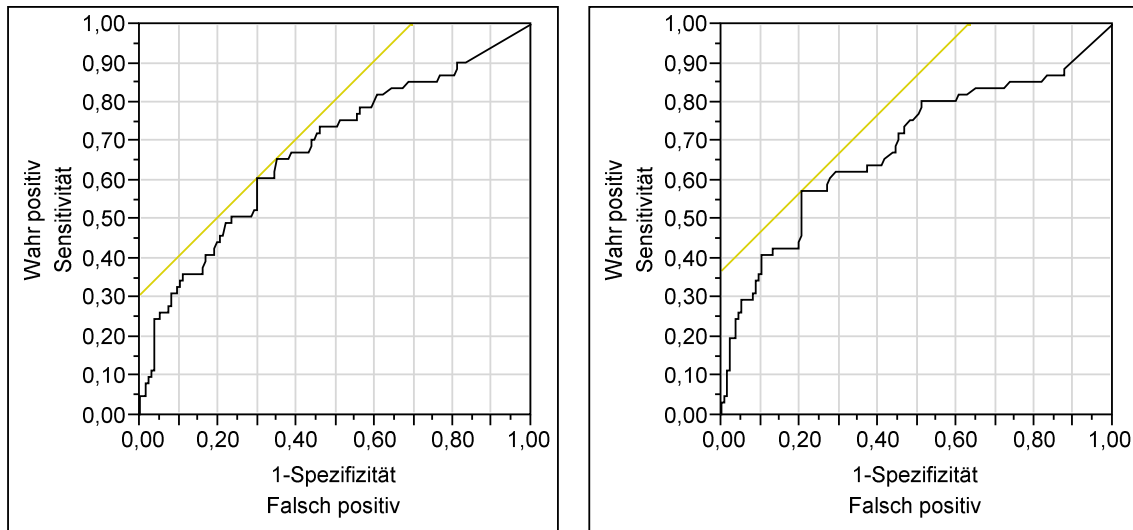


Abb. 23 - ROC alle Patienten UBC (I)

alle Patienten UBC (II)

3.2.3.3 Ergebnisse unterteilt nach Primär- und Rezidivdiagnostik

Unterteilt man das Patientenkollektiv in Primär- und Rezidivtumoren ergeben sich andere Zahlenwerte.

Für die Gruppe der Patienten ohne vorangegangenen Tumornachweis ($n = 146$) ist in Messung UBC (I) eine Sensitivität von 68,4 % mit einer Spezifität von 65,7 % bei einem Cut-Off von 11,13 $\mu\text{g/l}$ festzustellen. Die AUC liegt hier bei 0,65692.

Die zweite Messung UBC (II) weist bei einem optimalen Cut-Off von 14,49 $\mu\text{g/l}$ eine Sensitivität von 55,3 % und eine Spezifität von 79,6 % sowie eine AUC von 0,67666 auf.

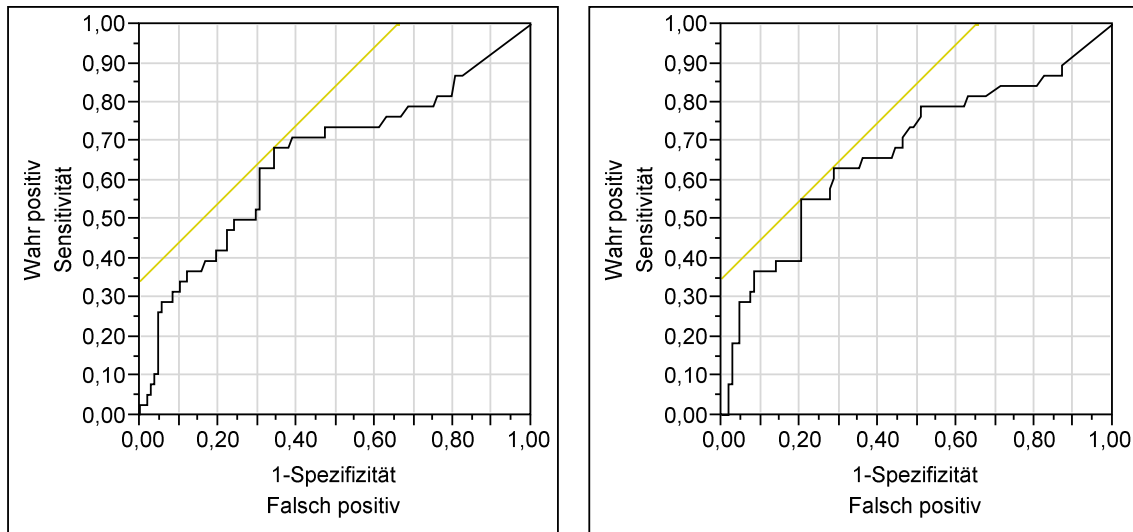


Abb. 24 - ROC Primärdiagnostik UBC (I)

Primärdiagnostik UBC (II)

Für die Gruppe der Patienten in Tumornachsorge ($n = 51$) sind in der Messreihe UBC (I) eine Sensitivität von 95,5 % und eine Spezifität von 37,9 % bei einem optimalen Cut-Off-Wert von 7,39 $\mu\text{g/l}$ festzuhalten. Die AUC betrug hier 0,71003.

Für die zweite Messung UBC (II) zeigt sich in der ROC-Tabelle eine optimale Sensitivität von 45,5 % bei einer Spezifität von 69,7 %. Hierbei lag der beste Cut-Off-Wert bei 28,64 $\mu\text{g/l}$ und die AUC betrug 0,65752.

Um in dieser Gruppe eine möglichst hohe Spezifität zu erreichen, wodurch in der Nachsorge unnötige Zystoskopien vermieden werden könnten, hier beispielhaft eine Spezifität von über 70 %, ist für UBC (I) eine Erhöhung des Cut-Off-Wertes auf 12,64 $\mu\text{g/l}$ notwendig, wodurch die Sensitivität auf 54,6 % absinkt.

Für UBC (II) muss dann ein Cut-Off von 13,23 $\mu\text{g/l}$ angesetzt werden, was in einer Spezifität von ebenfalls 54,6 % resultiert.

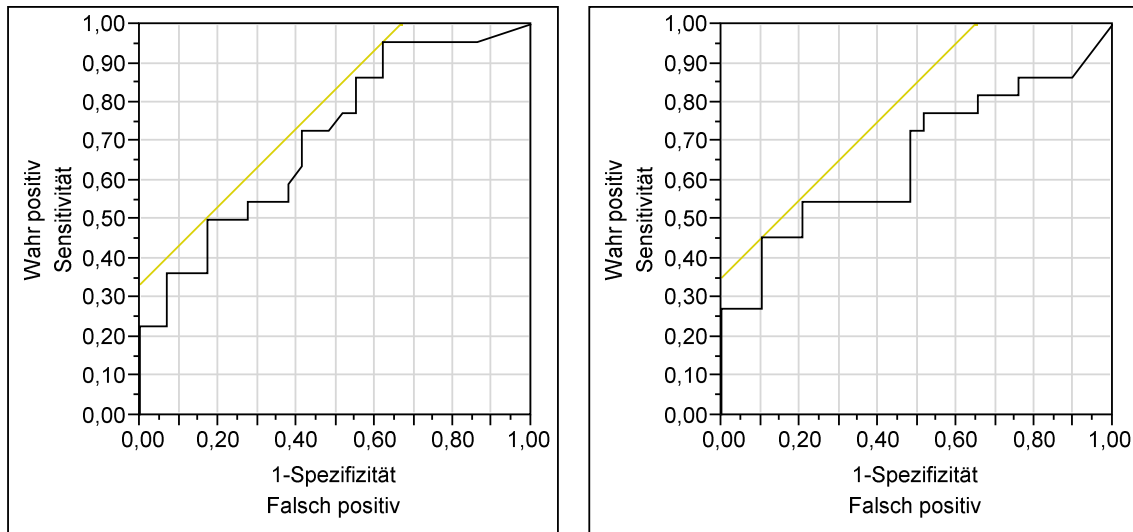


Abb. 25 - ROC Rezidivdiagnostik UBC (I)

Rezidivdiagnostik UBC (II)

3.2.3.4 Ergebnisse des Readers nach unterschiedlichen T-Stadien und Grading

Diese Auswertung erfolgt für die Messdaten des Readers nur für den definierten Cut-Off-Wert für die UBC-Antigen-Konzentration von 12,25 µg/l. Grundsätzlich ist diese Auswertung auch für jeden anderen Cut-Off-Wert sowie für beide Messserien UBC (I) und UBC (II) durchführbar, dies würde jedoch den Rahmen der hier vorliegenden Arbeit erheblich übersteigen.

Teilt man das Kollektiv der Patienten, bei denen der histopathologische Nachweis eines Urothelkarzinoms erfolgte, nach Stadien auf, zeigt sich hier bei oben angegebenem Cut-Off-Wert für die Ta-Tumoren eine Sensitivität von 56,1 %. Diese liegt im Stadium der T1-Tumoren bei 85,7 % sowie für die muskelinvasiven T2 – T4-Tumoren bei 50 %.

Führt man eine Unterteilung nach dem Grading in die Gruppen G1/G2-Tumoren und G3/Cis-Tumoren durch, so ergibt sich eine Sensitivität von 51,3 % für die G1/G2-Tumoren sowie 77,3 % für die Tumoren des Grades G3 und Cis.

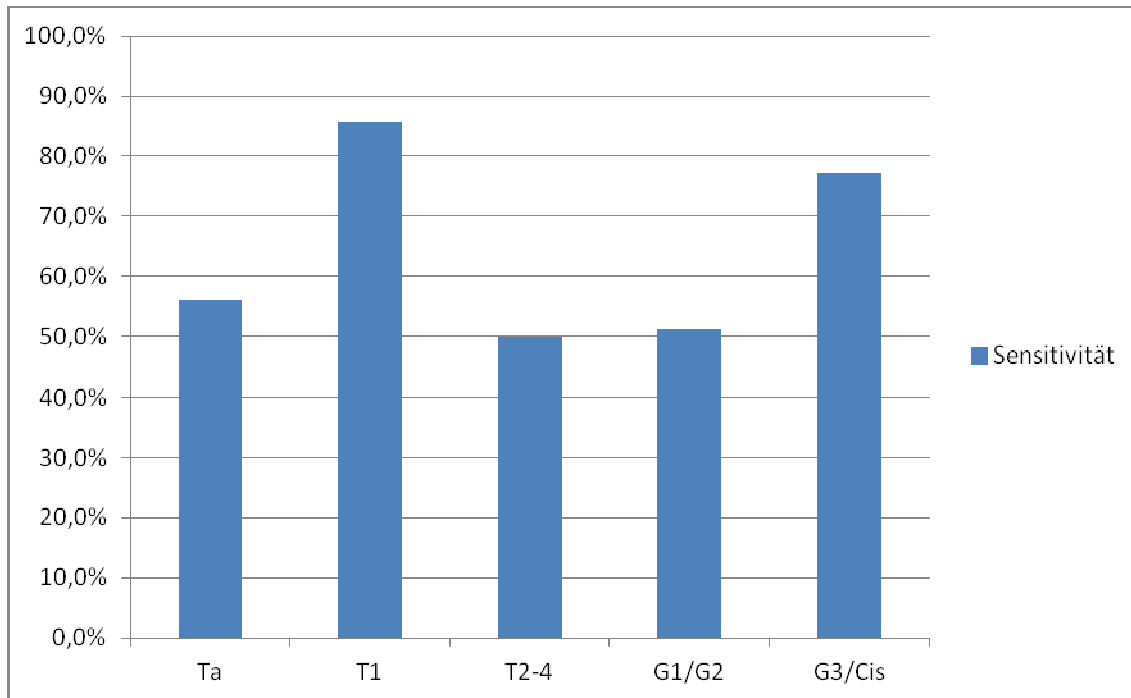


Abb. 26 - Sensitivitäten nach T-Stadium und Tumor-Grading UBC Reader bei Cut-Off 12,25 µg/l

3.2.4 Ergebnisse der Messungen des UBC-ELISA

3.2.4.1 Vergleich der beiden Messungen UBC ELISA (I) und UBC ELISA (II)

Betrachtet man vergleichend die beiden UBC-ELISA-Messungen fällt zunächst auf, dass beide Messungen im dem Verteilungsbereich ihrer Messwerte weniger differieren, als die Messungen des Readers, jedoch ebenfalls nie den Wert Null annehmen. Der minimale Messwert betrug für UBC (I) und UBC (II) 1,0 µg/l. Der höchste gemessene Wert lag in der Serie UBC (I) bei 441,9 µg/l, in Serie UBC (II) bei 506,0 µg/l. Der Mittelwert für UBC (I) war mit 35,74 µg/l (95% KI: 25,17 µg/l – 46,30 µg/l) geringfügig geringer als der Mittelwert für UBC (II) mit 35,98 µg/l (95% KI: 24,97 µg/l – 47,0 µg/l). Die Standardabweichung betrug hier 75,01 µg/l bzw. 78,19 µg/l, der Median der gemessenen Werte lag bei 7,0 respektive 7,05 µg/l.

Die statistische Bestimmung der linearen Regression zeigt unten stehende Gerade. Der Determinationskoeffizient r^2 betrug statistisch signifikant 0,9673 ($p < 0,0001$). Dies belegt die gute Übereinstimmung der gemessenen Ergebnisse.

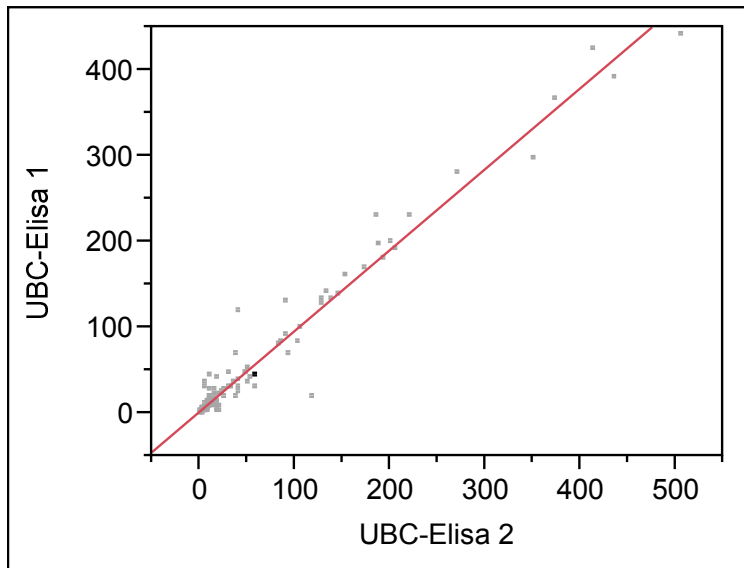


Abb. 27 - Lineare Regression der beiden ELISA-Messungen

3.2.4.2 Ergebnisse der beiden Messungen UBC ELISA (I) und UBC ELISA (II)

Für die ELISA-Messungen der Serie UBC (I) wurde in der ROC-Auswertung für das gesamte Patientenkollektiv ein optimaler Cut-Off-Wert von 8,20 µg/l bestimmt. Bei diesem Wert ergibt sich eine Sensitivität von 63,6 % bei einer Spezifität von 69,0 %. Die AUC lag bei dieser Messung bei 0,69279.

Für die Messreihe UBC (II) ELISA lag der optimale Cut-Off-Wert bei 39,0 µg/l was in einer Sensitivität von 36,7 % bei einer Spezifität von 89,0 % resultiert. Die hierbei festgestellte AUC betrug 0,63817.

Will man hier analog der Auswertung der Reader-Ergebnisse auf eine Sensitivität von mindestens 70 % kommen, so ist hierfür ein Cut-Off für UBC (I) ELISA von 6,70 µg/l festzulegen. Bei diesem Wert sinkt die gemessene Spezifität jedoch auf 58,6 % ab. Für die Messung UBC (II) ELISA ergibt sich dabei für einen Cut-Off von 5,70 µg/l eine Spezifität von 46,3 %.

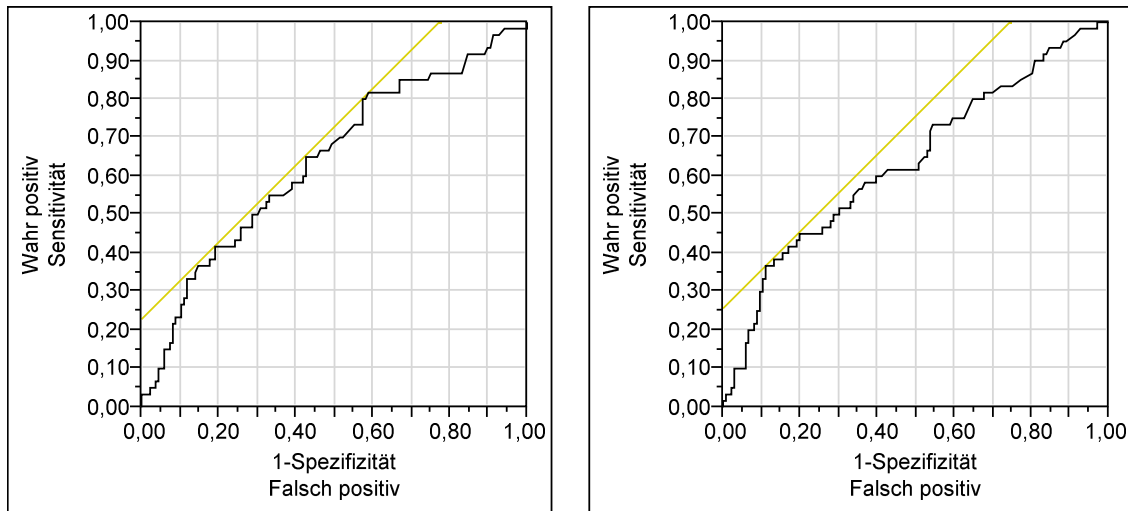


Abb. 28 - ROC alle Patienten UBC (I) ELISA

UBC (II) ELISA

3.2.4.3 Ergebnisse unterteilt nach Primär- und Rezidivdiagnostik

Auch für die Messergebnisse des ELISA erfolgte eine Unterteilung in Primär- und Rezidivdiagnostik.

Für die Gruppe der Patienten ($n=145$), die in der Vorgeschichte kein Urothelkarzinom hatten, ergab sich in der Messung UBC (I) ELISA ein optimaler Cut-Off-Wert von $34,80 \mu\text{g/l}$. Hierbei lag der Wert für die Sensitivität bei $39,5 \%$ mit einer Spezifität von $86,0 \%$. Die AUC betrug hierbei $0,62199$. Für die Messreihe UBC (II) ELISA zeigte sich eine Sensitivität von $42,1 \%$ und eine Spezifität von $86,9 \%$ bei einem best-Cut-Off von $39,0 \mu\text{g/l}$ mit einer AUC von $0,61731$.

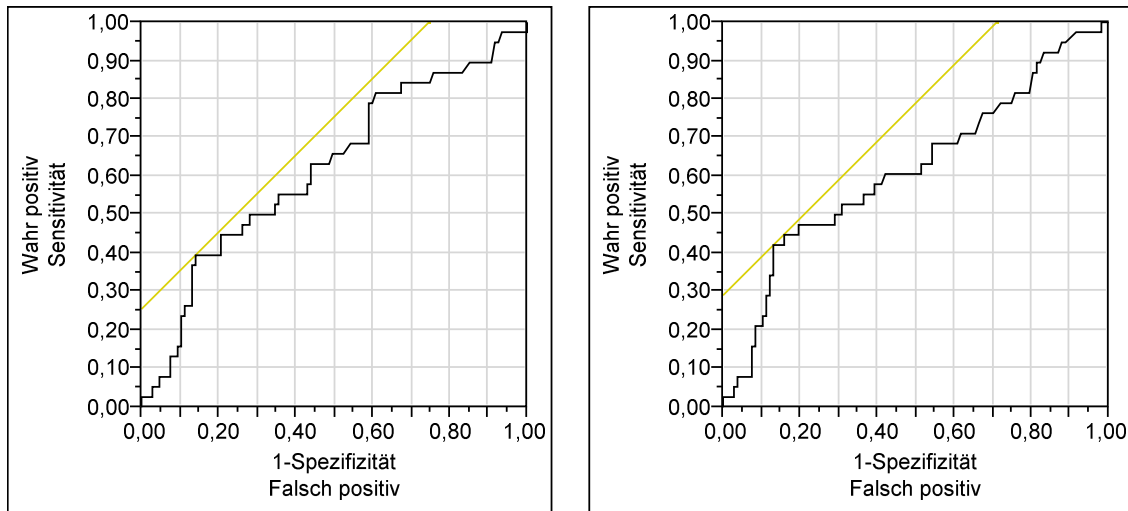


Abb. 29 - ROC Primärdiagnostik UBC (I) ELISA

UBC (II) ELISA

Für die Gruppe der Patienten ($n=51$), welche sich in Tumornachsorge befinden, zeigte sich für die Messung UBC (I) der rechnerisch optimale Cut-Off bei $8,20 \mu\text{g/l}$. Dies resultiert in einer Sensitivität von $63,6\%$ bei einer Spezifität von $69,0\%$. Die gemessene AUC betrug $0,69279$. In der zweiten Messung UBC (II) lag die Sensitivität bei $59,1\%$ bei einer Spezifität von $75,9\%$ und einer AUC von $0,71003$.

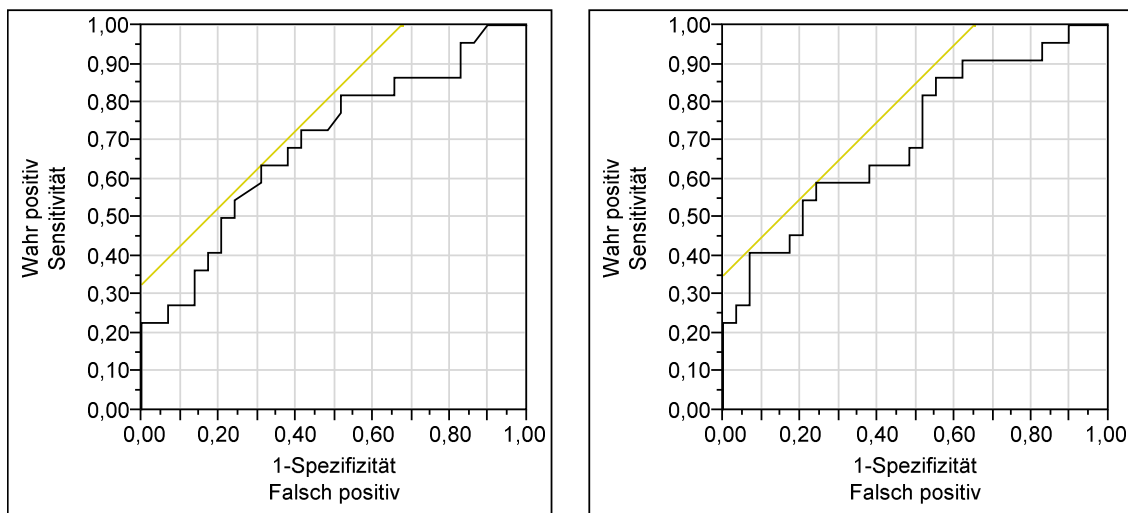


Abb. 30 - ROC Rezidivdiagnostik UBC (I) ELISA

UBC (II) ELISA

3.2.4.4 Ergebnisse des UBC-ELISA nach unterschiedlichen T-Stadien und Grading

Für die Unterteilung der Messergebnisse nach unterschiedlichen T-Stadien sowie unterschiedlichem Tumor-Grading muss für den UBC-ELISA-Test zunächst ein Cut-Off-Wert für die Definition von positiven und negativen Ergebnissen erfolgen. Hierfür wird mit $12 \mu\text{g/l}$ der Wert festgelegt, welcher von IDL Biotech, dem Hersteller des UBC-Tests, empfohlen wird und bereits in zahlreichen Studien ebenfalls angewendet wurde [Babjuk et al., 2002, Kibar et al., 2006, Mian et al., 2000b, Mungan et al., 2000].

Mit diesem Wert ergibt sich im Stadium Ta für den UBC-ELISA eine Sensitivität von 40 %. Für Tumoren im Stadium T1 wurde eine Sensitivität von 85,7 % gemessen, für die muskelinvasiven Tumoren der Stadien T2 – T4 liegt dieser Wert bei 50 %.

Unterteilt man die Messwerte nach dem Grading des festgestellten Tumors, ergibt sich für G1/G2-Tumoren eine Sensitivität von 36,8 %. Die Sensitivität für die Detektion von G3/Cis-Tumoren beträgt 68,2 %.

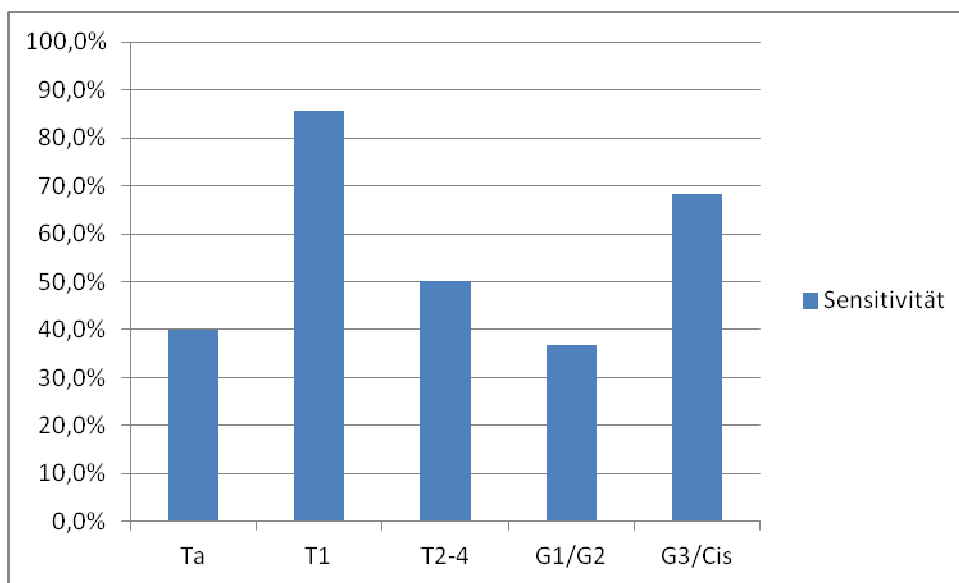


Abb. 31 - Sensitivitäten nach T-Stadien und Grading UBC-ELISA bei Cut-Off $12 \mu\text{g/l}$

3.2.5 Vergleich der Messwerte von Reader und UBC-ELISA

Lässt man den jeweils höchsten gemessenen Wert des Readers für UBC (I) und UBC (II) als Messfehler außer Beachtung, ergeben sich für die Maximalwerte ähnlich Bereiche für Reader (587,4 µg/l bzw. 498,6 µg/l) und ELISA (441,9 µg/l bzw. 506,0 µg/l).

In der linearen Regressionsanalyse der Messung von UBC (I) im Reader und mittels ELISA zeigte sich unten abgebildete Gerade. Der Determinationskoeffizient r^2 betrug hier 0,5507 bei einer statistischen Signifikanz von $p < 0,0001$.

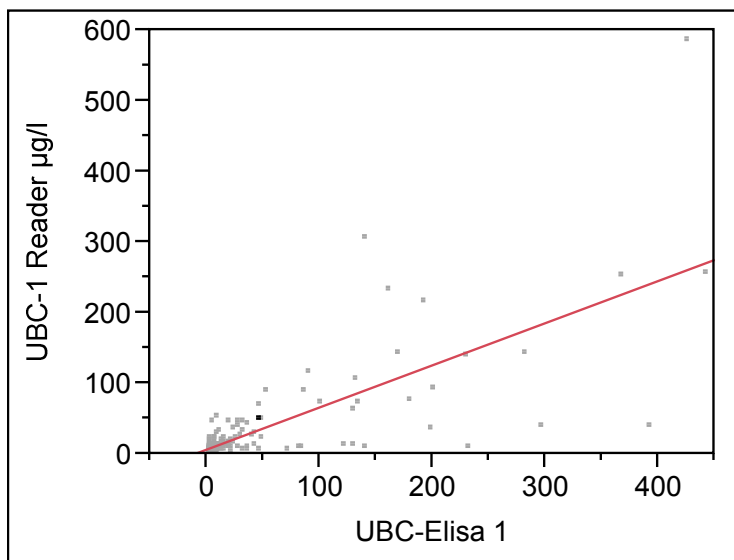


Abb. 32 - Lineare Regression der Messungen von ELISA und Reader

3.2.6 Vergleich der Sensitivitäten nach T-Stadien und Grading

Abbildung 33 zeigt den Vergleich der gemessenen Sensitivitäten unterteilt nach T-Stadien und Grading für die visuelle Auswertung für alle positiven und schwach positiven Banden, die Messwerte des Readers beim Cut-Off-Wert von 12,25 µg/l sowie die ELISA-Werte beim definierten Cut-Off von 12 µg/l.

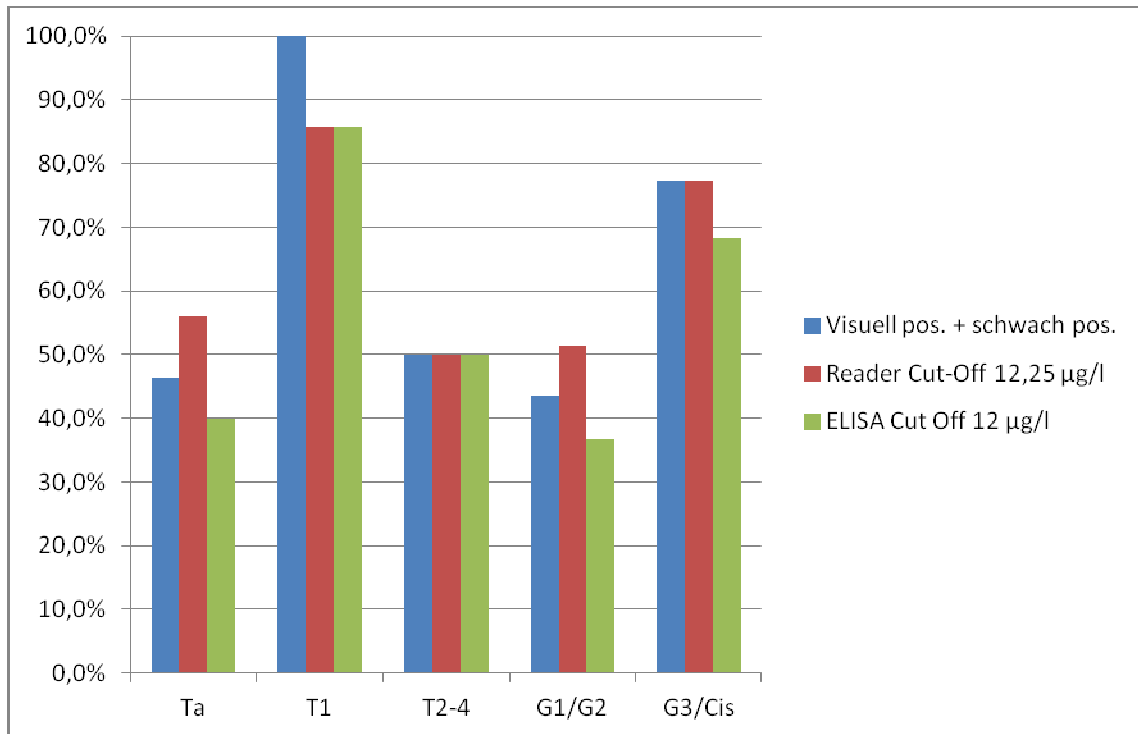


Abb. 33 - Sensitivitäten der unterschiedlichen Messverfahren im Vergleich

3.2.7 Potenzielle Einflussgrößen

3.2.7.1 Harnwegsinfekt

Ein Harnwegsinfekt (HWI) wurde nach den Kriterien von Todenhöfer et al. definiert als das Vorliegen von mind. 100 Leukozyten/ μ l Urin bei gleichzeitigem Vorliegen von mind. 1 Erythrozyten/ μ l Urin [Todenhöfer et al., 2012b].

Nach diesen definierten Kriterien lag bei insgesamt 34 (17,2 %) Patienten ein Harnwegsinfekt vor, bei 21 (10,6 %) Patienten mit einer Leukozytenkonzentration von mind. 500 Leukozyten/ μ l.

3.2.7.1.1 Beeinflussung der Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

In der Gruppe der Patienten ohne Nachweis eines Urothelkarzinoms ($n = 137$) hatten 19 (13,9 %) Patienten in der Urinstatuskontrolle Anzeichen eines HWI, bei 118 (86,1 %) Patienten lagen hierfür keine Anzeichen vor.

In der visuellen Auswertung, bei Wertung der negativen und ganz schwach positiven Messergebnisse als negativem Befund, zeigte sich in dieser Gruppe

für die Patienten mit HWI bei 8 (42,1 %) der 19 Patienten ein falsch-positiver Befund. In der Gruppe der Patienten ohne Harnwegsinfekt waren 18 (15,3 %) der 118 Patienten falsch-positiv. Dieser Unterschied erwies sich als statistisch signifikant ($P = 0,011$).

Bei Auswertung mit dem Reader bei einem Cut-Off-Wert von 12,25 $\mu\text{g/l}$ zeigte sich bei 29 (24,6 %) der Patienten ohne Nachweis eines HWI ein falsch-positiver Befund. In der Gruppe der Patienten mit Harnwegsinfekt waren dies 12 (63,2 %) der 19 Patienten. Auch dies war statistisch signifikant ($p = 0,002$).

Bei der Messung durch den ELISA, mit definiertem Cut-Off-Wert von 12 $\mu\text{g/l}$, zeigte sich bei 30 (25,4 %) der 118 Patienten ohne Harnwegsinfekt ein falsch-positiver Befund. Lag ein HWI vor, so waren 9 (50,0 %) der 18 Proben falsch-positiv bestimmt worden. Der P-Wert lag bei 0,048.

Für die Urinzytologie zeigte sich bei 23 (20,5 %) der 112 ausgewerteten Patienten ohne Harnwegsinfekt ein falsch-positiver Befund, bei den Patienten mit HWI hatten 5 (31,3 %) der 16 ausgewerteten Patienten einen falsch-positiven Befund. Dies war jedoch nicht statistisch signifikant.

3.2.7.1.2 Beeinflussung der Tests bei Patienten mit Tumornachweis

In der Gruppe der Patienten mit positivem Tumornachweis ($n = 61$) lag bei 15 (24,6 %) Patienten ein Harnwegsinfekt vor, 46 (75,4 %) hatten keine Anzeichen für einen solchen.

Für die visuelle Auswertung, bei Wahl des Cut-Off bei schwach positiver Bande, zeigte sich bei 24 (52,2 %) der 46 Patienten ohne HWI ein falsch-negativer Befund. Bei Vorliegen eines HWI, wie dies bei 19 Patienten feststellbar war, lag die Rate der falsch negativen bei 3 (20 %). Dies war mit einem P-Wert von 0,038 statistisch signifikant.

Die Reader-Auswertung bei der Cut-Off-Schwelle von 12,25 $\mu\text{g/l}$ zeigte hier für Patienten ohne HWI-Nachweis 20 (43,5 %) falsch-negative Ergebnisse gegenüber 4 (26,7 %) falsch-negativen Ergebnissen bei den Patienten mit vorliegendem HWI. Das Signifikanzniveau betrug hier 0,363.

Erfolgte die Bestimmung der Messwerte des UBC-Antigens durch den ELISA zeigte sich bei 5 (35,7 %) der Proben ein falsch-negatives Ergebnis bei Vorliegen eines Harnwegsinfektes. War kein HWI nachweisbar, wurden 26 Proben (56,2 %) falsch-negativ beurteilt ($p = 0,227$)

Die Untersuchung der Zytologie zeigte für 21 (48,8 %) der 43 ausgewerteten Patienten ohne HWI einen falsch-negativen Befund. Bei den Zytologien der Patienten mit HWI zeigte sich bei 7 (46,7 %) Patienten der Befund falsch-negativ. Der P-Wert betrug hier 1,0, was nicht statistisch signifikant war.

3.2.7.2 Urolithiasis

Auch Fremdkörper im harnableitenden System können die Ergebnisse von urinbasierten Tumormarkertests beeinflussen. In dieser Studie wurde das Vorhandensein von künstlichen Fremdkörpern wie etwa Kathetern oder Harnleiterschienen bereits als Ausschlusskriterium gewertet. Der Einfluss einer Urolithiasis wurde jedoch in die Auswertung einbezogen. Insgesamt lag bei 12 (6,3 %) von 192 Patienten eine Urolithiasis vor, bei 6 Patienten war dies nicht eindeutig zu evaluieren.

3.2.7.2.1 Beeinflussung der Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Für die visuelle Auswertung, der Cut-Off wurde hier wieder bei schwach positiven Banden gesetzt, zeigte sich für 7 (58,3 %) der 12 Patienten mit Steinnachweis ein falsch-positiver Befund. Ohne Nachweis einer Urolithiasis waren 18 (15,0 %) von 120 Patienten falsch-positiv diagnostiziert worden. Dies war mit einem P-Wert von 0,002 statistisch signifikant.

Die Auswertung mit dem Reader bei Cut-Off von 12,25 $\mu\text{g/l}$ zeigte hier 8 (66,7 %) der 12 Steinpatienten falsch-positiv an. Bei den Patienten ohne nachweisbarem Konkrement waren 33 (27,5 %) der 120 Patienten falsch-positiv bestimmt ($p = 0,009$).

Bei der ELISA-Messung der UBC-Konzentration zeigte sich, bei einem definierten Cut-Off-Wert von 12 $\mu\text{g/l}$, bei 29 (24,2 %) der 120 Patienten ohne Urolithiasis ein falsch-positives Ergebnis. Lag eine Urolithiasis vor, so waren 10

(91,0 %) der Proben falsch-positiv bestimmt worden. Auch dieses Ergebnis war statistisch signifikant ($p < 0,0001$).

In der Urinzytologie wurden 6 (60,0 %) der 10 Steinpatienten, von denen ein zytologischer Befund vorlag, falsch-positiv diagnostiziert, in der Gruppe der Patienten ohne Steinnachweis waren 21 (18,4 %) von 114 Patienten falsch-positiv. Dies erwies sich ebenfalls als statistisch signifikant ($p = 0,007$).

3.2.7.2.2 Beeinflussung der Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Da bei keinem der 12 Patienten mit positivem Nachweis einer Urolithiasis gleichzeitig ein Urothelkarzinom nachgewiesen wurde, war diese Auswertung aus den vorliegenden Daten nicht zu erstellen.

3.2.7.3 Mikrohämaturie

Als Mikrohämaturie wurde eine Menge von mindestens 100 Erythrozyten pro Mikroliter Urin bei der Untersuchung im Urinstreifentest definiert. Eine Mikrohämaturie lag damit bei insgesamt 43 (21,7 %) der 198 Patienten vor. Keiner der eingeschlossenen Patienten hatte zum Zeitpunkt der Urinabgabe eine Makrohämaturie.

3.2.7.3.1 Beeinflussung der Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

In der Gruppe der Patienten bei denen ein Harnblasenkarzinom ausgeschlossen werden konnte, zeigte sich für die visuelle Auswertung der UBC Rapid Testkassetten, unter Beachtung von allen positiven und schwach positiven Testbänden, bei Vorliegen einer Mikrohämaturie bei 10 (50,0 %) von 20 Proben ein falsch-positiver Befund. Lag keine Mikrohämaturie vor, wurden 16 (13,7 %) von 117 Proben falsch-positiv beurteilt ($p = 0,001$)

Bei der Auswertung der Testkassetten im Reader, wieder bei definiertem Cut-Off von 12,25 $\mu\text{g/l}$, waren 12 (60,0 %) der 20 Proben mit Mikrohämaturie falsch-positiv. Ohne vorliegende Mikrohämaturie waren dies 29 (24,8 %) von 117 ausgewerteten Urintests ($p = 0,003$).

Erfolgte die Bestimmung der UBC-Antigen-Konzentration mittels ELISA, waren bei einem Cut-Off-Wert von 12 $\mu\text{g/l}$, bei vorliegender Mikrohämaturie, 11 (57,9

%) der 19 Proben falsch-positiv. Ohne Mikrohämaturie waren dies 28 (23,9 %) von 117 Tests ($p = 0,005$)

Für die Urinzytologie zeigte sich für 7 (43,8 %) der 16 Proben mit Mikrohämaturie eine falsch-positive Befundung, ohne Mikrohämaturie waren 18 (18,8 %) der 112 Proben falsch-positiv ($p = 0,046$).

3.2.7.3.1 Beeinflussung der Tests bei Patienten mit Tumornachweis

War in der durchgeführten Zystoskopie ein Harnblasenkarzinom nachgewiesen worden, zeigte sich in der visuellen Auswertung bei 8 (34,8 %) der 23 Patienten mit Mikrohämaturie ein falsch-negativer Befund. War keine Mikrohämaturie nachweisbar, lag bei 19 (50,0 %) von 39 Patienten ein falsch-negativer Befund vor ($p = 0,295$).

Die Auswertung durch den Reader zeigte bei vorliegender Mikrohämaturie und einem Cut-Off von 12,25 $\mu\text{g/l}$ bei 7 (30,4 %) von 23 Patienten einen falsch-negativen Befund an. Ohne Nachweis einer Mikrohämaturie waren 18 (47,4 %) von 38 Proben falsch-negativ befundet ($p = 0,283$).

Bei den Messwerten des ELISA, als Cut-Off wurde hier wieder 12 $\mu\text{g/l}$ gewählt, waren 7 (30,4 %) der 23 ausgewerteten Proben mit Mikrohämaturie falsch-negativ. Ohne Mikrohämaturie lag bei 24 (64,9 %) von 37 Patienten ein falsch-negativer Befund vor ($p = 0,016$).

Die Zytologie zeigte für 6 (27,3 %) der Patienten mit Mikrohämaturie einen falsch-negativen Befund, war keine Mikrohämaturie nachweisbar, waren 22 (61,1 %) von 36 Proben falsch-negativ befundet worden.

3.2.7.4 Graphische Analyse

An der graphischen Darstellung der einzelnen Einflussfaktoren lässt sich erkennen, dass sowohl das Vorhandensein eines Harnwegsinfektes, als auch einer Urolithiasis, als auch einer Mikrohämaturie bei Patienten ohne Tumor mit einer erhöhten Rate an falsch-positiven Befunden einhergeht. Dies ist in Abbildung 34 dargestellt.

Abbildung 35 zeigt die Rate der falsch-negativen Befunde bei Patienten mit positivem Tumornachweis in Abhängigkeit von den jeweiligen Einflussfaktoren.

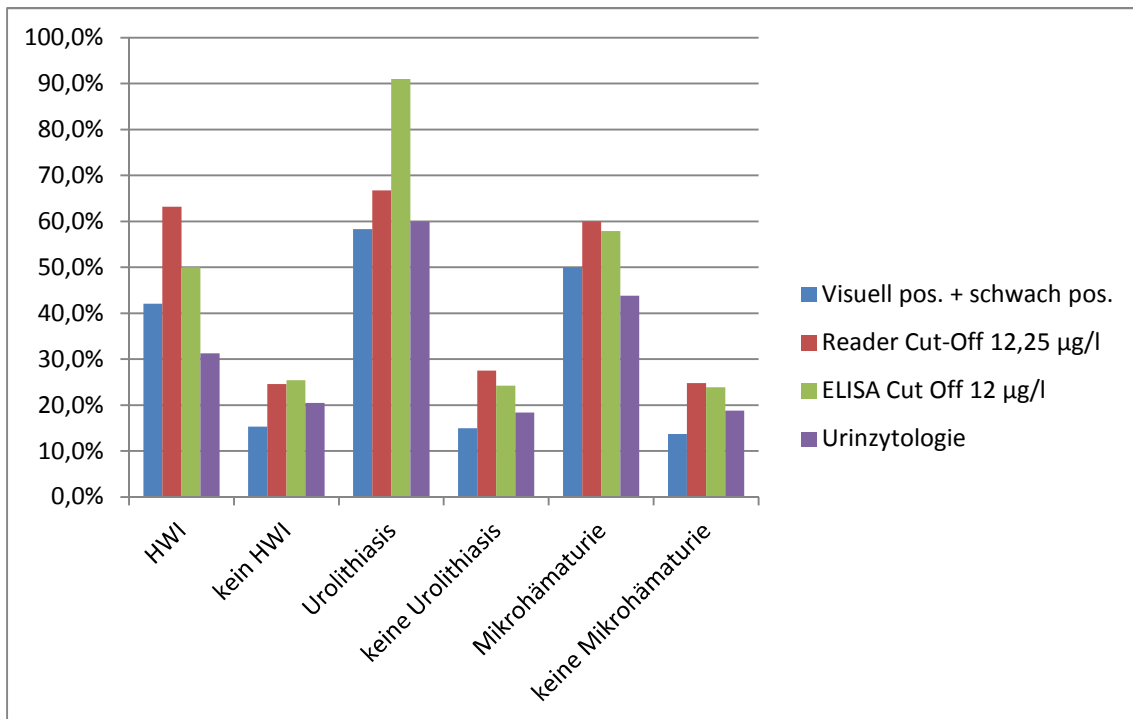


Abb. 34 - Rate der falsch-positiven Befunde bei Patienten ohne Tumornachweis

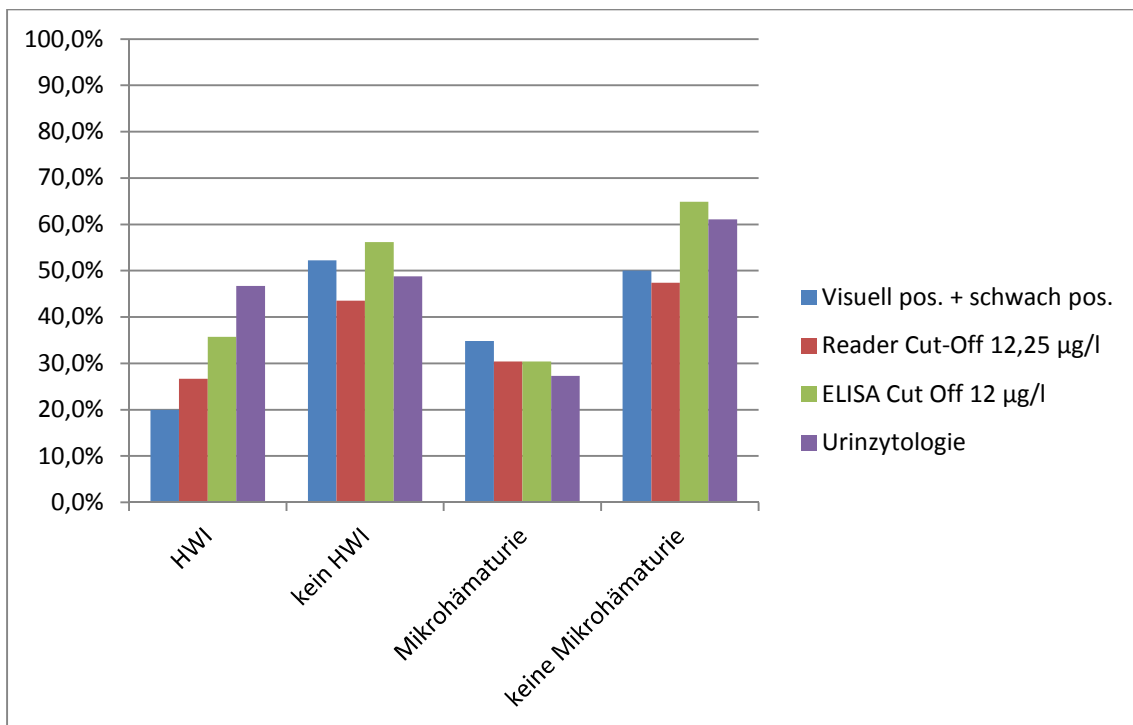


Abb. 35 - Rate der falsch-negativen Befunde bei Patienten mit Tumornachweis

3.2.8 Vergleichende Messungen anderer Urinparameter im Kollektiv

3.2.8.1 Urinzytologie

Bei den durchgeführten Urinzytologien war von den 198 Proben bei 11 (5,6 %) Proben keine Auswertung möglich. Dies lag zumeist daran, dass in der Probe auch nach der Aufbereitung keine ausreichend beurteilbare Zellmenge vorlag. Von den übrigen 187 Proben wurden 129 (65,2 %) als negativ beurteilt. Bei weiteren 21 (10,6 %) waren zumindest suspekta Zellen vorhanden. Diese wurden in der Auswertung ebenfalls als positiv gewertet. Bei den übrigen 37 (18,7 %) Proben lag ein eindeutig positiver Befund vor.

Die Kontingenztafel stellt sich dabei wie folgt dar.

	Kein Tumor (Pat. gesund)	Tumor (Pat. krank)
Testergebnis negativ	100	29
Testergebnis positiv	28	30

Tab. 17 - Kontingenztafel Urinzytologie

Hieraus ergibt sich eine Sensitivität von 50,8 % sowie eine Spezifität von 78,1 %. Dieser Test war statistisch signifikant ($p = 0,0002$). Der positive und negative prädiktive Wert lagen bei 51,7 % bzw. 77,5 % bei einer Accuracy von 69,5 %.

3.2.8.2 NMP22

Der NMP22-BladderChek-Schnelltest konnte aus Gründen der Testverfügbarkeit nicht direkt von Beginn der Studie an parallel mitgeführt werden. Von den 198 eingeschlossenen Patienten liegt daher nur bei 189 Patienten ein Ergebnis der Messung des NMP22 Testes vor. Im Gegensatz zur Auswertung der UBC-Teststreifen wurde hier jedes Auftreten einer Messbande, unabhängig von der Stärke der Ausprägung, als positives Ergebnis gewertet.

Von den 189 gemessenen Proben war in 16 (8,5 %) Fällen ein positives Testergebnis festgestellt worden. In 10 Fällen lag tatsächlich ein Tumor vor, was einer Sensitivität von 16,4 % entspricht. Die Spezifität für den NMP22-Test lag bei in dieser Studie bei 95,3 %. Diese Messung war ebenfalls statistisch signifikant ($p = 0,011$). Der positiv prädiktive Wert lag bei 62,5 %, der negativ prädiktive Wert bei 70,5 %, die Accuracy betrug 69,8 %.

	Kein Tumor (Pat. gesund)	Tumor (Pat. krank)
Testergebnis negativ	122	51
Testergebnis positiv	10	6

Tab. 18 - Kontingenztabelle NMP22 BladderChek

4. Diskussion

4.1 Urinbasierte Tumormarker in der Diagnostik des Urothelkarzinoms

Der Ansatz, urinbasierte Tumormarker in der Primär- sowie Rezidivdiagnostik des Harnblasenkarzinoms einsetzen zu wollen, ist vielversprechend. Vor allem die frühzeitige Erkennung aggressiver high grade-Tumoren ist wichtiger Bestandteil einer guten Diagnostik und hat essentielle Bedeutung für die jeweilige Prognose [Lokeshwar und Soloway, 2001]. Gerade bei der Erkennung dieser aggressiven Tumoren sowie der konventionell zystoskopisch nicht sichtbaren Cis-Tumoren bieten Urinmarkertests Vorteile und können zu einer Verbesserung der Detektionsrate beitragen [Babjuk et al., 2011].

Auch ökonomische Aspekte sind bei der Betrachtung der hohen Folgekosten der Behandlung eines fortgeschrittenen Harnblasenkarzinoms nicht zu verachten [Sievert et al., 2009]. Trotzdem ist bislang kein urinbasierter Tumormarker bekannt, dessen Sensitivität und Spezifität ausreichend hoch ist, um die Zystoskopie als diagnostischen Goldstandard zu ersetzen. Auch in den Leitlinien zum Harnblasenkarzinom der EAU finden sich aktuell keine Empfehlungen zur Durchführung urinbasierter Tumormarkertests [Stenzl et al., 2011]. Dies hängt neben dem Mangel an ausreichend großen Studien vor allem mit den stark variierenden Protokollen und den unterschiedlich definierten Cut-Off-Werten sowie der daraus resultierenden fehlenden Vergleichbarkeit der vorhandenen Studien zusammen [Budman et al., 2008].

Obwohl in den letzten Jahren mehrere Urintestverfahren durch die FDA zugelassen wurden, ist deren Akzeptanz, aufgrund der meist geringeren Spezifität im Vergleich zur Urinzytologie, weiterhin sehr begrenzt [Caraway und Katz, 2010]. Häufig wird im Zusammenhang mit urinbasierten Tumormarkertests die Anfälligkeit hinsichtlich zahlreicher möglicher Störfaktoren, wie etwa Harnwegsinfekte, vorangegangene Zystoskopien,

transurethrale Resektionen oder andere mechanische Manipulationen wie zum Beispiel Katheterisierungen angeführt [Todenhöfer et al., 2012b].

Auch die Kombination unterschiedlicher Urintumormarker, vor Allem in Verbindung mit der Urinzytologie, wurde bereits untersucht und kann die Qualität der Diagnostik verbessern sowie die Detektionsrate von Urothelkarzinomen erhöhen [Horstmann et al., 2009, Todenhöfer et al., 2012a].

Langfristig gesehen haben urinbasierte Tumormarker das Potential, in der routinemäßigen Diagnostik des Urothelkarzinoms eine wesentliche Rolle zu spielen um die Durchführung weiterer invasiver und teurer Untersuchungen zu vermeiden bzw. deren Häufigkeit in der Nachsorge zu reduzieren. Nach dem derzeitigen Stand ist ihre diagnostische Zuverlässigkeit jedoch nicht ausreichend hoch, um die etablierten Verfahren, Zystoskopie und Urinzytologie, zu ersetzen.

4.2 Einsatzgebiete urinbasierter Tumormarker

Die möglichen Einsatzgebiete für Urintumormarkertests sind vielfältig. Prinzipiell ist ihr Einsatz im Rahmen eines Harnblasenkarzinomscreenings denkbar. Dies ist jedoch, aufgrund der insgesamt geringen Prävalenz des Urothelkarzinoms in der Gesamtbevölkerung, allenfalls für ein ausgewähltes Risikokollektiv sinnvoll, da zahlreiche Risikofaktoren für die Entstehung eines Urothelkarzinoms heute bekannt sind [Kirkali et al., 2005]. Nasterlack et al. haben das Screening für Harnblasenkarzinome in einer Längsschnittstudie über 7 Jahre mit 1600 Männern evaluiert, die während des Berufslebens eine Exposition für aromatische Amine hatten. Bemängelt wurde dabei, dass aufgrund der geringen Spezifität der aktuell vorhandenen Tumormarker eine hohen Rate falsch-positiver Befunde und dadurch eine erhöhte Zahl an unnötigen kostspieligen und invasiven weiteren Untersuchungen anfallen würde [Nasterlack et al., 2011].

Ein weiteres Einsatzgebiet ist die Primärdiagnostik bei Patienten mit Symptomen, die auf das Vorliegen eines Harnblasenkarzinoms hindeuten

könnten, wie etwa Mikro- oder Makrohämaturie sowie dysurische Beschwerden. Hier wäre das beabsichtigte Ziel, die Vermeidung einer Zystoskopie zur weiteren Abklärung, die vergleichsweise aufwendig und für den Patienten unangenehm ist. Besonders da die Sensitivität der häufig eingesetzten Urinzytologie, vor allem bei niedrig-malignen Tumoren, gering ist, scheint hier eine Ergänzung der Diagnostik durch urinbasierte Tumormarker sinnvoll zu sein, um die Notwendigkeit einer weiteren zystoskopischen Abklärung zu überprüfen [Todenhöfer et al., 2012a]. Auch die Rezidivdiagnostik beziehungsweise die Nachsorge von Patienten nach Resektion eines oberflächlichen Urothelkarzinoms ist ein denkbare Einsatzgebiet für urinbasierte Tumormarker. Hierbei sollte durch einen verlässlichen Marker die Häufigkeit von invasiven, vergleichsweise teuren und für den Patienten belastenden Nachsorgezystoskopen gesenkt werden können. Hierzu besteht jedoch bisher keine ausreichend valide Datenlage, so dass vom Ersatz von Verlaufszystoskopen durch Harnblasentumormarker derzeit noch abgeraten wird [Babjuk et al., 2011].

4.3 Limitationen der heute eingesetzten Urinmarker

4.3.1 Technische Limitationen

Die meisten Testverfahren überschreiten in ihren technischen Anforderungen bereits die Ausstattung und Erfahrung von Routine-Laboren und sind daher nur spezialisierten Zentren vorbehalten. Allein der hohe Zeitaufwand für die Durchführung eines spezialisierten ELISA-Tests, welcher sich bei größerer Probenanzahl wieder amortisiert, macht die Messung für kleine Labors mit geringer Anzahl an anfallenden Proben unrentabel. Auch die notwendige Erfahrung zur Beurteilung der einzelnen Tests, um eine ausreichende Sensitivität zu erreichen, ist nicht zu unterschätzen. Dies gilt vor allem auch für die sehr aufwendigen und teuren Verfahren uCyt+ und FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung), welche zwar keine Tumormarker im eigentlichen Sinn darstellen, jedoch bei der Bewertung urinbasierter Untersuchungsverfahren nicht außer Acht gelassen werden dürfen. Sowohl für uCyt+, bei dem

fluoreszenzmarkierte Antikörper gegen Oberflächenantigene von malignen Urothelzellen gerichtet werden, als auch für die FISH-Untersuchung, bei der chromosomale Veränderungen mittels Fluoreszenz sichtbar gemacht werden, ist neben ausreichend Zeit zur Beurteilung einer verhältnismäßig großen Zellmenge, auch eine entsprechende Expertise notwendig [Protzel und Hakenberg, 2010].

Auch die Kosten der aktuell im Einsatz befindlichen Harnblasentumormarker sind nicht zu verachten. Ist eine Urinzytologie mit 18,26 € oder ein NMP22-Test mit 20,11 € an der Universitätsklinik Tübingen noch vergleichsweise billig, kostet die Durchführung eines FISH-Tests mit 204,59 € oder ein uCyt+-Test mit 195,59 € schon jeweils etwa das zehnfache [Horstmann et al., 2009]. Vor allem auch bei Durchführung von Kombinationen der oben genannten Testverfahren, wie dies von Horstmann et al. und Todenhöfer et al. untersucht wurde, fallen erhebliche Kosten von mehreren hundert Euro an, die die Kosten einer Zystoskopie um ein Vielfaches übersteigen [Horstmann et al., 2009, Todenhöfer et al., 2012a].

Umso wichtiger erscheint in diesem Kontext der Stellenwert einer einfach durchzuführenden, verlässlichen und günstigen POC-Diagnostik.

4.3.2 Störfaktoren

4.3.2.1 Harnwegsinfekte

Zahlreiche Störfaktoren sind bisher berichtet worden, welche einen Einfluss auf das Ergebnis von Harnblasentumormarkern haben können. Zu diesen Störfaktoren gehört unter anderem auch das Vorliegen eines Harnwegsinfektes. Dies hat in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms umso größere Bedeutung, da Harnwegsinfekte auch tumorassoziiert auftreten können. Todenhöfer et al. konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass das Vorliegen eines Harnwegsinfektes sich sowohl bei Proteinmarkern, wie etwa dem NMP22-Test, als auch auf zellbasierte Systeme auswirken kann. Der Einfluss auf NMP22 war in ihrer Studie jedoch am größten. Hier wurde die Rate an falsch-positiven Befunden für

NMP22 von 61,4 % bei Patienten ohne Harnwegsinfekt bei Vorliegen eines solchen auf 85,3 % erhöht [Todenhöfer et al., 2012b]. Auch Atsü et al. konnten zeigen, dass die gemessenen NMP22-Werte bei Vorliegen eines Harnwegsinfektes bei statistischer Signifikanz über den Werten von Patienten mit Harnblasenkarzinom liegen und somit die Rate falsch-positiver Befunde stark erhöht ist [Atsü et al., 2002]. In der Arbeit von Silen et al. zeigten sich ebenfalls erhöhte Werte für die UBC-Antigen-Konzentration bei begleitendem Vorliegen von Harnwegsinfekten [Silen et al., 2000]. In einer weiteren Studie von Jeong et al. lagen die gemessenen Werte der untersuchten Tumormarker in der Gruppe der Patienten mit Harnwegsinfekt zwar unter denen der Gruppe mit Blasentumoren, jedoch signifikant über dem Niveau gesunder Probanden [Jeong et al., 2012].

In der hier vorgestellten Studie zeigte sich das Vorliegen eines Harnwegsinfektes ebenfalls als statistisch signifikanter Einflussparameter für das Ergebnis des UBC-Tests. Bei der visuellen Auswertung der tumorfreien Patienten war hier die Rate der falsch-positiven Befunde bei Vorliegen eines Harnwegsinfektes (42,1 %) gegenüber den Patienten ohne Harnwegsinfekt (15,3 %) deutlich erhöht. Dies ließ sich ebenfalls für die Messung durch den Reader bestätigen, in der 24,6 % ohne gegenüber 63,2 % mit HWI einen falsch-positiven Befund hatten.

Auch die Rate der falsch-negativen Befunde bei Vorliegen eines Tumors war statistisch signifikant vom Vorliegen eines Harnwegsinfektes abhängig. Hier zeigte sich eine Reduktion dieser Rate, für die visuelle Auswertung von 52,2 % auf 20 % bei Vorliegen eines HWI, bei der Auswertung durch den Reader von 43,5 % auf 26,7 %. Dies deutet darauf hin, dass ein Harnwegsinfekt häufiger mit einem positiven Ergebnis korreliert und somit das Testergebnis verfälschen kann.

Auf die Auswertung der Urinzytologie hatte das Vorliegen eines Harnwegsinfektes keinen signifikanten Einfluss.

4.3.2.2 Mechanische Manipulation

Auch mechanische Manipulationen am Harntrakt, zum Beispiel durch Zystoskopien, Katheterisierung zur direkten Uringewinnung oder Konkremente können die Ergebnisse von urinbasierten Tumormarkern signifikant verändert werden. Hier zeigte sich in der Studie von Todenhöfer et al. eine Steigerung der Rate an falsch-positiven Befunden für den NMP22-Test von 38,4 % auf 74,3 %. Rechnet man dabei die Patienten mit gleichzeitig vorliegendem Harnwegsinfekt heraus, liegen diese Werte bei 31,9 % respektive 70,4 % [Todenhöfer et al., 2012b].

Zur Beeinflussung des UBC-Tests durch mechanische Manipulation liegen bisher keine Daten vor. Aufgrund der aufgezeigten Daten für andere Tumormarker, wie etwa NMP22, wurde in der vorliegenden Arbeit jede Art von mechanischer Manipulation, direkt zur Uringewinnung oder innerhalb von 10 Tagen vor Abgabe der Urinprobe, als Ausschlusskriterium gewertet.

4.3.2.3 Mikro- und Makrohämaturie

Die schmerzlose Mikro- oder Makrohämaturie gehört zu den typischen und meist ersten Anzeichen eines Harnblasenkarzinoms. In der Literatur tritt eine Mikrohämaturie in 47,0 % bis 92,6 % der Patienten mit Blasentumoren auf [Budman et al., 2008]. Etwa 85 % der Patienten mit Erstdiagnose eines Harnblasentumors fallen durch Auftreten einer schmerzlosen Makrohämaturie auf [Oge et al., 2002]. Weiterhin zeigte sich in Studien in bis zu 21 % [Schmitz-Dräger et al., 2010] der Patienten mit einer Makrohämaturie auch ein Blasentumor, wohingegen dies für etwa 5 % der Patienten mit Mikrohämaturie gilt [Britton et al., 1992]. Im Allgemeinen ist heute die Zystoskopie zur weiteren Diagnostik bei schmerzloser Makrohämaturie anerkannt [Babjuk et al., 2011]. Aufgrund der großen Anzahl an Patienten, bei denen eine Mikrohämaturie ohne Vorliegen eines Urothelkarzinoms besteht, ist dies jedoch bei der schmerzlosen Mikrohämaturie als Symptom nicht zu vertreten. Besonders in diesem Patientenkollektiv ist der Einsatz von urinbasierten Tumormarkern zur weiteren Diagnostik sinnvoll, um möglichst weitere aufwendige und kostenintensive

Untersuchungen zu vermeiden. Daher darf für die Durchführung von urinbasierten Tumormarkertests eine Mikrohämaturie nicht als Ausschlusskriterium gewertet werden. Dabei sollte eine Mikrohämaturie, und im günstigsten Fall auch eine Makrohämaturie, keinen Einfluss auf das Ergebnis des Tests haben.

Für den BTA Stat Test liegen in Verbindung mit einer Makrohämaturie bereits Daten vor. Die Arbeitsgruppe von Chong et al. konnte bei vorliegender Makrohämaturie eine Sensitivität von 66 % sowie eine Spezifität von 67 % bei einem positiv prädiktiven Wert von nur 40 % zeigen [Chong und Cheng, 1999]. Öge et al. belegten für den BTA Stat Test eine Spezifität von nur 24 % in ihrem Modellversuch nach Zugabe von Blut zu initial BTA-negativen Urinproben [Oge et al., 2002]

In einer neueren Studie von Lüdecke et al. konnte dies für den BTA Stat Test ebenfalls gezeigt werden. Auch hier wurden Urinproben mit Blut kontaminiert und in der anschließenden Verdünnungsreihe verschiedene POC-Systeme getestet. Für die POC-Systeme UBC Rapid und NMP22 BladderChek wurde in dieser Arbeit jedoch kein Einfluss durch Makrohämaturie nachgewiesen [Ludecke et al., 2012].

Die Makrohämaturie wurde in der vorliegenden Studie, wie bereits erwähnt, als Ausschlusskriterium gewertet. Die Mikrohämaturie zeigte jedoch in dieser Studie einen statistisch signifikanten Einfluss auf das Testergebnis. Bei Vorliegen einer Mikrohämaturie zeigte sich eine Steigerung der Rate von falsch-positiven Befunden bei Patienten ohne späteren Tumornachweis von 13,7 % auf 50,0 % für die visuelle Auswertung, von 24,8 % auf 60,0 % für die Auswertung durch den Reader sowie von 23,9 % auf 57,9 % bei der Bestimmung der Messwerte durch den ELISA.

Für die Patienten mit Urothelkarzinom konnte gezeigt werden, dass die Rate der falsch-negativen Befunde bei Vorliegen einer Mikrohämaturie geringer ausfiel, als ohne Mikrohämaturie. Dies ist darauf zurückzuführen, dass eine Mikrohämaturie grundsätzlich die Wahrscheinlichkeit für einen positiven

Testbefund erhöht. Dieser Zusammenhang gilt auch für die anderen getesteten Einflussfaktoren, Urolithiasis und Harnwegsinfekt, wie dies in Abbildung 35 gezeigt ist. Jedoch sind nicht alle hier dargestellten Werte auch statistisch signifikant.

4.4 Diagnostische Wertigkeit erhältlicher POC-Systeme

Zum aktuellen Zeitpunkt sind bereits einige POC-Systeme auf dem Markt erhältlich, welche auch bereits auf ihre Wertigkeit hin untersucht wurden. Dies sind, neben dem evaluierten UBC Rapid, der NMP22 BladderChek sowie der BTA Stat, welcher bereits seit 1997 angeboten wird.

Für den BTA Stat Test existiert, aufgrund der am längsten bestehenden Verfügbarkeit, auch die größte Anzahl an Daten. Hier werden in der Literatur Sensitivitäten zwischen 52,8 % [Mian et al., 2000a] und 89,0 % [Pode et al., 1999] angegeben. Seine Spezifität wird mit Werten zwischen 62,0 % [Serretta et al., 2000] und 87,1 % [Babjuk et al., 2002] beschrieben.

Für den NMP22 BladderChek, welcher seit 2004 vertrieben wird, differieren die in der Literatur angegebenen Werte sehr stark voneinander. Für die Sensitivität finden sich dabei Werte zwischen 17,7 % [Smrkolj et al., 2011] und 100 % [Moonen et al., 2005] für die Primärdiagnostik sowie zwischen 22,6 % [Hwang et al., 2011] und 85,0 % [Kumar et al., 2006] für die Rezidivdiagnostik. Die Spezifität wird mit Werten zwischen 40,0 % [Tritschler et al., 2007] und 100 % [Gonzalo Rodriguez et al., 2008, Smrkolj et al., 2011] für die Primärtumoren sowie 77,0 % [Kumar et al., 2006] und 91,7 % [Gonzalo Rodriguez et al., 2008] für die Gruppe der Rezidivtumoren angegeben.

In der vorliegenden Studie zeigt sich für den NMP22 BladderChek jedoch nur eine die Sensitivität von 16,4 % bei einer Spezifität von 95,3 %. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass in dieser Studie im Rahmen der Uringewinnung keine Fixierlösung verwendet wurde, welche die Proben für die Auswertung von NMP22 stabilisiert. Im Regelfall erfolgte eine Untersuchung innerhalb von 30

Minuten nach Uringewinnung, was den Vorgaben des Herstellers entspricht. Dieser Zeitraum kann jedoch in Einzelfällen auch überschritten worden sein.

Der UBC Rapid ist unter den POC-Testverfahren der bisher am schlechtesten evaluierte Test. Hierzu sind derzeit nur 5 Publikationen bekannt, aus welchen Aussagen zu Sensitivität und Spezifität zu entnehmen sind. Die erste Arbeit von Sanchez-Carbayo aus dem Jahr 1999 konnte eine Gesamtsensitivität von 78,4 % bei einer Spezifität von 97,4 % belegen [Sanchez-Carbayo et al., 1999c]. Mian et al. fanden eine Sensitivität von 66,0 % sowie eine Spezifität von 90,0 % bei einer Studiengröße von 180 eingeschlossenen Patienten [Mian et al., 2000a]. In einer weiteren Studie von Babjuk et al. wurde eine Sensitivität von 48,7 % bei einer Spezifität von 79,3 % nachgewiesen [Babjuk et al., 2002]. In einer Arbeit von Hakenberg et al. zeigte sich eine Sensitivität von 64,4 % sowie eine Spezifität von 63,6 % [Hakenberg et al., 2004]. Die derzeit letzte Publikation zu dieser Thematik von Schröder et al. belegte eine Sensitivität von nur 35,6 % sowie eine Spezifität von 75,0 % [Schroeder et al., 2004].

Die in der vorliegenden Studie erhobenen Sensitivitäten und Spezifitäten, unter Annahme jeder Bande als positivem Befund, passen mit 67,2 % bzw. 57,7 %, in das Spektrum dieser Ergebnisse. Die Auswertung durch den Reader sowie die Bestimmung der Konzentration des UBC-Antigens mittels ELISA liefern dabei vergleichbare Werte.

4.5 Limitation eines Lateral-flow Systems

Die in der POC-Diagnostik verwendeten Lateral-flow Systeme funktionieren alle nach dem selben Muster. Der zu messende Urin wird auf eine Testkassette mit einem Konjugat-benetzten Papier gegeben und aufgrund der porösen Struktur des Papierstreifens vorwärts transportiert, während er mehr oder weniger mit dem Konjugat reagiert. Das Ergebnis ist in Form einer qualitativ auszuwertenden Bande sichtbar.

Der große Nachteil dieses Testverfahrens ist seine fehlende Differenzierbarkeit zwischen den Ergebnissen und damit verbunden der fehlende

Interpretationsspielraum. Aus dem Auftreten einer Messbande kann nur sehr bedingt auf die Stärke der vorliegenden Reaktion, beziehungsweise die zu Grunde liegende Konzentration der zu messenden Substanz, geschlossen werden. Dies läßt im Regelfall nur eine Unterscheidung zwischen positivem und negativem Messergebnis zu. Hierdurch kommt es bei der Auswertung von POC-Tests zu einer hohen Rate an falsch-positiven beziehungsweise falsch-negativen Ergebnissen, welche entweder eine große Anzahl unnötiger weiterer Diagnostik bedingen oder in einer erhöhten Anzahl nicht-diagnostizierter Tumoren resultieren würde.

4.6 Möglichkeiten der Darstellung von stetigen Variablen eines POC-Tests

Der Vorteil aller gängigen laborchemischen Bestimmungsmethoden von Urintumormarkern, wie zum Beispiel ELISA-Messsysteme zur Bestimmung von UBC-Antigen- oder NMP22-Konzentrationen im Urin, liegt in der Darstellbarkeit von stetigen Variablen als Ergebnis des Tests. Hiermit ist eine entsprechende Risikostratifizierung möglich. Ein hohes Messergebnis muss nicht zwingend zur Durchführung weiterer Diagnostik führen, da es im klinischen Kontext, wie etwa Raucher- oder Toxin-Anamnese, vorangegangene Tumorresektionen oder ein vorheriges Messergebnis, gewertet werden kann. Unter Einbeziehung klinischer Faktoren kann hier prinzipiell eine Risikoabschätzung erwogen werden.

Hier setzt das in dieser Studie evaluierte Messverfahren mit der Kombination von einfachem Lateral flow-Teststreifen und Auswertung durch den automatischen concile® Q100 Reader an. Das im Reader gemessene Testergebnis kann in Form einer stetigen Variablen dargestellt und auch hier im klinischen Kontext beurteilt beziehungsweise im Krankheitsverlauf mit vorangegangenen Messwerten verglichen werden.

Möglich wäre auch eine graphische Darstellung des Messergebnisses durch den Reader selbst. Auf einer farblich kodierten Ergebnisachse könnte für den jeweiligen Patienten ein Risikoscore angegeben werden, der dem

untersuchenden Arzt wichtige Hinweise liefert, ob eine weitere Diagnostik sinnvoll erscheint oder zurückgestellt werden kann.

Das gemessene Ergebnis der UBC-Antigen-Konzentration kann dann zum Beispiel als Punkt auf der Geraden in einem Diagramm, wie etwa Abbildung 36 graphisch dargestellt, und zusätzlich als prozentualer Wahrscheinlichkeitswert für das Vorliegen eines Harnblasenkarzinoms angegeben werden.

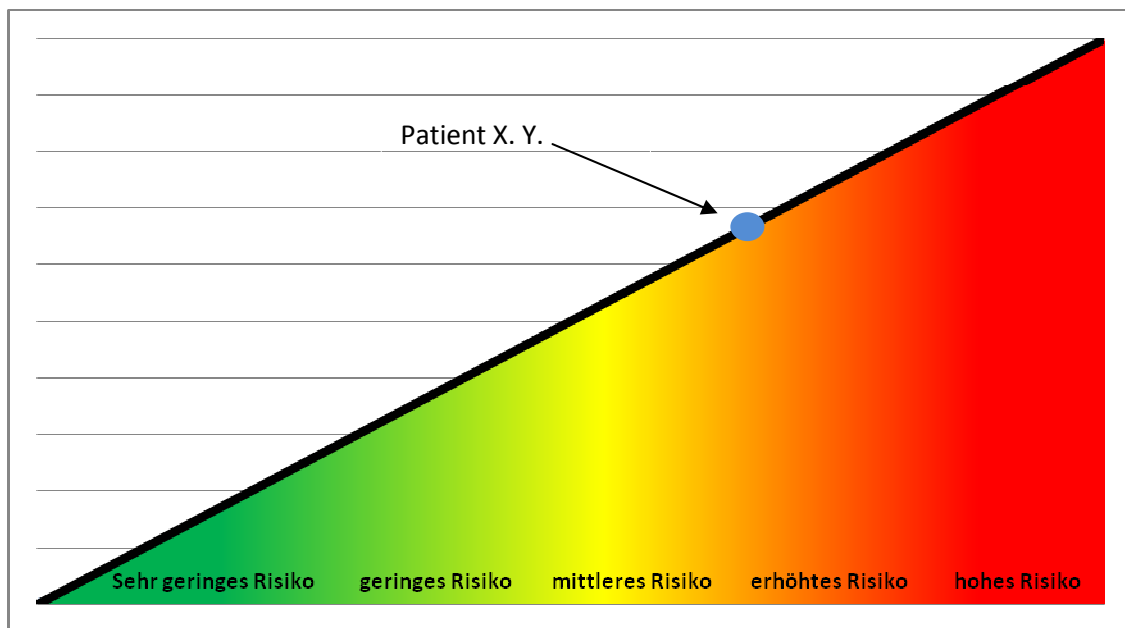


Abb. 36 - Mögliches Modell der graphischen Ergebnisdarstellung im concile® Q100 Reader

Die Messwerte des Readers zur Auswertung der UBC Rapid-Testkassetten zeigen in der vorliegenden Studie insgesamt den Messwerten des wesentlich aufwendigeren UBC-ELISA-Tests vergleichbare Ergebnisse. Dabei waren die gemessenen Werte der beiden Serien bei einem Determinationskoeffizient von 0,9095 gut vergleichbar. In Teilbereichen, so vor Allem bei der Sensitivität für die Detektion der weniger aggressiven Tumoren des Stadiums Ta oder Tumoren des Gratings G1 und G2 sind die ausgewerteten Daten des Readers den Messwerten des ELISA sogar überlegen. Die Beeinflussbarkeit durch äußere Faktoren, wie etwa das Vorhandensein eines Harnwegsinfektes oder einer Mikrohämaturie ist für beide Messverfahren ähnlich, die Urolithiasis scheint sich auf die Messwerte des ELISA stärker auszuwirken, die Beeinflussbarkeit des Readers ist jedoch bei vorliegendem Harnwegsinfekt

größer. Diese Messwerte sind jedoch, gerade im Bezug auf die Urolithiasis aufgrund der geringen Fallzahl, nur eingeschränkt beurteilbar.

Bei der Diagnostik von Rezidivtumoren zeigen sich in der Auswertung durch den Reader geringfügig bessere Messergebnisse, bei einer AUC von 0,67666 gegenüber 0,65692, als in der Diagnostik von Primärtumoren.

4.7 Limitation der vorliegenden Arbeit

4.7.1 Patientenkollektiv

Das vorliegende Patientenkollektiv spiegelt mit einer Rate von 30,8 % Tumorpatienten nicht die Häufigkeit des Vorkommens des Urothelkarzinoms in der Normalbevölkerung wider. Auch wenn zur Anpassung des Kollektives Patienten ohne klinischen Verdacht auf das Vorliegen eines Urothelkarzinoms eingeschlossen wurden, lag bei dem größten Teil der untersuchten Patienten bereits aufgrund einer bestimmten Symptomatik der klinische oder gegebenenfalls sogar der dringende zystoskopische Verdacht auf ein Urothelkarzinom vor. Die hier gewonnenen Ergebnisse sind daher nicht auf eine unselektierte Patientengruppe, zum Beispiel im Rahmen eines Screenings, anzuwenden.

4.7.2 Untersucherabhängigkeit

Die durchgeführten Urintests unterliegen zum Teil einer Untersucherabhängigkeit, allen voran die Urinzytologie. Hierbei ist die mikroskopische Auswertung der Zellen stark an die jeweilige Erfahrung der auswertenden Person gebunden [van Rhijn et al., 2010]. Auch in Bezug auf die visuelle Auswertung der UBC- und NMP22-Teststreifen gilt, dass sie durch die subjektive Wahrnehmung des Untersuchers hinsichtlich eines positiven oder leicht positiven Ergebnisses beeinflusst sein kann. Auch wenn alle Tests nach bestem Wissen und Gewissen durchgeführt wurden, muss diese Variable bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

4.7.3 Oberer Harntrakt

In dieser Studie wurde der obere Harntrakt nicht routinemäßig in die Abklärung der Patienten integriert. Nur bei einem geringen Bruchteil der Patienten liegen Daten über einen Tumorausschluss im oberen Harntrakt vor. Dies muss bei der Interpretation der Ergebnisse ebenfalls berücksichtigt werden. Auch wenn die Häufigkeit des Auftretens eines Urothelkarzinoms im oberen Harntrakt nur etwa 7 % aller Urothelkarzinome ausmacht (4 % im Nierenbecken und etwa 3 % im Harnleiterverlauf [Rübben, 2007]), kann dies im Einzelfall vorgelegen haben und als Grund für ein positives Testergebnis gesehen werden.

4.8 Schlussfolgerungen

In der vorgelegten Studie konnte gezeigt werden, dass die Kombination aus dem bereits auf dem Markt etablierten UBC Rapid Schnelltest und dem zu diesem Einsatzzweck aktuell weiterentwickelte concile® Q100 Reader dem wesentlichen aufwendigeren ELISA-Verfahren zur Bestimmung von quantitativen Messwerten bei der Bestimmung der UBC-Antigen-Konzentration vergleichbar und in bestimmten Bereichen sogar überlegen ist. Das Verfahren ist daher geeignet, die UBC-Messung in der Diagnostik des Urothelkarzinoms zu vereinfachen von spezialisierten Labors und Kliniken unabhängiger zu machen. Der Test ist dadurch geeignet, unter Point-of-Care-Bedingungen erste Hinweise auf das mögliche Vorliegen eines Harnblasenkarzinoms zu liefern. Die Verwendung dieses Tests ist daher für hausärztliche oder urologische Praxen überlegenswert. Die einfachste Möglichkeit zur Einschätzung, bezüglich der Notwendigkeit weiterer Maßnahmen scheint dabei eine graphisch dargestellte Risikostratifizierung zu sein. Dadurch ist der durchführende Arzt in der Lage, die gemessenen Werte bzw. den ausgegebenen Risiko-Score mit den vorliegenden klinischen Faktoren, wie etwa Alter, Raucheranamnese, vorangegangene Tumorerkrankungen oder in der Vorgeschichte bestimmte Messwerte, zu vergleichen und eine Entscheidung für oder gegen weitere Maßnahmen mit dem Patienten zu besprechen. Der Reader bringt insbesondere in der Verlaufskontrolle Vorteile gegenüber der rein visuellen Auswertung des

Teststreifens, da hier ein genauerer Vergleich von Messwerten ohne subjektive Faktoren und entsprechende Erfahrung für die semiquantitative Auswertung des Teststreifens erforderlich ist. Ein Harnwegsinfekt sollte jedoch vor Durchführung des Test ausbehandelt sein um ein möglichst valides Ergebnis zu gewährleisten.

Weder durch die visuelle Auswertung des Schnelltests, noch durch die Bestimmung von quantitativen Messwerten durch den Reader, noch durch die aufwendige laborchemische Bestimmung der UBC-Antigen-Konzentration mittels ELISA können ausreichend zuverlässige Ergebnisse erzielt werden, die die Durchführung einer Zystoskopie oder zusätzlicher Urinuntersuchungen, wie etwa einer Zytologie, überflüssig machen würden. Der Test ist daher nicht alleinstehend geeignet, aufwendigere Verfahren zu ersetzen. In der Ergänzung der Diagnostik, insbesondere im Hinblick auf die Sensitivität für niedrig-maligne Tumoren, bietet er jedoch zusätzliche Informationen.

5. Zusammenfassung

Nach wie vor stellen Zystoskopie und Urinzytologie den Goldstandard in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms dar. Die Invasivität der Zystoskopie sowie die mangelnde Sensitivität der Urinzytologie lassen jedoch Raum für bessere und einfachere diagnostische Verfahren.

Zur Evaluation der diagnostischen Wertigkeit des UBC Rapid Schnelltests in Kombination mit dem quantitativen Point-of-care-Messsystems concile® Ω 100 Reader wurden von April bis Dezember 2012 232 Patienten ausgewählt, die sich an der Universitätsklinik für Urologie der Universität Tübingen einem transurethralen Eingriff unterzogen. Mit dem Urin der Patienten wurden vor dem Eingriff, neben einem Urinstatus, Schnelltests für UBC-Antigen und NMP22 sowie die jeweiligen ELISA-Tests durchgeführt. Die Testkassetten des UBC-Tests wurden anschließend im photometrischen Messgerät concile® Ω 100 Reader ausgelesen.

Die Auswertung der Testergebnisse erfolgte mit Kontingenztanalysen, ROC-Tabellen und linearen Regressionsanalysen. Neben unterschiedlichen Tumorstadien wurden auch potentielle Einflussfaktoren wie Harnwegsinfekte, Urolithiasis oder Mikrohämaturie untersucht.

Es zeigten sich Sensitivitäten für visuelle Auswertung, Reader-Bestimmung und ELISA-Messung von 67,2%, 60,7% bzw. 63,8%. Die Spezifitäten lagen bei 57,7%, 70,1% bzw. 69,0%. Für NMP22 BladderChek und Urinzytologie zeigten sich Sensitivitäten und Spezifitäten von 16,4% und 95,3 % bzw. 50,8% und 78,1 %. Insbesondere für Tumore im Stadium Ta bzw. G1/G2-Tumoren zeigten sich Vorteile für die Auswertung durch den Reader bei insgesamt jedoch nicht ausreichender diagnostischer Genauigkeit. Alle drei Messverfahren waren abhängig von Harnwegsinfekten, Urolithiasis und Mikrohämaturie.

Die Ergebnisse belegen, dass die Kombination aus UBC Rapid und Ω 100 Reader der ELISA-Methode vergleichbare Resultate liefert. Diese sind jedoch nicht ausreichend zuverlässig um eine Zystoskopie zu ersetzen.

6. Abkürzungen

5JÜR	=	5-Jahres-Überlebensrate
°C	=	Grad Celsius
µl	=	Mikroliter
5-ALA	=	5-Aminolävulinsäure
95% KI	=	95% Konfidenzintervall
Abb.	=	Abbildung
AUA	=	American Urological Association
BCG	=	Bacillus Calmette-Guerin
BLCA-4	=	bladder cancer specific nuclear matrix protein 4
BTA	=	bladder tumor antigen
ca.	=	Circa
CCD	=	Charge-coupled Device (Fotosensor)
Cis	=	Carcinoma in situ
CK	=	Zytokeratin
cm	=	Zentimeter
CT	=	Computertomographie
CYFRA 21-1	=	Cytokeratin-21-Fragment
DNA	=	Desoxyribonukleinsäure
e.V.	=	Eingetragener Verein
EAU	=	European Association of Urology
ELISA	=	enzyme-linked immunosorbent assay
FDA	=	U.S. Food and Drug Administration (Amerikanische Zulassungsbehörde)
FISH	=	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
GFR	=	Glomeruläre Filtrationsrate
GmbH	=	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
HA-HAase	=	Urinmarkertest für Hyaluronsäure / Hyaluronidase
hCFHrp	=	Human complement factor H related protein
Hexvix	=	Hexaminolevulinat
HRP	=	horseradish peroxidase (Meerrettichperoxidase)
Hrsg	=	Herausgeber
HWI	=	Harnwegsinfekt

Inc.	=	Incorporated (amerikanische Gesellschaftsform)
KGaA	=	Kommanditgesellschaft auf Aktien
MAINZ	=	mixed augmentation ileum 'n zecum
min	=	Minute
ml	=	Milliliter
MVAC	=	Chemotherapie mit Methotrexat, Vinblastin, Adriamycin und Cisplatin
NMP22	=	nuclear mitotic protein 22
NPW	=	Negativ prädiktiver Wert
POC	=	Point of care
PPW	=	Positiv prädiktiver Wert
PSA	=	Prostata-spezifisches Antigen
PUNLMP	=	papillary urothelial neoplasm of low malignant potential
RKI	=	Robert-Koch-Institut
RNA	=	Ribonukleinsäure
Tab.	=	Tabelle
TMB	=	Tetramethylbenzidine
TNM	=	Tumor / Nodes (Lymphknoten) / Metastasen
TRAK	=	total reference air kerma
TUR	=	Transurethrale Resektion
U/ml	=	Units pro Milliliter
UBC	=	Urinary bladder cancer antigen
UICC	=	Union Internationale Contre le Cancer
UpM	=	Umdrehungen pro Minute
WHO	=	World Health Organisation

7. Literaturverzeichnis

Abd El Gawad IA, Moussa HS, Nasr MI, El Gemae EH, Masooud AM, Ibrahim IK, und El Hifnawy NM, *Comparative study of NMP-22, telomerase, and BTA in the detection of bladder cancer*. J Egypt Natl Canc Inst, 2005. 17(3): p. 193-202.

Arora VK, Sarungbam J, Bhatia A, Singh N, Agrawal V, und Aggarwal S, *Usefulness of NMP22 as an adjunct to a typical urine cytology and low-grade urothelial carcinoma*. Diagn Cytopathol, 2010. 38(11): p. 788-90.

Atsü N, Ekici S, Oge OO, Ergen A, Hascelik G, und Ozen H, *False-positive results of the NMP22 test due to hematuria*. J Urol, 2002. 167(2 Pt 1): p. 555-8.

Babjuk M, Kostirova M, Mudra K, Pecher S, Smolova H, Pecen L, Ibrahim Z, Dvoracek J, Jarolim L, Novak J, und Zima T, *Qualitative and quantitative detection of urinary human complement factor H-related protein (BTA stat and BTA TRAK) and fragments of cytokeratins 8, 18 (UBC rapid and UBC IRMA) as markers for transitional cell carcinoma of the bladder*. Eur Urol, 2002. 41(1): p. 34-9.

Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, Kaasinen E, Bohle A, Palou-Redorta J, und Roupret M, *EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder, the 2011 update*. Eur Urol, 2011. 59(6): p. 997-1008.

Babjuk M, Soukup V, Pesl M, Kostirova M, Drncova E, Smolova H, Szakacsova M, Getzenberg R, Pavlik I, und Dvoracek J, *Urinary cytology and quantitative BTA and UBC tests in surveillance of patients with pTapT1 bladder urothelial carcinoma*. Urology, 2008. 71(4): p. 718-22.

Britton JP, Dowell AC, Whelan P, und Harris CM, *A community study of bladder cancer screening by the detection of occult urinary bleeding*. J Urol, 1992. 148(3): p. 788-90.

Budman LI, Kassouf W und Steinberg JR, *Biomarkers for detection and surveillance of bladder cancer*. Can Urol Assoc J, 2008. 2(3): p. 212-21.

Caraway NP und Katz RL, *A review on the current state of urine cytology emphasizing the role of fluorescence in situ hybridization as an adjunct to diagnosis*. Cancer Cytopathol, 2010. 118(4): p. 175-83.

Casetta G, Gontero P, Zitella A, Pelucelli G, Formiconi A, Priolo G, Martinasso G, Mengozzi G, Aimo G, Viberti L, und Tizzani A, *BTA quantitative assay and NMP22 testing compared with urine cytology in the detection of transitional cell carcinoma of the bladder*. Urol Int, 2000. 65(2): p. 100-5.

Choi HS, Lee SI, Kim DJ, und Jeong TY, Usefulness of the NMP22BladderChek Test for Screening and Follow-up of Bladder Cancer. *Korean J Urol*, 2010. 51(2): p. 88-93.

Chong TW und Cheng C, The role of the bladder tumour antigen test in the management of gross haematuria. *Singapore Med J*, 1999. 40(9): p. 578-80.

Del Nero A, Esposito N, Curro A, BIASONI D, Montanari E, Mangiarotti B, Trinchieri A, Zanetti G, Serrago MP, und Pisani E, Evaluation of urinary level of NMP22 as a diagnostic marker for stage pTa-pT1 bladder cancer: comparison with urinary cytology and BTA test. *Eur Urol*, 1999. 35(2): p. 93-7.

Ellis WJ, Blumenstein BA, Ishak LM, und Enfield DL, Clinical evaluation of the BTA TRAK assay and comparison to voided urine cytology and the Bard BTA test in patients with recurrent bladder tumors. The Multi Center Study Group. *Urology*, 1997. 50(6): p. 882-7.

Fairchild WV, Spence CR, Solomon HD, und Gangai MP, *The incidence of bladder cancer after cyclophosphamide therapy*. *J Urol*, 1979. 122(2): p. 163-4.

Friedrich MG, Hellstern A, Hautmann SH, Graefen M, Conrad S, Huland E, und Huland H, Clinical use of urinary markers for the detection and prognosis of bladder carcinoma: a comparison of immunocytology with monoclonal antibodies against Lewis X and 486p3/12 with the BTA STAT and NMP22 tests. *J Urol*, 2002. 168(2): p. 470-4.

Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland eV. *Geschätzte altersspezifische Fallzahlen für Deutschland*. 2012 (Abruf: 10.02.2013, Stand: Dez. 2011)]; Available from: http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Help/Altersspezifische%20Angaben_2012.xls

Giannopoulos A, Manousakas T, Gounari A, Constantinides C, Choremi-Papadopoulou H, und Dimopoulos C, Comparative evaluation of the diagnostic performance of the BTA stat test, NMP22 and urinary bladder cancer antigen for primary and recurrent bladder tumors. *J Urol*, 2001. 166(2): p. 470-5.

Gonzalo Rodriguez V, Sanz Justo L, de Miguel Santamaria I, Martinez de Iturrate J, und Fernandez del Busto E, *[The use of NMP22 Bladder-Chek for the diagnosis and follow-up bladder cancer]*. *Arch Esp Urol*, 2008. 61(3): p. 377-84.

Gutierrez Banos JL, del Henar Rebollo Rodrigo M, Antolin Juarez FM, und Garcia BM, *Usefulness of the BTA STAT Test for the diagnosis of bladder cancer*. *Urology*, 2001. 57(4): p. 685-9.

Gutierrez Banos JL, Rebollo Rodrigo MH, Antolin Juarez F, Martin Garcia B, Hernandez Rodriguez R, Portillo Martin JA, Correias Gomez MA, del Valle Schaan JI, Roca Edreira A,

de Diego Rodriguez E, und Rado Velazquez MA, [*Comparative study of BTA stat test, NMP-22, and cytology in the diagnosis of bladder cancer*]. Arch Esp Urol, 2000. 53(1): p. 21-7.

Hakenberg OW, Fuessel S, Richter K, Froehner M, Oehlschlaeger S, Rathert P, Meye A, und Wirth MP, Qualitative and quantitative assessment of urinary cytokeratin 8 and 18 fragments compared with voided urine cytology in diagnosis of bladder carcinoma. Urology, 2004. 64(6): p. 1121-6.

Halling KC, King W, Sokolova IA, Karnes RJ, Meyer RG, Powell EL, Sebo TJ, Cheville JC, Clayton AC, Krajnik KL, Ebert TA, Nelson RE, Burkhardt HM, Ramakumar S, Stewart CS, Pankratz VS, Lieber MM, Blute ML, Zincke H, Seelig SA, Jenkins RB, und O'Kane DJ, A comparison of BTA stat, hemoglobin dipstick, telomerase and Vysis UroVysis assays for the detection of urothelial carcinoma in urine. J Urol, 2002. 167(5): p. 2001-6.

Hautmann RE, *The ileal neobladder*. Acta Urol Belg, 1991. 59(2): p. 227-40.

Hautmann RE, Surgery illustrated - surgical atlas ileal neobladder. BJU Int, 2010. 105(7): p. 1024-35.

Hautmann S, Lokeshwar VB und Juenemann KP, [*Urine-based diagnostics: an update on the Kiel Tumor Bank*]. Urologe A, 2009. 48(6): p. 619-24.

Hautmann SH, Lokeshwar VB, Schroeder GL, Civantos F, Duncan RC, Gnann R, Friedrich MG, und Soloway MS, *Elevated tissue expression of hyaluronic acid and hyaluronidase validates the HA-HAase urine test for bladder cancer*. J Urol, 2001. 165(6 Pt 1): p. 2068-74.

Hoffmann D, Hecht SS, Ornaf RM, Wynder EL, und Tso TC, Chemical studies on tobacco smoke. XLII. Nitrosonornicotine: presence in tobacco, formation and carcinogenicity. IARC Sci Publ, 1976(14): p. 307-20.

Horstmann M, Patschan O, Hennenlotter J, Senger E, Feil G, und Stenzl A, *Combinations of urine-based tumour markers in bladder cancer surveillance*. Scand J Urol Nephrol, 2009. 43(6): p. 461-6.

Hueper W, Wiley, FH., Wolfe, HD., Experimental production of bladder tumours in dogs by administration of beta-naphthylamine. Ind Hyg Toxicol, 1938. 20: p. 46-84.

Huppe P und Wawroschek F, [Methods and current significance of the evaluation of microscopic haematuria]. Urologe A, 2011. 50(3): p. 287-91.

Hwang EC, Choi HS, Jung SI, Kwon DD, Park K, und Ryu SB, Use of the NMP22 BladderChek test in the diagnosis and follow-up of urothelial cancer: a cross-sectional study. Urology, 2011. 77(1): p. 154-9.

Irani J, Desgrandchamps F, Millet C, Toubert ME, Bon D, Aubert J, und Le Duc A, BTA stat and BTA TRAK: A comparative evaluation of urine testing for the diagnosis of transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urol*, 1999. 35(2): p. 89-92.

Jeong S, Park Y, Cho Y, Kim YR, und Kim HS, Diagnostic values of urine CYFRA21-1, NMP22, UBC, and FDP for the detection of bladder cancer. *Clin Chim Acta*, 2012. 414: p. 93-100.

Kälble T, [Etiopathology, risk factors, environmental influences and epidemiology of bladder cancer]. *Urologe A*, 2001. 40(6): p. 447-50.

Kaufman JM, Fam B, Jacobs SC, Gabilondo F, Yalla S, Kane JP, und Rossier AB, *Bladder cancer and squamous metaplasia in spinal cord injury patients*. *J Urol*, 1977. 118(6): p. 967-71.

Kausch I und Bohle A, [Non-invasive urinary diagnosis of bladder cancer. What do we know?]. *Urologe A*, 2003. 42(7): p. 912-21.

Kehinde EO, Al-Mulla F, Kapila K, und Anim JT, Comparison of the sensitivity and specificity of urine cytology, urinary nuclear matrix protein-22 and multitarget fluorescence in situ hybridization assay in the detection of bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol*, 2011. 45(2): p. 113-21.

Kibar Y, Goktas S, Kilic S, Yaman H, Onguru O, und Peker AF, Prognostic value of cytology, nuclear matrix protein 22 (NMP22) test, and urinary bladder cancer II (UBC II) test in early recurrent transitional cell carcinoma of the bladder. *Ann Clin Lab Sci*, 2006. 36(1): p. 31-8.

Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, Algaba F, Busch C, Cheng L, Kiemeny L, Kriegmair M, Montironi R, Murphy WM, Sesterhenn IA, Tachibana M, und Weider J, *Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis*. *Urology*, 2005. 66(6 Suppl 1): p. 4-34.

Kumar A, Kumar R und Gupta NP, Comparison of NMP22 BladderChek test and urine cytology for the detection of recurrent bladder cancer. *Jpn J Clin Oncol*, 2006. 36(3): p. 172-5.

Leppert JT, Shvarts O, Kawaoka K, Lieberman R, Belldegrun AS, und Pantuck AJ, *Prevention of bladder cancer: a review*. *Eur Urol*, 2006. 49(2): p. 226-34.

Leyh H, Marberger M, Conort P, Sternberg C, Pansadoro V, Pagano F, Bassi P, Boccon-Gibod L, Ravery V, Treiber U, und Ishak L, Comparison of the BTA stat test with voided urine cytology and bladder wash cytology in the diagnosis and monitoring of bladder cancer. *Eur Urol*, 1999. 35(1): p. 52-6.

Leyh H und Mazeman E, Bard BTA test compared with voided urine cytology in the diagnosis of recurrent bladder cancer. *Eur Urol*, 1997. 32(4): p. 425-8.

Lokeshwar VB, Habuchi T, Grossman HB, Murphy WM, Hautmann SH, Hemstreet GP, 3rd, Bono AV, Getzenberg RH, Goebell P, Schmitz-Drager BJ, Schalken JA, Fradet Y, Marberger M, Messing E, und Droller MJ, *Bladder tumor markers beyond cytology: International Consensus Panel on bladder tumor markers*. *Urology*, 2005. 66(6 Suppl 1): p. 35-63.

Lokeshwar VB, Obek C, Pham HT, Wei D, Young MJ, Duncan RC, Soloway MS, und Block NL, *Urinary hyaluronic acid and hyaluronidase: markers for bladder cancer detection and evaluation of grade*. *J Urol*, 2000. 163(1): p. 348-56.

Lokeshwar VB und Soloway MS, Current bladder tumor tests: does their projected utility fulfill clinical necessity? *J Urol*, 2001. 165(4): p. 1067-77.

Lopez-Beltran A und Montironi R, Non-invasive urothelial neoplasms: according to the most recent WHO classification. *Eur Urol*, 2004. 46(2): p. 170-6.

Ludecke G, Pilatz A, Hauptmann A, Bschiepfer T, und Weidner W, Comparative analysis of sensitivity to blood in the urine for urine-based point-of-care assays (UBC rapid, NMP22 BladderChek and BTA-stat) in primary diagnosis of bladder carcinoma. Interference of blood on the results of urine-based POC tests. *Anticancer Res*, 2012. 32(5): p. 2015-8.

Manski D, *Harnblasenkarzinom*, in *www.Urologielehrbuch.de* 2011: Stadtbergen. p. 252 ff.

May M, Hakenberg OW, Gunia S, Pohling P, Helke C, Lubbe L, Nowack R, Siegsmond M, und Hoschke B, Comparative diagnostic value of urine cytology, UBC-ELISA, and fluorescence in situ hybridization for detection of transitional cell carcinoma of urinary bladder in routine clinical practice. *Urology*, 2007. 70(3): p. 449-53.

Mian C, Lodde M, Haitel A, Egarter Vigl E, Marberger M, und Pycha A, Comparison of two qualitative assays, the UBC rapid test and the BTA stat test, in the diagnosis of urothelial cell carcinoma of the bladder. *Urology*, 2000a. 56(2): p. 228-31.

Mian C, Lodde M, Haitel A, Vigl EE, Marberger M, und Pycha A, Comparison of the monoclonal UBC-ELISA test and the NMP22 ELISA test for the detection of urothelial cell carcinoma of the bladder. *Urology*, 2000b. 55(2): p. 223-6.

Michaud DS, Spiegelman D, Clinton SK, Rimm EB, Curhan GC, Willett WC, und Giovannucci EL, *Fluid intake and the risk of bladder cancer in men*. *N Engl J Med*, 1999. 340(18): p. 1390-7.

Minagawa T, Nishizawa S, Kamigaito T, und Okaneya T, [Novel NMP22 quick qualitative analysis (BladderChek NMP22) for the diagnosis of urothelial tumor]. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 2006. 97(1): p. 20-6.

Miyayama N, Akaza H, Kameyama S, Hachiya T, Ozono S, Kuroda M, Koga H, und Koiso K, *Significance of the BTA test in bladder cancer: a multicenter trial*. *BTA Study Group Japan. Int J Urol*, 1997. 4(6): p. 557-60.

Moonen PM, Kiemeny LA und Witjes JA, *Urinary NMP22 BladderChek test in the diagnosis of superficial bladder cancer*. *Eur Urol*, 2005. 48(6): p. 951-6; discussion 956.

Mungan NA, Vriesema JL, Thomas CM, Kiemeny LA, und Witjes JA, *Urinary bladder cancer test: a new urinary tumor marker in the follow-up of superficial bladder cancer*. *Urology*, 2000. 56(5): p. 787-92.

Murphy WM, Rivera-Ramirez I, Medina CA, Wright NJ, und Wajsman Z, *The bladder tumor antigen (BTA) test compared to voided urine cytology in the detection of bladder neoplasms*. *J Urol*, 1997. 158(6): p. 2102-6.

Nasterlack M, Feil G, Leng G, Pesch B, Huber S, Sievert KD, Johnen G, Taeger D, Mayer T, Kluckert M, Bruning T, und Stenzl A, [Bladder cancer screening with urine-based tumour markers - occupational medical experience]. *Aktuelle Urol*, 2011. 42(2): p. 128-34.

Oge O, Atsu N, Sahin A, und Ozen H, *Comparison of BTA stat and NMP22 tests in the detection of bladder cancer*. *Scand J Urol Nephrol*, 2000. 34(6): p. 349-51.

Oge O, Kozaci D und Gemalmaz H, *The BTA stat test is nonspecific for hematuria: an experimental hematuria model*. *J Urol*, 2002. 167(3): p. 1318-9; discussion 1319-20.

Papanicolaou GN und Marshall VF, *Urine Sediment Smears as a Diagnostic Procedure in Cancers of the Urinary Tract*. *Science*, 1945. 101(2629): p. 519-20.

Planz B, Jochims E, Deix T, Caspers HP, Jakse G, und Boecking A, *The role of urinary cytology for detection of bladder cancer*. *Eur J Surg Oncol*, 2005. 31(3): p. 304-8.

Pode D, Shapiro A, Wald M, Nativ O, Laufer M, und Kaver I, *Noninvasive detection of bladder cancer with the BTA stat test*. *J Urol*, 1999. 161(2): p. 443-6.

Protzel C und Hakenberg OW, [Molecular markers in the diagnostics and therapy of urothelial cancer]. *Urologe A*, 2010. 49(11): p. 1415-24.

Raitanen MP, Marttila T, Kaasinen E, Rintala E, Aine R, und Tammela TL, Sensitivity of human complement factor H related protein (BTA stat) test and voided urine cytology in the diagnosis of bladder cancer. *J Urol*, 2000. 163(6): p. 1689-92.

Rathert P, Roth, S., Urinmarker und zellbasierte Nachweisverfahren beim Urothelkarzinom, in *Urinzytologie - Praxis und Atlas 2007*, Springer Medizin Verlag Heidelberg. p. 135-155.

Robert Koch-Institut HudGdeKiD, e. V. (Hrsg). *Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends*, 2010: Berlin. p. 12.

Rübben HH, *Harnblasenkarzinom*, in *Uroonkologie2007*, Springer Medizin Verlag: Heidelberg. p. 301-357.

Sadetzki S, Bensal D, Blumstein T, Novikov I, und Modan B, *Selected risk factors for transitional cell bladder cancer*. *Med Oncol*, 2000. 17(3): p. 179-82.

Sanchez-Carbayo M, Herrero E, Megias J, Mira A, Espasa A, Chinchilla V, und Soria F, Initial evaluation of the diagnostic performance of the new urinary bladder cancer antigen test as a tumor marker for transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol*, 1999a. 161(4): p. 1110-5.

Sanchez-Carbayo M, Herrero E, Megias J, Mira A, und Soria F, Comparative sensitivity of urinary CYFRA 21-1, urinary bladder cancer antigen, tissue polypeptide antigen, tissue polypeptide antigen and NMP22 to detect bladder cancer. *J Urol*, 1999b. 162(6): p. 1951-6.

Sanchez-Carbayo M, Herrero E, Megias J, Mira A, und Soria F, Initial evaluation of the new urinary bladder cancer rapid test in the detection of transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology*, 1999c. 54(4): p. 656-61.

Sarosdy MF, deVere White RW, Soloway MS, Sheinfeld J, Hudson MA, Schellhammer PF, Jarowenko MV, Adams G, und Blumenstein BA, *Results of a multicenter trial using the BTA test to monitor for and diagnose recurrent bladder cancer*. *J Urol*, 1995. 154(2 Pt 1): p. 379-83; discussion 383-4.

Sarosdy MF, Hudson MA, Ellis WJ, Soloway MS, deVere White R, Sheinfeld J, Jarowenko MV, Schellhammer PF, Schervish EW, Patel JV, Chodak GW, Lamm DL, Johnson RD, Henderson M, Adams G, Blumenstein BA, Thielke KR, Pfalzgraf RD, Murchison HA, und Brunelle SL, *Improved detection of recurrent bladder cancer using the Bard BTA stat Test*. *Urology*, 1997. 50(3): p. 349-53.

Schamhart DH, de Reijke TM, van der Poel HG, Witjes JA, de Boer EC, Kurth K, und Schalken JA, The Bard BTA test: its mode of action, sensitivity and specificity,

compared to cytology of voided urine, in the diagnosis of superficial bladder cancer. *Eur Urol*, 1998. 34(2): p. 99-106.

Schmitz-Dräger BJ, Tirsar LA, Schmitz-Dräger C, Dörsam J, Ebert T, und Bismarck E, *[Role of immunocytology in the evaluation of patients with painless gross hematuria]*. *Urologe A*, 2010. 49(6): p. 741-6.

Schroeder GL, Lorenzo-Gomez MF, Hautmann SH, Friedrich MG, Ekici S, Huland H, und Lokeshwar V, *A side by side comparison of cytology and biomarkers for bladder cancer detection*. *J Urol*, 2004. 172(3): p. 1123-6.

Schulte PA, Ringen K, Hemstreet GP, Altekruise EB, Gullen WH, Tillett S, Allsbrook WC, Jr., Crosby JH, Witherington R, Stringer W, und et al., *Risk factors for bladder cancer in a cohort exposed to aromatic amines*. *Cancer*, 1986. 58(9): p. 2156-62.

Serretta V, Pomara G, Rizzo I, und Esposito E, *Urinary BTA-stat, BTA-trak and NMP22 in surveillance after TUR of recurrent superficial transitional cell carcinoma of the bladder*. *Eur Urol*, 2000. 38(4): p. 419-25.

Sharma S, Zippe CD, Pandrangi L, Nelson D, und Agarwal A, *Exclusion criteria enhance the specificity and positive predictive value of NMP22 and BTA stat*. *J Urol*, 1999. 162(1): p. 53-7.

Sievert KD, Amend B, Nagele U, Schilling D, Bedke J, Horstmann M, Hennenlotter J, Kruck S, und Stenzl A, *Economic aspects of bladder cancer: what are the benefits and costs?* *World J Urol*, 2009. 27(3): p. 295-300.

Silen A, Rizvi SS, Letocha H, Lennernas B, und Wiklund B, *Evaluation of the UBC test in the urine of healthy individuals, patients with benign disorders and urinary bladder cancer*. *Oncol Rep*, 2000. 7(6): p. 1269-74.

Smrkolj T, Mihelic M, Sedlar A, Sterle I, Osredkar J, und Sedmak B, *Performance of nuclear matrix protein 22 urine marker and voided urine cytology in the detection of urinary bladder tumors*. *Clin Chem Lab Med*, 2011. 49(2): p. 311-6.

Soloway MS, Briggman V, Carpinito GA, Chodak GW, Church PA, Lamm DL, Lange P, Messing E, Pasciak RM, Reservitz GB, Rukstalis DB, Sarosdy MF, Stadler WM, Thiel RP, und Hayden CL, *Use of a new tumor marker, urinary NMP22, in the detection of occult or rapidly recurring transitional cell carcinoma of the urinary tract following surgical treatment*. *J Urol*, 1996. 156(2 Pt 1): p. 363-7.

Stenzl A, Witjes JA, Cowan NC, De Santis M, Kuczyk M, Lebrecht T, Merseburger AS, Ribal MJ, und Sherif A, *Guidelines on Bladder Cancer, Muscle-invasive and Metastatic*. European Association of Urology, 2011.

Studer UE, Bladder substitution with an ileal low-pressure reservoir. *Prog Clin Biol Res*, 1989. 303: p. 803-9.

Studer UE, Ackermann D, Casanova GA, und Zingg EJ, *Three years' experience with an ileal low pressure bladder substitute*. *Br J Urol*, 1989. 63(1): p. 43-52.

Studer UE, Varol, C., Danuser, H., *Surgery illustrated - Surgical Atlas Orthotopic ileal neobladder*. *BJU*, 2004. 93: p. 183 – 193.

Takashi M, Schenck U, Kissel K, Leyh H, und Treiber U, Use of diagnostic categories in urinary cytology in comparison with the bladder tumour antigen (BTA) test in bladder cancer patients. *Int Urol Nephrol*, 1999. 31(2): p. 189-96.

Thomas L, Leyh H, Marberger M, Bombardieri E, Bassi P, Pagano F, Pansadoro V, Sternberg CN, Boccon-Gibod L, Ravery V, Le Guludec D, Meulemans A, Conort P, und Ishak L, *Multicenter trial of the quantitative BTA TRAK assay in the detection of bladder cancer*. *Clin Chem*, 1999. 45(4): p. 472-7.

Todenhöfer T, Hennenlotter J, Esser M, Mohrhardt S, Tews V, Aufderklamm S, Gakis G, Kuehs U, Stenzl A, und Schwentner C, *Combined application of cytology and molecular urine markers to improve the detection of urothelial carcinoma*. *Cancer Cytopathol*, 2012a.

Todenhöfer T, Hennenlotter J, Kuhs U, Tews V, Gakis G, Aufderklamm S, Stenzl A, und Schwentner C, Influence of urinary tract instrumentation and inflammation on the performance of urine markers for the detection of bladder cancer. *Urology*, 2012b. 79(3): p. 620-4.

Tritschler S, Scharf S, Karl A, Tilki D, Knuechel R, Hartmann A, Stief CG, und Zaak D, *Validation of the diagnostic value of NMP22 BladderChek test as a marker for bladder cancer by photodynamic diagnosis*. *Eur Urol*, 2007. 51(2): p. 403-7; discussion 407-8.

Tritschler S, Zaak D, Knuechel R, und Stief CG, *[Urine cytology and urine markers. Significance for clinical practice]*. *Urologe A*, 2006. 45(11): p. W1441-7; quiz W1448.

Van der Poel HG, Van Balken MR, Schamhart DH, Peelen P, de Reijke T, Debruyne FM, Schalken JA, und Witjes JA, *Bladder wash cytology, quantitative cytology, and the qualitative BTA test in patients with superficial bladder cancer*. *Urology*, 1998. 51(1): p. 44-50.

van Rhijn BW, van Leenders GJ, Ooms BC, Kirkels WJ, Zlotta AR, Boeve ER, Jobsis AC, und van der Kwast TH, *The pathologist's mean grade is constant and individualizes the prognostic value of bladder cancer grading*. *Eur Urol*, 2010. 57(6): p. 1052-7.

von der Maase H, Hansen SW, Roberts JT, Dogliotti L, Oliver T, Moore MJ, Bodrogi I, Albers P, Knuth A, Lippert CM, Kerbrat P, Sanchez Rovira P, Wersall P, Cleall SP, Roychowdhury DF, Tomlin I, Visseren-Grul CM, und Conte PF, *Gemcitabine and cisplatin versus methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin in advanced or metastatic bladder cancer: results of a large, randomized, multinational, multicenter, phase III study*. J Clin Oncol, 2000. 18(17): p. 3068-77.

Yogi S, Ikeuchi T, Yoshikawa H, Hamashima T, Sasaki H, Morikawa F, Onodera Y, Matsumoto K, und Kai Y, [*Clinical evaluation of the bladder tumor marker "Tu-MARK-BTA"*]. Hinyokika Kyo, 1991. 37(4): p. 335-9.

Zietman AL, Grocela J, Zehr E, Kaufman DS, Young RH, Althausen AF, Heney NM, und Shipley WU, Selective bladder conservation using transurethral resection, chemotherapy, and radiation: management and consequences of Ta, T1, and Tis recurrence within the retained bladder. Urology, 2001. 58(3): p. 380-5.

8. Anhang

Danksagung

Zunächst bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. A. Stenzl, Ärztlicher Direktor der Universitätsklinik für Urologie der Universität Tübingen, für die Überlassung des Themas dieser Arbeit.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. med. C. Schwentner für die Betreuung bei der Erstellung dieser Dissertationsschrift sowie die Korrekturen. Er stand mir als Ansprechpartner jederzeit für Fragen zur Verfügung.

Ganz besonders bedanke ich mich bei Herrn Dr. Jörg Hennenlotter, der maßgeblich an der Organisation und dem Zustandekommen der vorliegenden Versuchsreihe beteiligt war. Weiterhin hat er mich tatkräftig bei der statistischen Auswertung betreut und mir geduldig bei allen Fragen und Problemen weitergeholfen.

Ein großer Dank geht auch an das gesamte Team des Forschungslabors der Universitätsklinik für Urologie, die mich bei der Durchführung der Versuche und Messungen sehr unterstützt haben.

Mein Dank geht auch an meinen Kollegen Herrn Dr. med. Tilman Todenhöfer, der mir ebenfalls bei der statistischen Auswertung dieser Arbeit sehr behilflich war.

Ein besondere Dank auch an die Firma concile GmbH, Freiburg, vertreten durch Herrn F. Maier und Herrn Dr. H. Olschewski, die diese Studie durch die Überlassung der Testmaterialien möglich gemacht und mich weiterhin mit technischen Informationen versorgt haben.

Danke auch an meine Freundin Saskia für ihr Verständnis, da sie während der Entstehung dieser Arbeit oftmals auf mich verzichten musste.

Zu guter Letzt vielen Dank meinen lieben Eltern Gabriele Schnaudigel und Albrecht Ritter, die mir das Studium der Medizin und damit das Zustandekommen dieser Arbeit überhaupt erst ermöglicht haben.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: René Benjamin Ritter
 Geburtsdatum: 04.09.1982
 Geburtsort: Frankfurt am Main
 Familienstand: ledig
 Staatsangehörigkeit: Deutsch

Schulbildung, Zivildienst

1989-1993 Saalburgschule (Grundschule) Bad Vilbel
 1993-2002 Georg-Büchner-Gymnasium Bad Vilbel
 11/2002 - 08/2003 Zivildienst an der Universitätsklinik Frankfurt am Main

Studium

10/2003 - 08 / 2005 Vorklinisches Studium Philipps-Universität, Marburg
 12.09.2005 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 10/2005 - 07/2009 Klinisches Studium Philipps-Universität Marburg
 17.11.2009 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Famulaturen

02/2006 Urologie, Krankenhaus Nord-West, Frankfurt am Main
 08/2006 Chirurgie / Kinderchirurgie, Bürgerhospital, Frankfurt am Main
 08/2007 Allgemeinmedizin, Palma de Mallorca, Spanien
 01/2008 Anästhesie / Intensivmedizin, Feldkirch, Österreich

Praktisches Jahr

08/2008 – 11/2008 Chirurgie, Kantonsspital Aarau, Schweiz
 12/2008 – 03/2009 Urologie, Kantonsspital Aarau, Schweiz
 04/2009 – 07/2009 Innere Medizin, Kreisklinikum Siegen, Lehrkrankenhaus der Philipps-Universität Marburg

Klinische Tätigkeiten

02/2010 – 03/2011 Assistenzarzt, Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie, Katharinenhospital Stuttgart
 Seit 03/2011 Assistenzarzt, Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Tübingen