

Aus der Klinik für Urologie des Helios Klinikums Bad Saarow

DISSERTATION

Visuelle und quantitative Auswertung des UBC® *Rapid Tests*
mittels concile® Ω100 Reader bei Patienten mit
Urothelkarzinom der Harnblase

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Sarah Katharina Assiba Weiß,
geborene Gützlaff

aus Bad Oldesloe

Datum der Promotion: 18.12.2020

Vorwort

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden bereits publiziert:

Ecke TH, Weiß S, Stephan C, Hallmann S, Barski D, Otto T, Gerullis H. UBC® Rapid Test for detection of carcinoma in situ for bladder cancer. Tumor Biol. 2017;39(5):1010428317701624.

Ecke TH, Weiß S, Stephan C, Hallmann S, Arndt C, Barski D, Otto T, Gerullis H. UBC® Rapid Test—A Urinary Point-of-Care (POC) Assay for Diagnosis of Bladder Cancer with a focus on Non-Muscle Invasive High-Grade Tumors: Results of a Multicenter-Study. Int. J. Mol. Sci. 2018;19(12)3841.

Vorwort	I
Inhaltsverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VII
1. Abstract	
1.1. Abstract (Deutsch)	1
1.2. Abstract (Englisch)	2
2. Einleitung	
2.1. Harnblase	4
2.2. Epidemiologie des Harnblasenkarzinoms	6
2.3. Ätiologie und Risikofaktoren	6
2.4. Stadieneinteilung und Differenzierungsgrad	
2.4.1. TNM-Klassifikation (Tumorstadium)	8
2.4.2. Differenzierungsgrad (Grading)	10
2.4.3. Risikostratifikation mittels EORTC	12
2.5. Diagnostik	
2.5.1. Klinik und Diagnostik des Urothelkarzinoms der Harnblase	14
2.5.2. Tumormarker	15
2.5.3. Zytokeratine 8 und 18	17
2.6. Therapie, Nachsorge und Prognose	17
3. Fragestellung	18
4. Methodik	
4.1. Patienten	20
4.2. Probenentnahme	21
4.3. Testverfahren	
4.3.1. Visuelle Auswertung des UBC® <i>Rapid Tests</i>	21
4.3.2. Quantitative Auswertung des UBC® <i>Rapid Tests</i> mittels concile® Ω 100 Reader	22
4.4. Statistik	24
4.5. Berechnungen	25

5. Ergebnisse	
5.1. Patienten	27
5.2. Visuelle Auswertung des UBC® <i>Rapid Tests</i>	29
5.3. Quantitative Auswertung des UBC® <i>Rapid Tests</i>	32
5.4. UBC® <i>Rapid Test</i> nach Differenzierungsgrad des nachgewiesenen Blasentumors	40
6. Diskussion	
6.1. Studienpopulation	45
6.2. Visuelle und quantitative Auswertung des UBC® <i>Rapid Tests</i>	45
6.3. UBC® <i>Rapid Test</i> nach Differenzierungsgrad des nachgewiesenen Blasentumors	49
6.4. Diagnostische und prognostische Wertigkeit von UBC® <i>Rapid Tests</i> im klinischen Kontext	51
6.5. Limitierungen	53
7. Zusammenfassung	54
8. Literaturverzeichnis	55
Eidesstattliche Versicherung	VIII
Lebenslauf	X
Publikationsliste	XI
Danksagung	XI

Abkürzungsverzeichnis

A.:	Arteria
Aa.:	Arteriae
ASR:	Age-standardised rate
AUC:	Area under the curve
BC:	Bladder Cancer/ Harnblasenkarzinom
BCG:	Bacille Calmette-Guérin
BPH :	Benigne Prostatahyperplasie
BPS :	Benignes Prostata Syndrom
Bzw. :	Beziehungsweise
Cis :	Carcinoma in situ
CK:	Zytokeratine
CRP:	C-reaktives Protein
EORTC:	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FGFR:	Fibroblast Growth Factor Receptor
GSTM1:	Glutathion S-Transferase Mu 1
HEXVIX:	Hexaminolevulinat
HG:	High Grade
KI:	Konfidenzintervall
LG:	Low Grade
LR:	Likelihood Ratio; Likelihoodquotient
MIBC:	Muscle-invasive Bladder Cancer/ Muskelinvasives Harnblasenkarzinom
miRNA:	Mikro- RNA, Ribonukleinsäure
n:	Anzahl
NAT2:	N-Acetyltransferase 2
NMIBC:	Non-muscle-invasive Bladder Cancer/ Nicht-muskelinvasives Harnblasenkarzinom
NPV:	Negative predictive value/ Negativer Vorhersagewert
PPV:	Positiver predictive value/ Positiver Vorhersagewert
POC:	Point-of-Care
POCT:	Point-of-Care-Testing (patientennahe Labordiagnostik)

PUNLMP:	Papilläre urotheliale Neoplasie mit geringem malignem Potential
Ras:	Rat Sarcoma, G-Protein, Protoonkogen
ROC:	Receiver Operating Characteristic
RT-PCR:	Reverse Transkriptase- Polymerase Kettenreaktion
SD:	Standard Deviation/ Standardabweichung
TUR:	Transurethrale Resektion
UBC:	Urinary Bladder Cancer
UCC:	Urothelial Cell Carcinoma
USA:	United States of America
WHO:	World Health Organisation
V.:	Vena
Vs.:	Versus
Vv.:	Venae

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: T-Stadien des Harnblasenkarzinoms
- Abbildung 2: Vereinfachte schematische Darstellung der Durchführung des UBC® *Rapid Tests* für die quantitative und qualitative Auswertung
- Abbildung 3: Visuelle Testergebnisse des UBC® *Rapid Tests*
- Abbildung 4: Concile® Ω 100 Reader
- Abbildung 5: Verteilung der Histologie (Grading 2004) entsprechend der Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests*
- Abbildung 6: Verteilung des histologischen Befunds (Grading von 1973) entsprechend der Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests*
- Abbildung 7: Verteilung der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests* nach T-Stadium
- Abbildung 8: Ergebnisse des concile® Ω 100 Readers in der Studienpopulation (n=237)
- Abbildung 9: Ergebnisse des concile® Ω 100 Readers nach der histologischen Einteilung von 2004
- Abbildung 10: Ergebnisse des concile® Ω 100 Readers nach der histologischen Einteilung von 1973
- Abbildung 11: ROC-Kurve für den UBC® *Rapid Test* (n=237) mit einer AUC von 0,779
- Abbildung 12: Prätest- Wahrscheinlichkeit und Posttest- Wahrscheinlichkeiten in Abhängigkeit des jeweils gewählten Cut- Offs des Concile® Ω 100 Readers
- Abbildung 13: ROC-Kurve UBC® *Rapid Test* bei Männern (n=181) mit einer AUC von 0,800 und bei Frauen (n=56) mit einer AUC von 0,696
- Abbildung 14: Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests* bei Patienten mit nachgewiesenen HG Tumoren
- Abbildung 15: Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests* bei Patienten mit nachgewiesenen LG Tumoren
- Abbildung 16: Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests* bei Patienten ohne nachgewiesenen Tumor

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Risikoberufe für das Entstehen eines Harnblasenkarzinoms
Tabelle 2:	T = Primärtumor
Tabelle 3:	N = Regionale Lymphknoten
Tabelle 4:	M = Fernmetastasen
Tabelle 5:	Histologische Klassifikationen im Vergleich
Tabelle 6:	Urotheliale Neoplasien gemäß der WHO, 2016
Tabelle 7:	Faktoren zur Berechnung des Risikoprofils für ein Rezidiv oder ein Progress eines Harnblasentumors gemäß des EORTC-Risikokalkulators
Tabelle 8:	Prozentuale Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv oder ein Progress eines Harnblasentumors für die kommenden 5 Jahre gemäß des EORTC-Risikokalkulators
Tabelle 9:	Beispiel einer Kontingenztafel
Tabelle 10:	Übersicht des Patientenkollektivs nach Gruppen
Tabelle 11:	Charakteristika der Harnblasentumorpatienten (n=129)
Tabelle 12:	Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® <i>Rapid Tests</i>
Tabelle 13:	Mittelwerte des UBC® <i>Rapid Tests</i> nach dem Grading von 1973
Tabelle 14:	Qualitative und quantitative UBC® <i>Rapid Test</i> ergebnisse im Vergleich
Tabelle 15:	Gütekriterien von HG und Cis Tumoren bei verschiedenen Cut-offs des quantitativen UBC® <i>Rapid Tests</i>
Tabelle 16:	Auswahl veröffentlichter Studien zum UBC® <i>Rapid Test</i>

1. Abstract

1.1. Abstract (Deutsch)

Das Urothelkarzinom der Harnblase stellt mit seinem hohen Rezidiv- und Progressionsrisiko eine große Belastung für betroffene Patienten und die Gesundheitssysteme weltweit dar. Tumormarker sind ein nicht-invasives, benutzerunabhängiges und kostgünstiges Instrument in der Diagnostik von Krebserkrankungen, doch konnte für das Harnblasenkarzinom bisher kein Marker mit einer ausreichenden Sensitivität und Spezifität identifiziert werden. Im Urin lösliche Zytokeratinfragmente 8 und 18 entstammen dem Zytokeratinskelett der Epithelzellen und können von dem UBC® *Rapid* Test qualitativ nachgewiesen werden, sowie mittels concile® Ω100 Reader weiter quantifiziert werden. Zielstellung dieser Arbeit war die Bewertung der visuellen und quantitativen Ergebnisse des UBC® *Rapid* Tests, als urinbasierter Tumormarker in der Diagnostik der Primärdiagnose und der Nachsorge des Harnblasenkarzinoms.

Von einer Studienpopulation aus 237 Patienten wurden Primärdaten erhoben und die Urinproben entsprechend der Herstellerangaben bearbeitet.

Es konnte deutlich gezeigt werden, dass der UBC® *Rapid* Test gesunde Probanden von Patienten mit Harnblasentumoren unterscheiden kann ($p < 0,001$). In der optischen Auswertung der Gesamtstudienpopulation lag die Sensitivität bei 52,7%, die Spezifität bei 91,5%, der positive Vorhersagewert bei 88,5% und der negative Vorhersagewert bei 61,0%. Quantifizierte Ergebnisse lieferte der concile® Ω100 Reader. Die Sensitivität bei einem Cut-off von 9,9 µg/l lag bei 51,2% und die Spezifität bei 92,6% (AUC: 0,779). Es bestand eine Korrelation zwischen ansteigender Zytokeratinfragmentkonzentration und dem Vorliegen eines Harnblasentumors, sowie der Wahrscheinlichkeit für eine hochaggressive Tumorentität (High Grade Tumore und Carcinoma in situ). In der Subgruppenanalyse dieser Tumorentitäten wurde eine Sensitivität bis 87,5%, bei einer Spezifität von bis zu 92,6%, berechnet.

Somit ist der UBC® *Rapid* Test mit seiner Sensitivität weder als Screeninginstrument geeignet noch in der Lage den geltenden Goldstandard in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms, der invasiven Zystoskopie, zu ersetzen. Er ist jedoch hoch spezifisch und ein positives Testergebnis sollte zeitnah eine weiterführende Diagnostik einleiten. Der Test bietet das Potential den Nachsorgealgorithmus von Hochrisikotumoren zuverlässiger und kosteneffizienter zu gestalten. Der Zeitpunkt einer

Zystoskopie könnte mitbestimmt und somit Rezidive früher nachweisen werden. Zusätzlich könnte der UBC® *Rapid* Test die Indikationen für Hexaminolevulinat ergänzen und einen zielgerichteteren Einsatz ermöglichen.

Für die Reproduzierbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse sind jedoch ergänzende Studien mit größeren Fallzahlen nötig.

1.2. Abstract (Englisch)

The transitional cell carcinoma of the bladder represents a great burden on patients as well as international health care systems due to a high recurrence and progression rate. Tumor markers are an important diagnostic tool as they are non-invasive, user-independent and reproducible at low costs. For bladder cancer, no marker has yet been identified with sufficient sensitivity and specificity.

Fragments of cytokeratins 8 and 18 are soluble in urine and come from the cytoskeleton of epithelial cells. The UBC® *Rapid* Test enables a qualitative proof of cytokeratin fragments, which can be further quantified using concile® Ω100 Reader. The aim of this study was to evaluate the visual and quantitative results of UBC® *Rapid* Test, as a urine based tumor marker in primary diagnosis and aftercare of patients with bladder cancer. In a study population of 237 urological patients primary data and urine samples were collected.

It was shown, that UBC® *Rapid* Test can distinguish healthy subjects from bladder cancer patients ($p < 0,001$). Visual test results of the study population showed a sensitivity of 52,7% and a specificity of 91,5% (positive predictive value 88,5%; negative predictive value 61,0%). Concile® Ω100 Reader provided quantitative results with a sensitivity of 51,2% and a specificity of 92,6% using 9,9 µg/l as cut-off (AUC:0,779).

A correlation was shown between an increase in concentration and the likelihood of a tumor as well as for an aggressive entity (high-grade tumors and carcinoma in situ). A subgroup analysis of these tumor entities showed a sensitivity up to 87,5% and a specificity of 92,6%.

UBC® *Rapid* Test is neither in the position to be used as screening tool nor to replace cystoscopy as current diagnostic gold standard. It is highly specific and a positive test result needs immediate further work-up. The test offers the potential to make the aftercare regimen of high-grade tumors more reliable and cost-efficient. It could be used to

determine the time of cystoscopy and to detect recurrence earlier. In addition, it could complement the indications for hexaminolevulinate and allow a more targeted use. However, complementary studies with larger case numbers are needed.

2. Einleitung

2.1. Harnblase

Die Harnblase (vesica urinaria) ist ein Hohlorgan und Teil der ableitenden Harnwege, die für den Transport, die Speicherung und die Ausscheidung von Urin verantwortlich sind. Als extraperitoneal im kleinen Becken gelegenes muskuläres Speicherorgan, fasst sie ein Volumen von bis zu 500-1000ml, welches willkürlich entleert werden kann (Miktion). Der von den Nieren produzierte Urin dient der Aufrechterhaltung des Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushaltes der Wirbeltiere, sowie der Ausscheidung von Stoffwechselabbauprodukten. Er gelangt über die Ureteren (Harnleiter) in die Harnblase und wird über die Urethra (Harnröhre) ausgeschieden.¹ Ein spezielles mehrschichtiges Übergangsepithel, das Urothel, dient als Barriere für die in dem Urin gelösten Stoffe.

Topographie

Die Harnblase liegt im kleinen Becken hinter der Symphyse und wird kranial vom Peritoneum (Bauchfell) überzogen. Als Verschiebeschicht befindet sich ventral der Harnblase das Spatium retropubicum. Lateral grenzt lockeres Bindegewebe an die Harnblase und umfasst den Plexus venosus vesicalis. Dorsal schließen sich bei der Frau die Gebärmutter mit der Excavatio vesicouterina und bei dem Mann das Rektum mit Excavatio rectovesicalis, Ureteren, Glandula vesiculosa (Samenbläschen) und Ductus deferens (Samenleiter) an. Das Diaphragma pelvis, die Urethra und bei dem Mann die Prostata liegen kaudal der Harnblase.²

Makroskopische Anatomie

Die Harnblase wird in vier verschiedene Abschnitte untergliedert. Den Hauptanteil bildet der Corpus vesicae (Harnblasenkörper), an den sich ventral und kranial der Apex vesicae (Blasenspitze) anschließt. Der Fundus vesicae (Blasengrund) liegt kaudal und beinhaltet ein dreieckiges Schleimhautareal, das Trigonum vesicae, welches fest mit der Harnblasenmuskulatur verwachsen ist. In dieses münden die Ureteren von dorsal ein. Kaudal des Trigonums liegt der Cervix vesicae (Blasenhals) mit dem Übergang in die Urethra. Eine zäpfchenförmige Erhebung im Bereich des Blasenauslasses wird als Uvula vesicae bezeichnet und unterstützt die Kontinenz.¹

Die arterielle Versorgung der Harnblase erfolgt über zwei Äste der A. iliaca interna. Die A. umbilicalis versorgt über ihre Verzweigungen der Aa. Vesicalis superiores den

kranialen Anteil der Harnblase und die A. vesicalis inferior die kaudalen Anteile, sowie Bereiche der Prostata beim Mann.

Der venöse Abfluss wird über zwei, beziehungsweise beim Mann drei Plexi gewährleistet. Der Plexus venosus vesicalis wird über die V. iliaca der V.cava inferior zugeführt und der Plexus venosus vertebralis drainiert über die Vv. lumbales ascendentes und V. azygos in die V.cava superior. Zusätzlich findet sich beim Mann der Plexus venosus prostaticus, der wiederum in Verbindung mit den beide vorherigen Plexi steht.³

Mikroskopische Anatomie

Die Harnblasenwand besteht aus drei Schichten. Die Tunica mucosa liegt luminal und setzt sich wiederum aus dem Urothel und der Lamina propria zusammen. Ihr liegt die Tunica muscularis auf. Diese Muskelschicht besteht aus drei spiralförmig verlaufenden Schichten des M. detrusor vesicae und dem M. sphincter vesicae internus. Aufgelagert findet sich die bindegewebige Tunica adventitia und kranial das Peritoneum, welches in diesem Bereich als Tunica serosa bezeichnet wird.⁴

Urothel

Ein spezielles Übergangsepithel kleidet den gesamten Harntrakt vom Nierenbecken bis zur proximalen Urethra aus. (Ausnahme bildet die Pars spongiosa und die Fossa navicularis der Urethra.)

Es verhindert die Rückresorption von Elektrolyten und gelösten Stoffwechselabbauprodukten, insbesondere Stickstoffverbindungen aus dem Urin, schützt vor reizenden Bestandteilen und passt sich den wechselnden Volumen- und Druckverhältnissen der Harnblase an. Histologisch setzt sich das Urothel aus dem Stratum basale, dem Stratum intermedium und dem luminal gelegenen Stratum superficialis zusammen. Die Anzahl der Zellschichten und ihre Form variiert mit dem Füllungsgrad der Harnblase. Das Stratum superficialis besteht aus hochprismatischen Epithelzellen, die im entleerten Zustand in bis zu 7 Zellschichten angeordnet sind und mit zunehmendem Druck und Volumen abflachen und sich auf 3-5 Zellschichten verteilen.¹ Dieser aufgelagert befindet sich die Crusta, eine einschichtige mehrkernige Deckzellenschicht (Umbrella cells), deren Aufbau und Verzahnung die besonderen Eigenschaften des Urothels ermöglichen. Über Exozytose und Endozytose von diskoiden Vesikeln, deren Membran aus den gleichen Plaques wie die apikale Plasmamembran besteht, kann diese erweitert beziehungsweise reduziert werden. Diese Plaques

enthalten für das Urothel spezifische Transmembranproteine, Uroplakine genannt, und sind über Tight Junctions besonders eng miteinander verzahnt. Hierdurch wird der chemische und mechanische Barrierefunktion bei einer gleichzeitig hohen Elastizität ermöglicht. ^{5,6}

2.2. Epidemiologie des Harnblasenkarzinoms

Weltweit wurde die Inzidenz des Harnblasenkarzinoms (BC) im Jahr 2018 mit 549.393 angegeben.⁷ Beim Mann ist jede sechste diagnostizierte Tumorerkrankung ein Harnblasenkarzinom. Unter Berücksichtigung beider Geschlechter ist das BC die 10. häufigste Tumorerkrankung und ist im Vergleich mit älteren Daten (2012) zunehmend in Anzahl und Bedeutung. Die weltweit geschätzte Inzidenz wird mit einer ASR (age-standardised rate) von 9.6 bei Männern und 2.4 bei Frauen pro 100.000 angegeben.⁷ In Deutschland entspricht dies ca. 35.738 Neuerkrankungen im Jahr 2018. Das BC rückt damit auf Rang 5 der am häufigsten diagnostizierten Tumorerkrankungen (♂:4.Platz, ♀:7. Platz).⁷

Betrachtet man die Inzidenz und Mortalität assoziiert mit dem BC beispielsweise bei Männern so beträgt die ASR schätzungsweise weltweit 9.6 zu 3.2 pro 100.000, in Deutschland bei 26.4 zu 4.8.⁷ Es werden folglich mehr Harnblasenkarzinome entdeckt, jedoch verläuft die Erkrankung selten tödlich.

Dies hängt unter anderem mit der unterschiedlichen Charakteristik des Harnblasenkarzinoms zusammen, die in Abhängigkeit von der Eindringtiefe des Tumors, der Histologie und seiner Progressionstendenz sehr unterschiedlich ausfallen kann.

Bei ungefähr $\frac{3}{4}$ der Patienten liegt die Erkrankung auf die Mucosa und Submucosa beschränkt vor (Ta, Cis, T1).⁸

2.3. Ätiologie und Risikofaktoren

Für die Entstehung des BC scheinen endogene Faktoren auf molekularer Ebene und exogene Faktoren eine Rolle spielen. Der am besten untersuchte Risikofaktor für die Entstehung eines Urothelkarzinoms ist das Rauchen. Zahlreiche prospektive und retroprospektive Studien, Meta-Analysen und Übersichtsarbeiten haben sich damit befasst und auch die IARC (International Agency for Research on Cancer) konnte zeigen, dass das Risiko zur Entwicklung eines Urothelkarzinoms in Abhängigkeit von der

Expositionsdauer und Anzahl an gerauchten Zigaretten steht. Das 2-Naphtylamin wird als entscheidendes Karzinogen betrachtet und ist damit ursächlich für 50% der BC Fälle.⁹ Die Inzidenz des BC steigt kontinuierlich mit zunehmendem Alter und zeigt im Geschlechtervergleich ab dem 25. Lebensjahr einen steileren Anstieg beim Mann. Bereits 1895 wurde ein Zusammenhang mit der Exposition von Fuchsin, ein rotblauer Triphenylmethanfarbstoff und der Entwicklung eines Urothelkarzinoms beobachtet.¹⁰ Zusätzlich stellen Arsen und gewisse aromatische Amine einen Risikofaktor zur Entstehung des BCs dar. Das krebsauslösende Potential der verschiedenen Verbindungen ist unterschiedlich und ist besonders hoch nach der Exposition durch 4-Aminodiphenyl, Benzidin und seiner Salze, 4-Chlor-o-toluidin, 2-Naphthylamin und o-Toluidin.^{11,12} Relevant sind diese Verbindungen insbesondere für exponierte Berufsgruppen und deren Anerkennung als Berufskrankheit. Die folgende Liste gibt einen aktuellen Überblick.

Tabelle 1: Risikoberufe für das Entstehen eines Harnblasenkarzinoms ¹²

- Maler und Lackierer
- Beschäftigte der Gummiindustrie und Teerproduktion
- Frisöre
- Bergleute
- Metallarbeiter, Schmiede
- Lederarbeiter
- Kraftfahrer (LKW, Bus, Taxi)
- Kraftfahrzeugmechaniker
- Hochofenarbeiter

Zu den Medikamenten, die als karzinogen hinsichtlich der Entwicklung eines BC eingestuft wurden gehören Cyclophosphamid, Chlornaphazin, Phenazetin und Aristolochiasäure. Sie erhöhen das Risiko um bis zu Faktor 9.¹²

Auch chronische Entzündungen und die dauerhafte Harnableitung sind mit einem erhöhten Auftreten von einem BC assoziiert.¹³

Ein weiterer Risikofaktor für die Entstehung eines BC stellt eine vorherige Strahlentherapie im Bereich des kleinen Beckens dar. Für Patienten und Patientinnen

besteht nach einer Latenzzeit ein erhöhtes Risiko für die Entstehung eines Blasenkarzinoms.¹⁴

Eine Sonderrolle unter den Risikofaktoren nimmt die in Afrika endemische Bilharziose ein. Das Risiko für die Entwicklung eines Plattenepithelkarzinoms der Harnblase ist bei Schistosomiasis in der Harnblase deutlich erhöht und tritt bei bis 59- 81% der betroffenen Patienten auf.¹⁵

Als bewiesen gilt eine erhöhte Inzidenz von Harnwegs- und damit auch Harnblasenkarzinomen bei dem HNPCC (hereditäres, nicht polypöses kolorektales Karzinom), auch als Lynch-Syndrom bekannt.¹⁶

Genomanalysen zur Detektion von blasenkarzinomassoziierten Polymorphismen, Deletionen und Mutationen wurden auf der Ebene der Grundlagenforschung durchgeführt, doch haben sie aktuell keine Relevanz in der klinischen Anwendung.¹⁷ Man ist sich jedoch einig, dass das absolute Erkrankungsrisiko beim BC in erstem Verwandtschaftsgrad um das 2fache erhöht ist. Auch der Nachweis einer bestimmten Variante der N-acetyltransferase 2 (NAT2) und des Null-Genotypes der Glutathion S-Transferase Mu 1 (GSTM1) stellen ein zusätzliches Risiko dar. Sie sind mit für die Acetylierung und Detoxifikation von Karzinogenen verantwortlich und bestimmte Genomvarianten führen über verlangsamte oder fehlende Funktion zu einer verlängerten Exposition des Urothels gegenüber potentiell schädlichen Karzinogenen.⁹

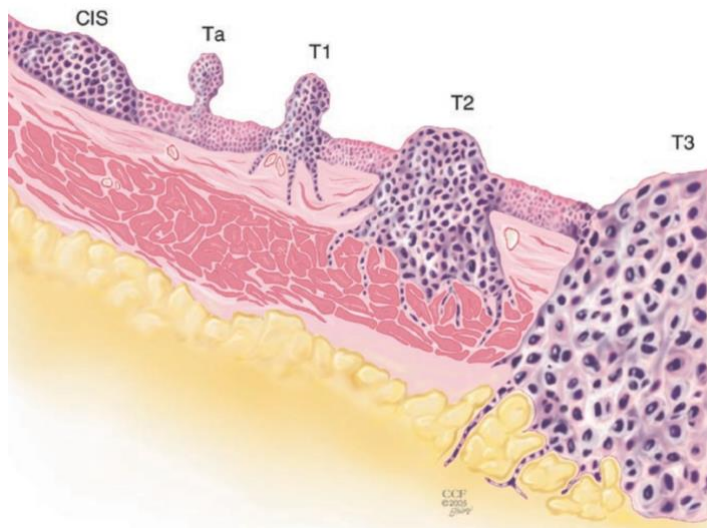
2.4. Stadieneinteilung und Differenzierungsgrad

2.4.1. Einteilung und TNM-Klassifikation

Das Harnblasenkarzinom tritt häufig multifokal auf. Bis zu 95% der BC sind urothelialen Ursprungs, gefolgt von Plattenepithel-, Adeno- und Urachuskarzinomen.¹ Es wird klinisch zwischen einem muskelinvasiven (MIBC) und nicht-muskelinvasiven Karzinom (NMIBC) unterschieden, mit weitreichenden Konsequenzen für Diagnostik, Therapie und Nachsorge.

Ein NMIBC wird in 75% aller mit Harnblasenkarzinom diagnostizierten Patienten vorgefunden. Diese Gruppe beinhaltet sowohl papilläre, auf die Mucosa und Submucosa beschränkte, sowie flache high grade Tumore (Cis). Bei 5% der MIBC liegt bereits bei Diagnose ein metastasiertes Tumorstadium vor.¹⁸

Abbildung 1: T-Stadien der Harnblasenkarzinoms¹⁹



Seit 1987 werden Tumore nach der TNM-Klassifikation der UICC (Union international contre le cancer) in Stadien eingeteilt. T steht in dieser Klassifikation für die lokale Tumorausdehnung, N für den Lymphknotenstatus und M für eine etwaige Metastasierung, die sich hämatogen bevorzugt in der Lunge, den Knochen und der Leber ausbreitet. Die genaue Klassifikation ist nachfolgend in den Tabellen 2-4 dargestellt.²⁰

Tabelle 2: T = Primärtumor ²⁰

T Stadium	Merkmal
Tx	Primärtumor kann nicht identifiziert werden
T0	Kein Primärtumor
Ta	Nicht-invasives papilläres Karzinom (Lamina propria intakt)
Tis	Carcinoma in situ, flacher urothelialer Tumor
T1	Tumor infiltriert das subepitheliale Bindegewebe
T2	Muskelinvasives Tumorwachstum T2a: Infiltration der inneren, oberflächlichen Muskelschicht T2b: Infiltration der äußeren, tiefen Muskelschicht
T3	Infiltration des perivesikalen Gewebes T3a mikroskopisch T3b makroskopisch
T4	Organüberschreitendes Wachstum T4a Infiltration von Vagina, Uterus, Prostata oder Samenbläschen T4b Infiltration von Becken- und/ oder Bauchwand

Tabelle 3: N = Regionale Lymphknoten²⁰

N Stadium	Merkmal
Nx	Lymphknotenstatus unbekannt
N0	Keine Lymphknotenmetastasen nachweisbar
N1	Lymphknotenmetastase im Beckenbereich (hypogastrisch, obturatorisch, präsakral) oder in dem Bereich der A. iliaca externa
N2	Mehrere Lymphknotenmetastasen im Beckenbereich (hypogastrisch, obturatorisch, präsakral) oder in dem Bereich der A. iliaca externa
N3	Lymphknotenmetastasen im Bereich der A. iliaca communis

Tabelle 4: M = Fernmetastasen²⁰

M Stadium	Merkmal
Mx	Beurteilung von möglichen Metastasen nicht möglich
M0	Kein Anhalt für Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen sind nachgewiesen

2.4.2. Differenzierungsgrad (Grading)

Eine histopathologische Beurteilung des Urothelkarzinoms der Harnblase erfolgt durch die Angabe des Entdifferenzierungsgrades der Tumorzelle von ihrer Ursprungszelle. Seit 1973 besteht die Einteilung der WHO von G1-G3, wobei der Differenzierungsgrad mit steigender Zahl abnimmt. Um der unterschiedlichen Charakteristika der NMIBC genauer entsprechen zu können, erfolgte 2004 eine Modifikation und die Einteilung in PUNLMP (papilläre urotheliale Neoplasie mit geringem malignem Potential), Low und High Grade Tumore.

Prognostisch entscheidend ist jedoch eine genaue Differenzierung für invasive Tumore, sodass die ursprüngliche Klassifikation von G1-G3 seit 2016 für diese Entitäten wieder angegeben werden soll.²¹

Tabelle 5: Histologische Klassifikationen im Vergleich ²²

	WHO 1973	WHO 1998/2004	Leitlinie EAU
Zunehmender Grad der histologischen Entdifferenzierung	Papillom	Papillom	Low Risk
	Grad 1	Niedrige maligne Potenz (PUNLMP)	
		Low-grade Karzinom (LGPUC)	Intermediate Risk
	Grad 2	Low-grade Karzinom (LGPUC)	
		High-grade Karzinom (HGPUC)	High Risk
	Grad 3	High-grade Karzinom (HGPUC)	

Das Progressionsrisiko und das maligne Potential einer urothelialen Neoplasie lässt sich nicht hinreichend mit der Einteilung in NMIBC und MIBC wiedergeben. Betrachtet man die NMIBC findet sich ein Rezidiv der Low grade (LG) Ta Neoplasien in bis zu 70% der Fälle und in bis zu 80% bei High grade (HG) T1 und Cis (Carcinoma in situ) Läsionen. Das Progressionsrisiko ist jedoch mit bis zu 5% zu 50% innerhalb von 3 Jahren in der zweiten Kohorte deutlich erhöht.²³

Diesen Unterschied in dem biologischen Verhalten beschrieb bereits Droller 2005. Low Grade Tumore mit ihrem papillären und nicht-invasivem Wachstumsmuster könnten als mögliche eigenständige und nahezu gutartige Tumorentität bezeichnet werden.^{24,25} Auch auf chromosomaler Ebene finden sich Unterschiede in der Tumorentstehung und Verhalten von LG und HG Tumoren. Leichte Aberrationen und Deletionen auf Chromosom 9 sind häufig bei LG Karzinomen zu finden, wohingegen es zu zahlreichen und variablen Mutationen und Chromosomverlusten bei HG Karzinomen kommt. Besonders häufig betroffen und mit besonders aggressiven Tumoren assoziiert sind die Chromosomen 7, 9 und 17.²⁶ Zur vereinfachten Darstellung der möglichen Tumorentstehung wurde das Two-Pathway Model entwickelt.²⁷ Es beschreibt, dass einem papillären pTa Tumor häufig eine Hyperplasie zugrunde liegt. Eine Hochbeziehungsweise Runterregulation der Genexpression erfolgt durch verschiedene miRNAs und kann über eine erhöhte Aktivität von FGFR und RAS zur Tumorentstehung führen.²⁷ Entsprechend des Modells entsteht wiederum ein Cis und MIBCs auf dem

Boden einer Dysplasie. Es wurden zahlreiche miRNAs identifiziert, die über eine Beeinflussung des p53 Signalweges zu einem invasiven Tumorwachstum führen können.²⁷

Die WHO unterscheidet seit Februar 2016 urotheliale Neoplasien noch genauer entsprechend der histologischen Ausprägung, siehe Tabelle 6.

Tabelle 6: Urotheliale Neoplasien gemäß der WHO, 2016 ²⁰

Invasives Urothelkarzinom	Nicht-invasive urotheliale Läsion
Nested, einschließlich großzellig nested, Mikrozytisch	Urotheliales Carcinoma in situ (Cis)
Mikropapillär	Nicht-invasives papilläres Urothelkarzinom, low grade
Lymphoepitheliom-artig	Nicht-invasives papilläres Urothelkarzinom, high grade
Plasmazytoid/Siegelringzellig/Diffus Sakromatoid Riesenzellig	Papilläre urotheliale Neoplasie mit geringem malignem Potential
Gering differenziert Lipid-reich Klarzellig	Urotheliales Papillom
	Invertiertes urotheliales Papillom, urotheliale Proliferation mit unklarem malignem Potential Urotheliale Dysplasie

2.4.3. Risikostratifikation mittels EORTC Risikotabellen

Insbesondere die zu den NMIBC zählenden Karzinome zeigen ein weites Spektrum in ihrem biologischen Verhalten, sodass eine genaue Vorhersage über die individuelle Rezidivwahrscheinlichkeit und das Progressionsrisiko schwierig ist. Aus diesem Grund wurde 2006 durch die Europäische Organisation für Forschung und Behandlung von Krebserkrankungen (EORTC) ein System zur Risikoeinschätzung von T1 und Ta Tumoren entwickelt. Dieses System ermöglicht eine Einteilung in drei Risikogruppen und einer diesen entsprechend angepassten Tumornachsorge für jeden einzelnen Patienten. Diese Risikostratifikation entstammt einer Multivarianzanalyse aus Daten von 2596 Patienten.²⁸

Entsprechend der in Tabelle 7 aufgelisteten Faktoren werden für jeden Patienten zwischen 0 und 17 Punkte für einen Rezidivtumor, bzw. bis zu 23 Punkte für einen Tumorprogress vergeben. Diese ermöglichen eine Eingruppierung in ein minimales, niedriges, intermediäres oder hohes Risikoprofil. Entsprechend der Tabelle 8 kann die

daraus resultierende Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv/Progress für die kommenden 1-5 Jahre abgelesen und für eine entsprechende Weiterbetreuung berücksichtigt werden.

Tabelle 7: Faktoren zur Berechnung des Risikoprofils für ein Rezidiv oder ein Progress eines Harnblasentumors gemäß des EORTC-Risikokalkulators ²⁸

		Rezidiv	Progress
Anzahl der Tumore:	solitär	0	0
	2-8	3	3
	<8	6	3
Tumorgroße:	< 3 cm	0	0
	> 3 cm	3	3
Bisherige Rezidivrate:	Erstereignis	0	0
	≤ 1/Jahr	2	2
	> 1/Jahr	4	2
pT Stadium:	Ta	0	0
	T1	1	4
	- CIS	0	0
	+ CIS	1	6
Grade:	G1	0	0
	G2	1	0
	G3	2	6
Gesamt:		0-17	0-23

Tabelle 8: Prozentuale Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv oder ein Progress eines Harnblasentumors für die kommenden 5 Jahre gemäß des EORTC-Risikokalkulators ²⁸

Rezidiv-wahrscheinlichkeit	Minimales Risiko (%)	Niedriges Risiko (%)	Intermediäres Risiko (%)	Hohes Risiko (%)
Score	0	1-4	5-9	10-17
1 Jahr	15	24	38	61
2 Jahre	21	34	51	71
3 Jahre	25	40	56	75
4 Jahre	28	43	59	78
5 Jahre	31	46	62	78

Progressions- wahrscheinlichkeit	Minimales Risiko (%)	Niedriges Risiko (%)	Intermediäres Risiko (%)	Hohes Risiko (%)
Score	0	2-6	7-13	14-23
1 Jahr	0,2	1	5	17
2 Jahre	0,2	3	8	26
3 Jahre	0,8	4	11	30
4 Jahre	0,8	5	15	39
5 Jahre	0,8	6	17	45

Eine besondere Stellung unter dem NMIBC nimmt das Carcinoma in situ ein, welches in bis zu 10% aller BC vorliegt.²⁹ Mit seinem hohen Grad an Entdifferenzierung gehört es zu den HG Tumoren und ist mit einem besonders aggressiven Wachstums- und Progressionsrisiko vergesellschaftet. Bei 40-83% der betroffenen Patienten, insbesondere mit assoziierten papillären Tumoren zeigt sich ohne Therapie im Verlauf ein Progress in ein muskelinvasives Karzinom.³⁰ In der Studie von Masood aus dem Jahr 2004 konnte gezeigt werden, dass bei Patienten nach Zystektomie im T1 Stadium und Vorliegen von Cis ein Upstaging in 55% der Fälle nötig war, wohingegen ohne vorliegendes Cis in nur 6% der Fälle.³¹ Neben dem Grading, ist das Vorliegen eines Cis der wichtigste prognostische Faktor bei der Diagnose eines BC.³²

2.5. Diagnostik

2.5.1. Klinik und Diagnostik des Urothelkarzinoms der Harnblase

Das Leitsymptom des BC ist die schmerzlose Mikro- und Makrohämaturie und führt in 80-95% der Patienten zur Diagnose.³³ Zusätzlich können irritative Miktionsbeschwerden wie Pollakisurie, Drangsymptomatik und Dysurie wegweisend sein. In einem bereits fortgeschrittenen Stadium können Harnstauungsniere, Flankenschmerzen, ein Unterbauchtumor, Knochenschmerzen und eine B-Symptomatik vorliegen.

Bei Verdacht auf ein mögliches Harnblasenkarzinom erfolgt zunächst die klinische Untersuchung samt Ultraschalldiagnostik und eine erweiterte Urin- und Blutuntersuchung. Zum Nachweis von pathologischen Urothelzellen kann eine Urinzytologie angefertigt werden. Hierfür wird in der Regel Spontanurin oder im Rahmen einer Blasenspiegelung gewonnene Zellen durch Spülung mit 0,9%NaCl gesammelt, zentrifugiert, fixiert und gefärbt. In der mikroskopischen Untersuchung werden die gewonnenen Zellen nach verschiedenen Malignitätskriterien beurteilt.

Die Spezifität liegt über 96%, doch die Sensitivität ist nur bei HG Tumoren mit bis zu 84% hoch und zeigt insbesondere im Nachweis von Cis eine große Inhomogenität von 28-100% und eine hohe Untersucherabhängigkeit.^{34,35} Aktuell behält die Zytologie als nicht-invasives Diagnostikum seinen Stellenwert in der Primärdiagnostik und im Rahmen der Nachsorge. Sie ergänzt die invasive Zystoskopie, die den Goldstandard zum Nachweis eines BC darstellt. Eine negative Urinzytologie schließt laut Leitlinie einen HG Tumor oder Cis Befund nahezu aus.³⁶

Nach Installation eines anästhetisch wirksamen Gels kann die Ausspiegelung der Harnblase ohne Narkose erfolgen. Neben der standardisierten Weißlichtzystoskopie ist nach intravesikaler Installation von Hexaminolävinat-Lösung (HEXVIX) zusätzlich eine Blaulicht-Fluoreszenz-Zystoskopie möglich. Diese verbessert die Detektionsrate von Tumoren um ein Drittel und besonders Cis und kleine Tumore, die sich in der Standardzystoskopie maskieren können, werden in 95% vs. 68%, bzw. 96% vs. 85% nachgewiesen.³⁷ Zur histologischen Sicherung, Tumorsektion und systematischen Biopsieentnahme erfolgt eine TUR Blase (transurethrale Resektion) in Vollnarkose.

Bei unklarem Befund kann eine erweiterte Bilddiagnostik des oberen Harntraktes zum Tumornachweis erforderlich sein, da 5% aller Urothelkarzinome oberhalb der Harnblase liegen.³⁸

Die untersucherabhängige, zeit- und kostenintensive Zystoskopie ist mit Risiken wie Perforation, Entzündung, Blutungen und Harnröhrenstrikturen behaftet. Trotz der hohen Patientenbelastung bleibt sie das zentrale Instrument der Diagnostik und Therapie des BCs.

2.5.2. Tumormarker

Tumormarker sind biologische Substanzen, die im Blut, Gewebe oder in Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden können und deren Nachweis, bzw. Konzentrationen Rückschlüsse auf zugrundeliegende Tumorerkrankungen ermöglichen. Sie stellen im Idealfall ein kostengünstiges, reproduzierbares und kommerziell verfügbares Diagnostikum in der Vorsorge, als Screening-Instrument und in der Nachsorge von Tumoren da.

Auch für das Harnblasenkarzinom wurden bereits zahlreiche urin-basierte Tumormarker in den letzten Jahren auf Spezifität und Sensitivität geprüft, um speziell die individuelle Belastung der Tumornachsorge und die hohen Kosten zu reduzieren.

Die Studien ergaben teilweise eine höhere Sensitivität als die Urinzytologie an, doch

niedrige Spezifitäten würden durch zu viele falsch-positive Ergebnisse zu weiteren unnötigen Untersuchungen führen. Bisher konnte jedoch kein Tumormarker identifiziert werden, der in seiner Genauigkeit die in der Leitlinie verankerten diagnostischen Untersuchungsmethoden ersetzen konnte. In den Vereinigten Staaten von Amerika (USA) gibt es sechs von der FDA (Food and Drug Administration) anerkannte Tumormarker und in der deutschen Leitlinie sind drei Tumormarker für die klinische Verwendung zugelassen. Hier handelt es sich neben UBC® um NMP22® und BTA Stat®/BTA TRAK®.³⁶

NMP22® (Matritech, Newton, Massachusetts, USA)

Mit dem NMP22 (nuclear matrix protein 22) wird ein nukleäres Matrixprotein qualitativ oder semiquantitativ nachgewiesen, welches in malignen Urothelzellen vermehrt vorkommt und im Rahmen der Apoptose exprimiert wird. Die Sensitivität variiert zwischen 68,2% und 88,5%, während die Spezifität mit 65,2 - 91,3% angegeben wird.³⁹

BTA® Stat, BTA TRAK (Polymedco, Cortlandt Manor, New York)

Die Blasen-tumor Assoziiertes Antigen-Tests ermöglichen als BTA Stat einen qualitativen und als BTA TRAK einen quantitativen Nachweis eines Proteins (human complement factor H-related protein-hCFHrp). Die in den Studien angegebene Sensitivität liegt zwischen 50 und 80% und die Spezifität bei 50-75%.³⁹

UBC®, UBC rapid (IDL Biotech, Bromma, Schweden)

Der UBC (Urinary Bladder Cancer Antigen) weist immunchemisch Fragmente der Zytokeratine 8 und 18 nach, die von Urothelkarzinomzellen in höheren Konzentrationen im Vergleich zu gesunden Epithelzellen gebildet werden. Quantitativ ist dies als kolorimetrischer Sandwich-Assay und qualitativ als Schnelltest mit Antikörper-Komplexbildung (UBC ®*Rapid*) verfügbar.³⁶

Die erste Testversion des UBC *Rapid*® Tests wurde bereits 1999 in einer Studie untersucht, jedoch 2004 bei eingeschränkter Stabilität des Tests wieder vom Markt genommen.^{40,41} Fünf Jahre später kam eine neue, bis heute gültige Testversion auf den Markt. Die Sensitivität in den bisherigen Studien liegt bei 36-71% und die Spezifität bei 61-91%.⁴²

Für den optischen Schnelltest gibt es seit 2016 zusätzlichen den UBC® *Rapid Visual* POC Test. Dieser arbeitet zum ersten Mal mit erhöhten Antikörperkonzentrationen und

seine Wertigkeit in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms muss noch durch Studien belegt werden.

2.5.3. Zytokeratine 8 und 18

Einen wichtigen Bestandteil des Zytoskeletts aller epithelialen Zellen bilden die Zytokeratine (CK). Es handelt sich um Intermediärfilamente, die den Zellen mechanische Stabilität verleihen. Zu den weiteren Funktionen der CKs gehören die Signaltransduktion, die Zellbindung und die Proteinsynthese. Bis heute sind 20 verschiedene Unterformen bekannt und ihre spezifischen Eigenschaften ermöglichen Rückschlüsse auf Ihre Ursprungszelle.

In der Diagnostik von Urothelkarzinomen scheinen die CKs 8, 18, 19 und 20 eine wichtige Rolle zu spielen.⁴³ Urotheliale Dysplasien zeigen eine Überexpression von p53, einen hohen Ki-67-Index und eine veränderte Expression von CK 20.⁴⁴ Im normalen Urothel wird CK20 ausschließlich von den Deckzellen gebildet, im Fall eines Übergangzellkarzinoms von allen Zellschichten und geht entsprechend mit einer höheren Konzentration einher. Der Nachweis erfolgt mittels RT-PCR.

CK 8,18 und 19 werden in höherem Maße von Urothelzellen gebildet und sind als intrazelluläre Proteine bei Zelluntergang nachweisbar und reagieren entsprechend bei erhöhter Zellumsatzrate.⁴⁵

Fragmente von CK 8 und 18 sind im Urin löslich und können dort qualitativ und quantitativ über monoklonale Antikörper bestimmt werden. Verwendung findet hierbei das labortechnisch aufwendige ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) Verfahren oder ein Schnelltest, UBC® *Rapid* Test, mit vergleichbaren Ergebnissen.⁴⁶

2.6. Therapie, Nachsorge und Prognose

Die Therapie des BC richtet sich nach dem vorliegenden Tumorstadium und dem histologischen Charakter von Läsionen. Sie beinhaltet die lokale Befundkontrolle mittels TUR Blase, gegebenenfalls mit postoperativer lokaler Chemotherapie mit Mitomycin, intravesikaler Immuntherapie mit BCG (Bacille Calmette-Guérin) und in fortgeschrittenen Stadien die radikale Zystektomie mit Lymphknotenadenektomie oder alternativ eine Radio- und Chemotherapie.^{47,48}

Eine besondere Herausforderung in der Therapie und Nachsorge des Urothelkarzinoms stellt die Multilokalisation und hohe Rezidivwahrscheinlichkeit dar.

Für die Prognose ist neben dem Grading die Tumorgroße, die Multilokalisation, die Tumorkonfiguration und das Vorliegen einer lymphovaskulären Invasion entscheidend.⁴⁹ Für das Progressionsrisiko scheint das Grading wichtiger, als das Tumorstadium.³² LG Ta Tumore treten mit einer Wahrscheinlichkeit von 50-70% innerhalb von 3 Jahren erneut auf. Ein wenig invasiver Charakter führt in 5 % der Fälle zu einer Progression, doch Rezidive und das simultane und zeitversetzte Auftreten von höhergradigen Läsionen macht eine konsequente Nachsorge unabdingbar.²³ Sie besteht aus einer Kombination aus Zystoskopie und Zytologie nach Protokollen, die mit Untersuchungen im 3-Monatsabstand für 18-24 Monaten beginnt, sich auf halbjährliche Abstände erweitert und in eine lebenslange jährliche Nachsorge übergeht. Eine individuelle Nachsorge sollte entsprechend des Risikoprofils mit Hilfe der EORTC Tabellen erstellt werden, um die Compliance seitens der Betroffenen zu erhöhen. Denn neben der individuellen Belastung mit konsequenter Einhaltung der Regime in nur 40%, bedeutet das BC für die Gesundheitssysteme die höchsten Lebenszeitkosten pro Patient aller Tumore.⁵⁰ Beispielhaft wurden die Ausgaben des amerikanischen Gesundheitssystems 2003 mit 2,2 Billionen Dollar angegeben und waren damit fast doppelt so hoch wie für das deutlich häufigere Prostatakarzinom.⁵¹

Zu einer groben Einschätzung der Überlebensrate nach 5 Jahren wird angenommen, dass 75% der T1, 50% der T2, 25% der T3 und <5% der T4 und metastasierten Tumor-Patienten noch am Leben sind.^{47,48}

3. Fragestellung

Das BC ist durch seine hohe Wahrscheinlichkeit für Rezidive und möglichen Progress eine Tumorentität, die in der Diagnose, Therapie und auch in der Nachsorge mit einer hohen Belastung für den Patienten und für die Gesundheitssysteme einhergeht.⁵⁰ Um diesen Belastungen entgegen zu wirken, wird seit Jahren nach einem günstigen nicht-invasivem Diagnostikum zur Detektion und Risikoeinschätzung gesucht. Zahlreiche Tumormarker wurden in den letzten Jahrzehnten untersucht, doch keiner konnte die Zystoskopie, als geltenden Goldstandard der Diagnostik des Blasenkarzinoms, ersetzen.

Ziel dieser prospektiven Arbeit ist den urin-basierten UBC® *Rapid* Test in seinen qualitativen und quantitativen Ergebnissen in der Detektion eines Harnblasentumors zu bewerten und sein Potential in der Diagnose und Nachsorge des BC zu evaluieren.

Folgende Fragestellungen werden im Rahmen dieser Arbeit behandelt:

1. Mit welcher diagnostischen Güte detektiert der UBC® *Rapid* Test ein BC?
2. Welche diagnostische Wertigkeit besitzt die quantitative Analyse des UBC® *Rapid* Tests und wo liegt der optimale Cut-Off?
3. Kann der UBC® *Rapid* Test Aussage über die Malignität eines BC treffen?
4. Worin liegt das Potential des UBC® *Rapid* Test im klinischen Setting?

4. Methodik

4.1. Patienten

Für die Durchführung der prospektiv angelegten diagnostischen Genauigkeitsstudie wurden im Zeitraum von Januar 2014 bis Oktober 2015 Urinproben und Daten von 244 Patienten gesammelt, die im Helios Klinikum Bad Saarow, Deutschland vorstellig waren. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Landesärztekammer Brandenburg (AS 147(bB)/2013) genehmigt und jeweils das Patienteneinverständnis eingeholt.

Bei allen Patienten mit Verdacht für das Vorliegen eines Harnblasenkarzinoms wurde eine Zystoskopie, eine Sonographie des Harntraktes, sowie eine transurethrale Abtragung suspekter Areale durchgeführt und eine Histologie gesichert.

Entsprechend der Ergebnisse wurden drei Gruppen aus den 237 eingeschlossenen Patienten erstellt.

Gruppe 1: 129 Patienten mit Nachweis eines Harnblasenkarzinoms

Gruppe 2: 78 Kontrollgruppe

Gruppe 3: 30 Patienten ohne Nachweis eines aktuell vorliegenden Harnblasenkarzinoms, jedoch mit einem BC in der Vorgeschichte

Es wurden folgende Ausschlusskriterien festgelegt, die nach Angaben des Herstellers das Testergebnis verfälschen könnten.

- Jegliche Art der mechanischen Manipulation im Urogenitaltrakt (Zystoskopie, transrektaler Ultraschall, Katheterisierung) innerhalb der letzten 10 Tage vor Probeentnahme
- Weitere Tumorerkrankungen
- Schwerwiegende Infektionen
- Benigne Prostatahyperplasie mit einer klinisch relevanten subvesikalen Obstruktion
- Urolithiasis
- Schwangerschaft

Entsprechend dieser Kriterien wurden 7 Patienten von der Auswertung ausgeschlossen.

4.2. Probenentnahme

Bei allen Patienten wurde vor jeglicher Intervention Mittelstrahlurin in einem sauberen Urinbecher mit Schraubdeckel gewonnen und dieser ohne Hinzufügen von Konservierungsstoffen maximal 3 Tage im Kühlschrank (2-8°C) aufbewahrt. Die Probe sollte ein Volumen von 0,5 ml nicht unterschreiten und bei eindeutigen Zeichen eines Harnwegsinfektes wurde der Patient von der Studie ausgeschlossen.

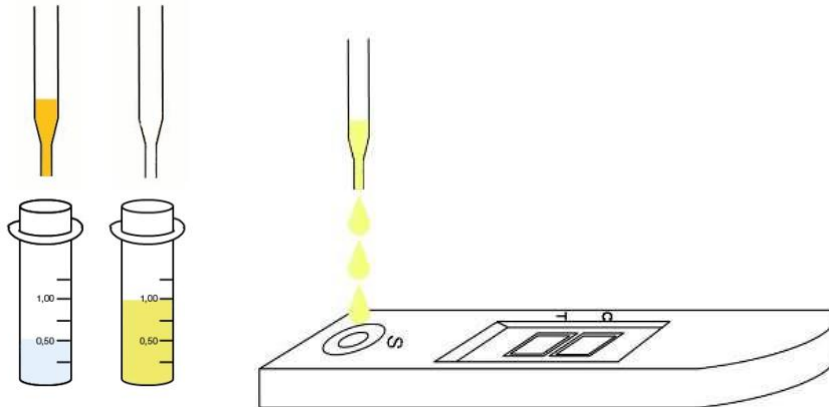
4.3. Testverfahren

4.3.1. Visuelle Auswertung des UBC® *Rapid Tests*

UBC® rapid Test ist ein Lateral Flow Assay, ein Schnelltest für den qualitativen Nachweis von Zytokeratinfragmente 8 und 18 im Urin. Im Lieferumfang sind eine Testkassette, ein Fläschchen mit UBC® Rapid Diluent, eine mit Konservierungsstoffen versetzte proteinstabilisierende Pufferlösung mit einem pH von 7,4 und eine Pipette enthalten.

Das Testprinzip des Lateral Flow Assays basiert auf der Immunchromatographie. Die Testkassette enthält einen Filter, ein mit Goldpartikeln markiertes dehydriertes mobiles Konjugat und eine Membran mit zwei Reaktionszonen, an denen immobilisierte Antikörper befestigt sind. Über den Filter gelangt die Urinprobe an die Membran und wird absorbiert. Die Rehydrierung des mobilen Konjugats ermöglicht eine Komplexbindung mit möglichen Zytokeratinfragmenten 8/ 18. Diese Komplexe binden in der ersten Testzone (T) die fixierten Antikörper und bilden ein positives Testergebnis. Der Überschuss an goldmarkiertem Reagenz erreicht die zweite Kontrollzone (C) und bindet an einen Mausantikörper. Dieser Teststreifen, sowie ein weiterer im Inneren sichern das Ergebnis.

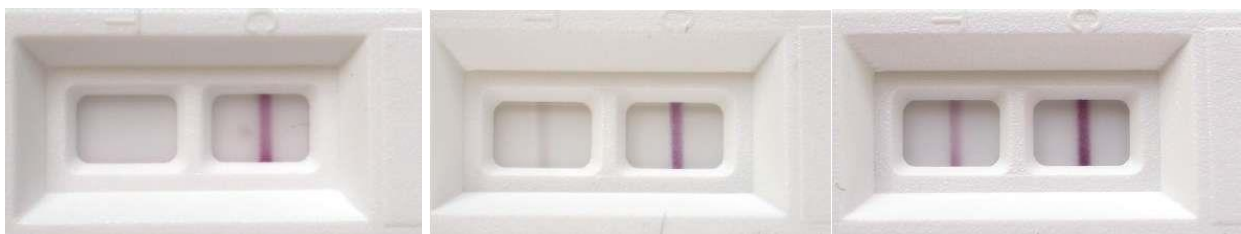
Abbildung 2: Vereinfachte schematische Darstellung der Durchführung des UBC® Rapid Tests für die quantitative und qualitative Auswertung ⁴¹



Für die Durchführung wird zunächst entsprechend der Gebrauchsanweisung eine verdünnte Urinprobe hergestellt.⁴¹ Mit Hilfe einer Pipette werden 0,5 ml des Mittelstrahlurins in das Fläschchen mit UBC® Rapid Diluent überführt und vermengt. Mit drei Tropfen dieser Lösung wird nun das Probefenster der Testkassette befüllt. Nach 10 Minuten kann das Ergebnis abgelesen werden.

Die Auswertung erfolgte analog der Abbildung 3. Von links nach rechts zeigen die drei Testergebnisse ein negatives, ein leicht positives und ein eindeutig positives Testergebnis.

Abbildung 3: Visuelle Testergebnisse des UBC® Rapid Tests⁴¹



4.3.2. Quantitative Auswertung des UBC® Rapid Tests mittels concile® Ω 100 Reader ⁵²

Der concile® Ω 100 Reader ist ein mobiles POCT (Point-of-Care-Testing) Messgerät der concile GmbH, mit dessen Hilfe Lateral Flow Assays quantitativ analysiert werden können.

Die Probenanalyse erfolgt über die Testkassette, die bereits für die visuelle Auswertung verwendet wurde. Die Intensität des Farbumschlags im Bereich des Testfeldes ist proportional zu der Zytokeratinfragment- Konzentration und wird photometrisch über den Reader bestimmt.

Abbildung 4: Concile® Ω 100 Reader⁵²



Zunächst wird eine SD-Karte mit der Standardkurve der jeweiligen Chargennummer für den UBC® *Rapid* Test in das Gerät eingelegt.

Entsprechend der Gebrauchsanweisung wird die Kassette in den Schubladenadapter eingelegt und von einem internen Scanner per Barcode identifiziert. Vor jedem Testlauf erfolgt ein Kontrolltest, um zu gewährleisten, dass die Kalibrierung im qualitätssichernden Bereich liegt.

Per Sofortmessung oder Timer- Funktion entsprechend der Probeninkubationszeit wird die quantitative Bestimmung der Zytokeratinfragmente 8 und 18 in $\mu\text{g/l}$ gestartet.

Die Testergebnisse können digital übermittelt oder über den mitgelieferten Drucker direkt ausgedruckt werden.

4.4. Statistik

Für die statistische Auswertung der erhobenen Daten wurden die folgenden Programme zur Hilfe genommen:

- IBM® SPSS® Statistics 25
- MedCalc®

In der Untersuchung der erhobenen Daten wurden Kreuztabellen, der Chi-Square-Test, Anova (Analysis of variance), T-Test, Kruskal Wallis bei nicht normalverteilten Variablen, und bei nicht-parametrischen Testgrößen der Mann-Whitney-U-Test angewendet.

Die diagnostische Wertigkeit wurde unter Anwendung von Receiver-Operating-Characteristic-Analysen (ROC-Analysen) validiert und die AUC, sowie die Sensitivität und die Spezifität bestimmt. Unter zu Hilfenahme von MedCalc® konnten zusätzlich der PPV und der NPV bestimmt werden.

Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt und entsprechend alle Werte gleich und über diesem Niveau als nicht signifikant bewertet.

Die Diagrammerstellung erfolgte mit dem Tabellen-Kalkulationsprogramm Microsoft® Office Excel in der Version 2017 und IBM® SPSS® Statistics 25. Zur graphischen Darstellung wurden Boxplots, Piecharts und gestapelte Balkendiagramme verwendet.

4.5. Berechnungen

Die Wertigkeit der durchgeführten Testverfahren wurden mit Hilfe von Kontingenztafeln (Vierfeldertafeln) untersucht. Mit diesen lassen sich nach unten genannten Formeln die Sensitivität, die Spezifität, der positiv prädiktive Wert (PPV), sowie der negativ prädiktive Wert (NPV) bestimmen.⁵³

Tabelle 9: Beispiel einer Kontingenztafel

	Tumornachweis	Kein Tumornachweis
Positives Testergebnis	A (richtig positiv)	B (falsch positiv)
Negatives Testergebnis	C (falsch negativ)	D (richtig negativ)

Mit der Sensitivität, der Empfindlichkeit eines Tests, wird die Rate der richtig positiven Testergebnisse angegeben. Sie beschreibt folglich den Anteil an Patienten mit einem Tumornachweis, bei denen auch das Testergebnis positiv ausgefallen ist. Die entsprechende Formel lautet $\frac{A}{A+C}$.

Mit der Spezifität hingegen, wird die Rate der richtig negativen Ergebnisse angegeben. Diese entspricht den Probanden ohne Tumornachweis, die auch laut Testergebnis gesund sind. Die Formel für die Spezifität lautet $\frac{D}{D+B}$.

Mit dem PPV, der Genauigkeit eines Tests, wird die Wahrscheinlichkeit dafür angegeben, dass bei einem positiven Testergebnis auch die getestete Größe vorliegt. Wie hoch die Wahrscheinlichkeit für einen Harnblasentumor bei einem positiven Testergebnis ist, errechnet sich über folgende Formel $\frac{A}{A+B}$.

Die Trennfähigkeit, der NPV, ermöglicht wiederum eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit, dass ein negatives Testergebnis mit der Abwesenheit der untersuchten Größe einhergeht. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient keinen Tumor bei einem negativen Testergebnis aufweist wird mit der Formel $\frac{D}{D+C}$ berechnet.

Der Likelihoodquotient oder Likelihood Ratio (LR) ist ein Maß für die diagnostische Genauigkeit eines Tests. Die LR gibt das Verhältnis von der Prä- zur Posttestwahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Erkrankung nach Durchführung eines diagnostischen Tests an. Mit der Formel $\frac{\text{Sensitivität}}{1-\text{Spezifität}}$ lässt sich die positive LR (LR+) berechnen und diese sollte über 10 liegen. Sie gibt konkret an, um ein wie Vielfaches die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Erkrankung bei einem positiven Testergebnis

erhöht ist. Die negative LR (LR-) sollte $<0,1$ sein, um die Wahrscheinlichkeit für die Abwesenheit einer Erkrankung bei einem negativen Testergebnis anzugeben. Berechnet wird die LR- über $\frac{1-\text{Sensitivität}}{\text{Spezifität}}$.

Um eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit einer vorliegenden Erkrankung bei einem positiven Testergebnis machen zu können, wird die Prä- und Posttestwahrscheinlichkeit bestimmt. Die Prätestwahrscheinlichkeit entspricht der Krankheitsprävalenz innerhalb einer Population, bzw eines Studienkollektivs. Es wird zunächst die Vortest-Odds mit der Formel $\frac{\text{Vortestwahrscheinlichkeit}}{(1-\text{Vortestwahrscheinlichkeit})}$ berechnet. Die Nachtest-Odds wird berechnet, indem die Vortest-Odds mit der Likelihood Ratio (LR+/LR-) multipliziert wird. Die Posttestwahrscheinlichkeit bei einem positiven Testergebnis lässt sich mit $\frac{\text{Nachtest-Odds (LR+)}}{(\text{Nachtest-Odds (LR+)}+1)}$ und mit $\frac{\text{Nachtest-Odds (LR-)}}{(\text{Nachtest-Odds (LR-)}+1)}$ für ein negatives Testergebnis berechnen. Die Ergebnisse lassen sich graphisch für verschiedene Cut-Off Werte von einem Test darstellen.

Zur Darstellung der Testgüte wurde die Fläche unter der Kurve (AUC) berechnet. Sie liegt zwischen 0,5 und 1 und gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass zwei Personen (jeweils einer aus Kohorte und Kontrollgruppe) durch den Test richtig zugeordnet werden. Zur Erstellung wurde jeder, der erhobenen Messwerte des UBC® *Rapid Tests* als Cut-Off definiert und entsprechend die Sensitivität und Spezifität bestimmt. Diese Werte wurden in ein Diagramm übertragen und der optimale Cut-Off als Maximalwert aus Sensitivität-(1-Spezifität) definiert. Dieser lässt sich mit Hilfe des Youden-Index (J) und der Formel $J=\text{Sensitivität}+\text{Spezifität}-1$ berechnen. Man erhält für jeden Cut-Off einen Wert zwischen 0 und 1. Der höchste Wert definiert den statistisch besten Schwellenwert zur Unterscheidung zwischen zwei untersuchten Populationen.

5. Ergebnisse

5.1. Patienten

Im Rahmen dieser prospektiv angelegten Studie wurden insgesamt 237 der 244 Patienten eingeschlossen, an deren Urinproben der UBC® *Rapid* Test zur Detektion eines Harnblasenkarzinoms durchgeführt wurde. Als Ausschlusskriterien wurden entsprechend der Herstellerangaben unter anderem Zweittumore, ein Harnsteinleiden, ein obstruktives BPS (Benignes Prostata Syndrom) und schwere Infekte geltend gemacht. Zusätzlich erfolgten Blutentnahmen und es wurden zahlreiche anamnestiche Angaben erhoben.

Bei 129 Patienten wurde ein Harnblasenkarzinom nachgewiesen, 30 waren ohne aktuellen pathologischen Befund in der Tumornachsorge eines BC und 78 Patienten wurden als Kontrollgruppe ohne Hinweis auf ein Tumorgeschehen eingeschlossen. Für die Bewertung der Testergebnisse wurden die Patienten der Tumornachsorge gemeinsam mit der Kontrollgruppe den Harnblasentumorpatienten gegenübergestellt.

Das Geschlechterverhältnis lag zugunsten der männlichen Teilnehmer mit 181 (76,37%) zu 56 (23,63%). Betrachtet man das Geschlechterverhältnis innerhalb der einzelnen Gruppen, so verhält sich dieses entsprechend. Das Durchschnittsalter lag absolut bei 70,9 Jahren (SD \pm 11,78). Die geschlechterspezifischen Werte können der Tabelle 10 entnommen werden.

Als statistisch signifikante Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne Nachweis eines BCs zeigten sich neben der positiven Familienanamnese für Tumorerkrankungen ($p=0,035$) und die Angabe zum Raucherstatus (0,044) auch das Vorliegen einer Makrohämaturie ($p<0,001$). In absoluten Zahlen zeigt sich der Nachweis eines Risikoberufes mit einem Anteil von 27,7% beim Tumorkollektiv zu 14,8% eindrucklich, auch wenn hier keine Signifikanz erreicht wurde ($p = 0,116$).

Des Weiteren wurden das Alter, der BMI, Begleiterkrankungen, Blutwerte (Kreatinin, CRP, Leukozyten, Hämoglobin) und weiter Urinwerte (Proteinurie, Leukozyturie, Erythrozyturie, Glukosurie, Nitritnachweis, pH-Wert) untersucht. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen oder nennenswerte Abhängigkeiten von den Testergebnissen.

Tabelle 10: Übersicht des Patientenkollektivs nach Gruppen

	Kontrollgruppe	Patienten mit Nachweis eines Harnblasentumors	
N =	108	129	
Geschlecht	26	30	
weiblich (%)	(24,1)	(23,3)	
männlich (%)	82 (75,9)	99 (76,7)	p = 0,51
Alter in Jahren (SD)	69 (\pm 12)	72 (\pm 12)	p = 0,03
Alter nach Geschlecht weiblich (SD)	67 (\pm 12)	72 (\pm 15)	p = 0,192
männlich (SD)	70 (\pm 12)	73 (\pm 10)	p = 0,126
BMI (SD)	28,00 (\pm 5,3)	26,96 (\pm 3,7)	p = 0,296
Tumore in der Familienanamnese (%)	20 (18,5)	38 (29,5)	p = 0,035
Risikoberuf (%)	16 (14,8)	28 (21,7)	p = 0,116
Raucheranamnese	62 (57,4)	89 (69,0)	p = 0,044
Makrohämaturie (%)	29 (26,9)	74 (57,4)	p < 0,001
Dysurische Beschwerden (%)	6 (5,6)	7 (5,4)	p = 0,965

Von den 199 durchgeführten TUR Blase erhielten 139 der Patienten präoperativ HEXVIX. Bei 58 Patienten erfolgte die Untersuchung im Rahmen einer Tumorsachsorge und bei 48,27% (n=28) wurde ein Rezidiv festgestellt. Insgesamt liegt der Anteil an Rezidivtumoren zum Untersuchungszeitpunkt von den 129 Patienten mit Nachweis eines BC bei 21,7%.

Ein multilokulärer Tumorbefund wurde bei 44,2% (n=57) diagnostiziert, wobei absolut die häufigste Lokalisation die Seitenwand, gefolgt von dem Blasenboden/Blasenauslass und der Blasen hinterwand darstellt.

Das für das BC typische Auftreten von mehreren Läsionen konnte in 65,9% (n=85) der Fälle gezeigt werden. 84 Patienten wiesen mindestens einen Tumorbefund von 3 cm im Durchmesser und größer auf und bei 8 Patienten lag simultan ein Cis-Befund vor. Dieser wurde bei 2 LG und bei 6 HG Tumorpatienten diagnostiziert.

Die Verteilung nach den histopathologischen Befunden ist der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 11: Charakteristika der Harnblasentumorpatienten (n=129)

	N	(%)
Primärtumor	101	78,3
Singulärer Tumorbefund	44	34,1
2-8 Tumore	63	48,8
> 8 Tumore	22	17,1
Multilokulärer Befund	57	44,2
Größe > 3cm	84	65,1
Ta LG	72	55,8
T1 LG	6	4,6
Ta HG	5	3,9
T1 HG	21	16,3
T2 HG	25	19,4
Cis	8	6,2
Metastasiertes Stadium	1	0,8
LK-Metastase	4	3,1
WHO Grading 1	28	21,7
WHO Grading 2	59	45,7
WHO Grading 3	42	32,6

5.2. Visuelle Auswertung des UBC® *Rapid Tests*

Die Durchführung des UBC® *Rapid Tests* erfolgte als Schnelltest bei allen Studienpatienten (n=237). Die Auswertung ergab ein negatives Testergebnis bei 159 (67%), ein schwach positives Ergebnis bei 21 (8,9%) und ein eindeutig positives Ergebnis bei 57 (24,1%) Patienten. Es lässt sich ein $p < 0,001$ berechnen, unabhängig davon, ob die schwach positiven Testergebnisse den positiven oder negativen Testergebnissen zugeordnet werden.

Zur Bewertung der diagnostischen Güte wurden die Sensitivität, die Spezifität, der PPV und der NPV einmal für die eindeutig positiven Testergebnisse des UBC® *Rapid Tests* bestimmt und einmal gemeinsam mit den schwach positiven Testergebnissen. Die Werte können der Tabelle 12 entnommen werden. Die hohe Spezifität des eindeutig positiven Teststreifens von über 98% und der entsprechende positiv prädiktive Wert sinken unter Berücksichtigung der schwach positiven Testergebnisse bei einer leicht verbesserten Sensitivität.

In der Betrachtung des positiven Likelihoodquotienten erhält man nach Ausschluss der schwach positiven Ergebnisse einen LR+ von 22,21, welcher entscheidend über dem

LR+ von 6,20 liegt, wenn schwach positive und positive Ergebnisse zusammengefasst werden. Der negative Likelihoodquotient variiert nur leicht von 0,52 unter Berücksichtigung der schwach positiven Ergebnisse zu einem LR- von 0,59 ohne.

Tabelle 12: Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests*

	Eindeutig positives Testergebnis (n=57)	Schwach und eindeutig positives Testergebnis (n=78)
Sensitivität in %	41,98	52,67
Spezifität in %	98,11	91,51
PPV in %	96,49	88,46
NPV in %	57,78	61,01

Von den schwach positiven Testergebnissen (n=21) lagen bei 67% (n=14) tatsächlich maligne Harnblasentumore vor, bei 14% (n=3) gutartige Wucherungen und bei 19%(n=4) kein Befund oder es lagen keine weiteren Daten vor.

In der Subanalyse der Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests* wird deutlich, dass aggressive Tumorentitäten, diese entsprechen HG Tumoren und Cis, mit diesem Test besser erkannt werden. Bei 68,6% (35 von n=51) der HG Tumore lag ein eindeutig positives Testergebnis vor, bei 3,9% (2 von n=51) ein schwach positives. Im Vergleich hierzu zeigen nur 24,4% (19 von n=78) der LG Tumore ein eindeutig positives UBC® *Rapid Test*ergebnis. Bei einem Anteil von 15,4% (12 von n=78) werden 47 Patienten (60,3%) nicht entdeckt.

Ein falsch-negatives Testergebnis ist in der untersuchten Kohorte deutlich unwahrscheinlicher, wenn ein HG Tumor oder Cis vorliegt, im Vergleich zu den Ergebnissen bei einem LG Tumor.

Die entsprechende graphische Darstellung erfolgt in den Abbildungen 5 und 6.

Abbildung 5: Verteilung der Histologie (Grading 2004) entsprechend der Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® Rapid Tests

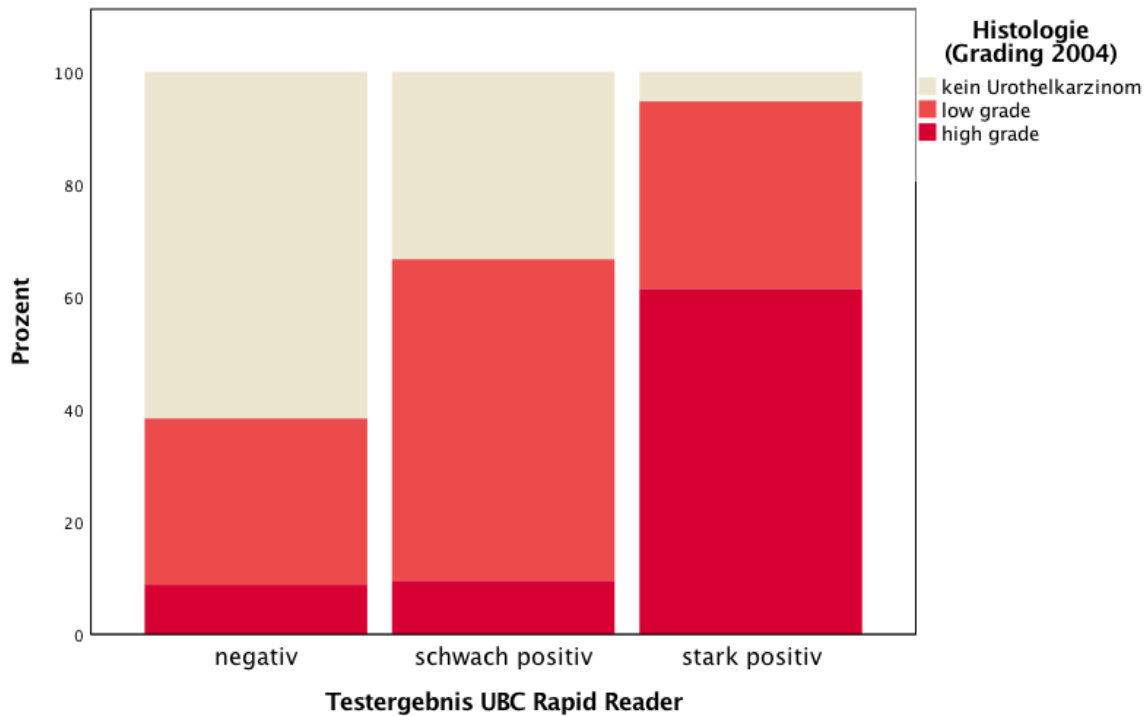
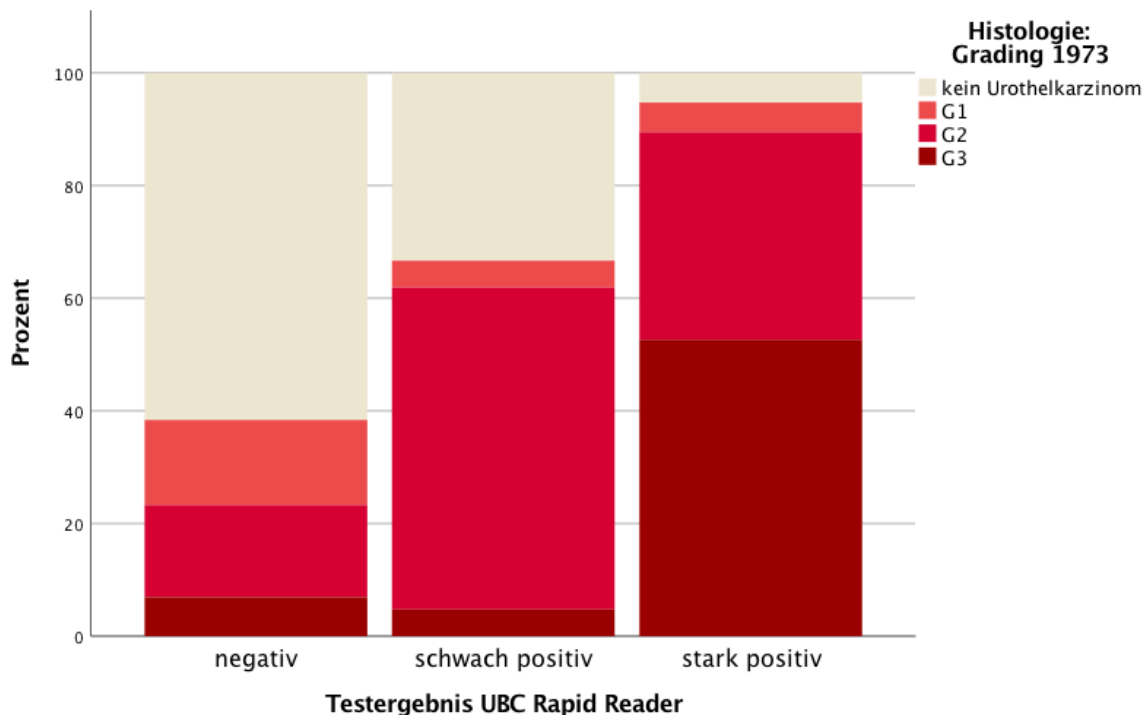
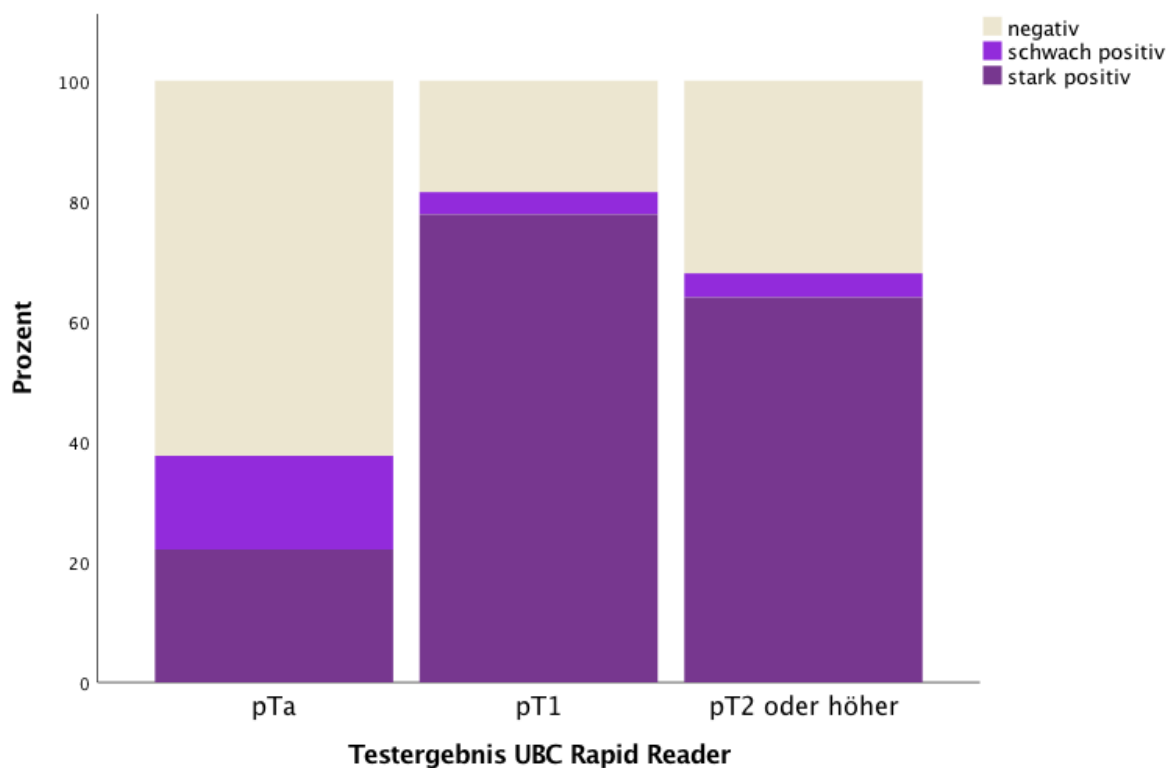


Abbildung 6: Verteilung des histologischen Befunds (Grading von 1973) entsprechend der Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® Rapid Tests



Betrachtet man die Testergebnisse entsprechend des nachgewiesenen T-Stadiums, so zeigt Abbildung 7, dass ebenfalls in dieser Analyse die fortgeschrittenen Tumorstadien zuverlässiger erkannt werden. Das Risiko für eine Metastasierung und einen Progress steigt ab pT1. Gleichzeitig zeigt der Test in der Detektion von pTa Tumoren falsch negative Ergebnisse in über 60%.

Abbildung 7: Verteilung der optischen Auswertung des UBC® Rapid Tests nach T-Stadium

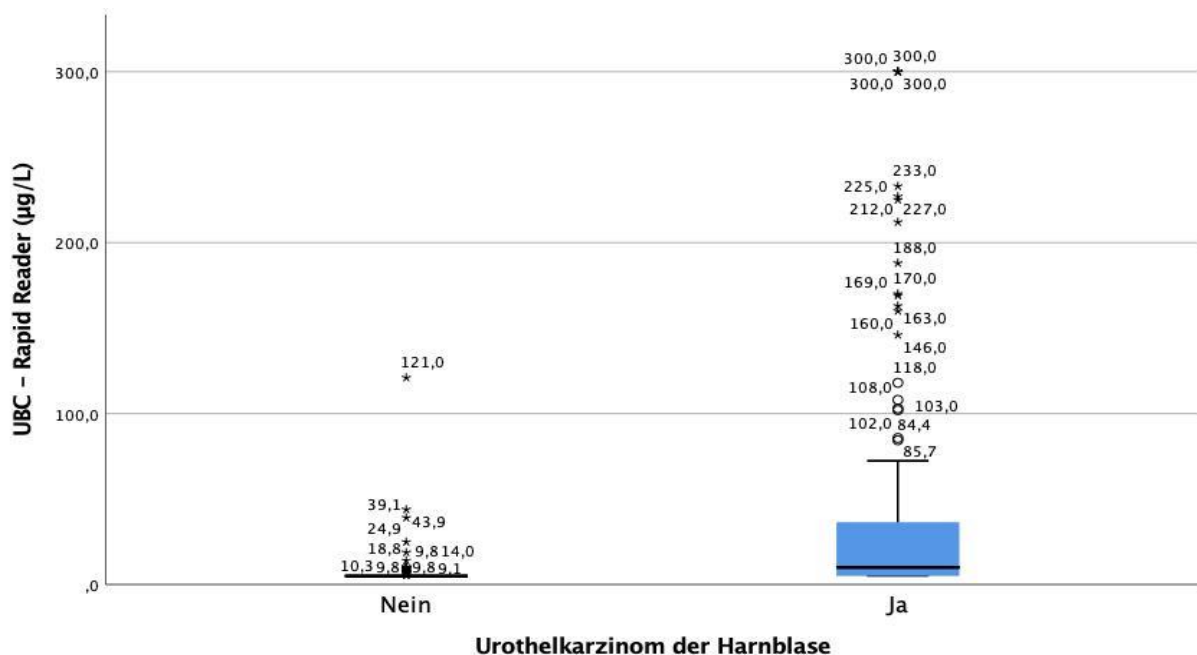


5.3. Quantitative Auswertung des UBC® Rapid Tests

Alle Testkassetten mit den Urinproben der Probanden wurden nach der optischen Auswertung mittels concile® Ω 100 Reader der quantitativen Analyse zugeführt.

Es konnte nachgewiesen werden, dass die Konzentrationen von Zytokeratinfragmenten im Urin der Tumorpatienten höher sind, als bei den Nicht-Tumorpatienten. Es wurde ein $p < 0.001$ berechnet. Die optometrisch ermittelten Werte lagen zwischen 5 und 300 µg/l, bei einem Mittelwert von 26,14 µg/l (SD ±54,5).

Abbildung 8: Ergebnisse des concile® Ω 100 Readers in der Studienpopulation (n=237)



Betrachtet man die Durchschnittswerte innerhalb des Tumorkollektivs (n=129) so ergibt sich ein Mittelwert von 41,57 µg/l (KI 95%: 29,47-53,67; SD ±69,45) im Vergleich zu der Kontrollgruppe (n=108) von 7,71 µg/l (KI 95%: 5,36 -10,06; SD ±12,32, p<0,000).

Vergleicht man die Patienten mit einem Primärtumor der Harnblase (n=101) mit denen, die ein Rezidiv (n=28) aufweisen, so zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Werten des concile® Ω 100 Readers. Die Mittelwerte liegen bei den nachgewiesenen Primärtumoren mit 42,70 µg/l (SD±7,18) leicht über dem Mittelwert der Patienten mit einem Rezidiv von 37,49 µg/l (SD±11,144). (p=0,25).

In der weiteren Untersuchung der Zytokeratinfragment-Konzentrationen entsprechend der histopathologischen Einteilung zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang von p<0,001 zwischen dem Ergebnis des concile® Ω 100 Readers und einer höhergradigen Zellentdifferenzierung. Der Mittelwert der HG Tumore (n=51) liegt mit 72,84 µg/l (SD±88,1) deutlich über dem Mittelwert der LG Tumore (n=78) mit 21,13 µg/l (SD±43,68). Doch auch dieser Wert hebt sich deutlich von dem Mittelwert von 7,71 µg/l (SD±12,32) der Patienten ohne Nachweis eines BCs ab (n=108).

Ein vergleichbar signifikantes Ergebnis ergibt die Betrachtung der

Zytokeratinfragmentkonzentrationen entsprechend dem Grading von 1973. Die absoluten Zahlen können Tabelle 13 entnommen werden. Eine graphische Darstellung erfolgt in Abbildungen 9 und 10.

Tabelle 13: Mittelwerte des UBC® Rapid Tests nach dem Grading von 1973

	N=	Mittelwert (µg/l)	Standardabweichung (±)
Kein BC	108	7,71	12,32
G1	28	7,98	8,44
G2	59	33,79	59,25
G3	42	74,87	89,73

Abbildung 9: Ergebnisse des concile® Ω 100 Readers nach der histologischen Einteilung von 2004 (Werte über 110 µg/l wurden aus Übersichtsgründen nicht dargestellt)

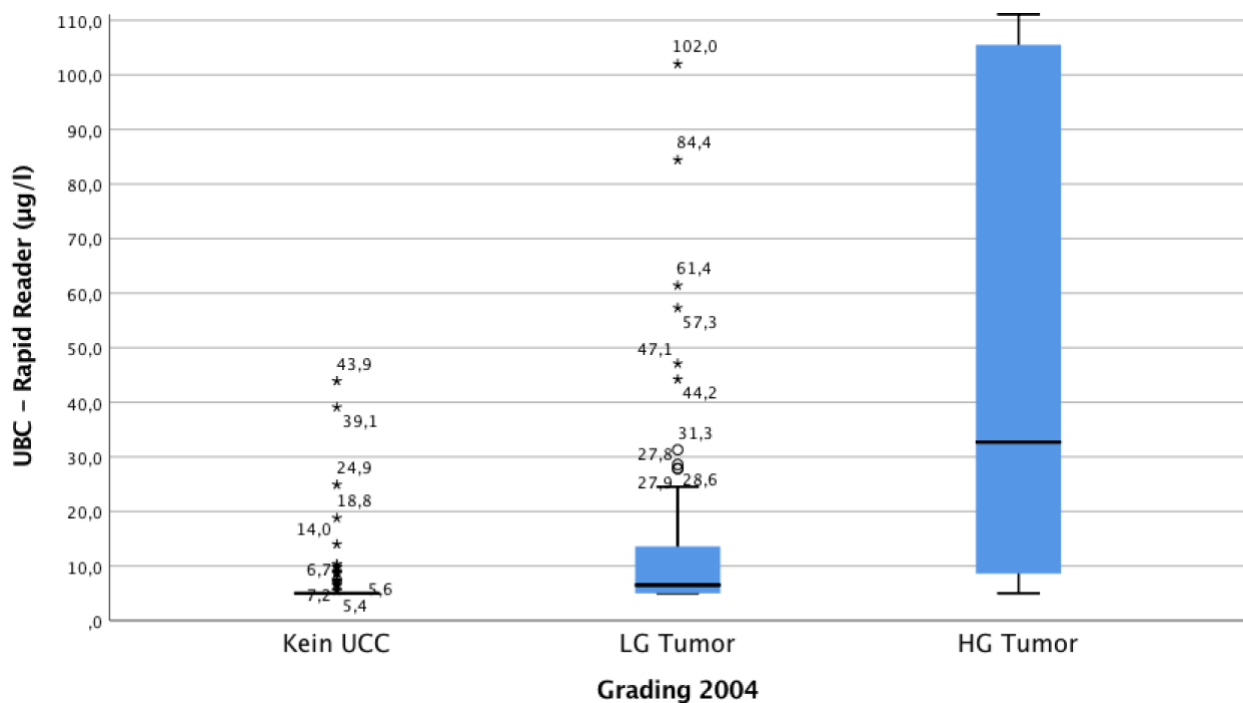
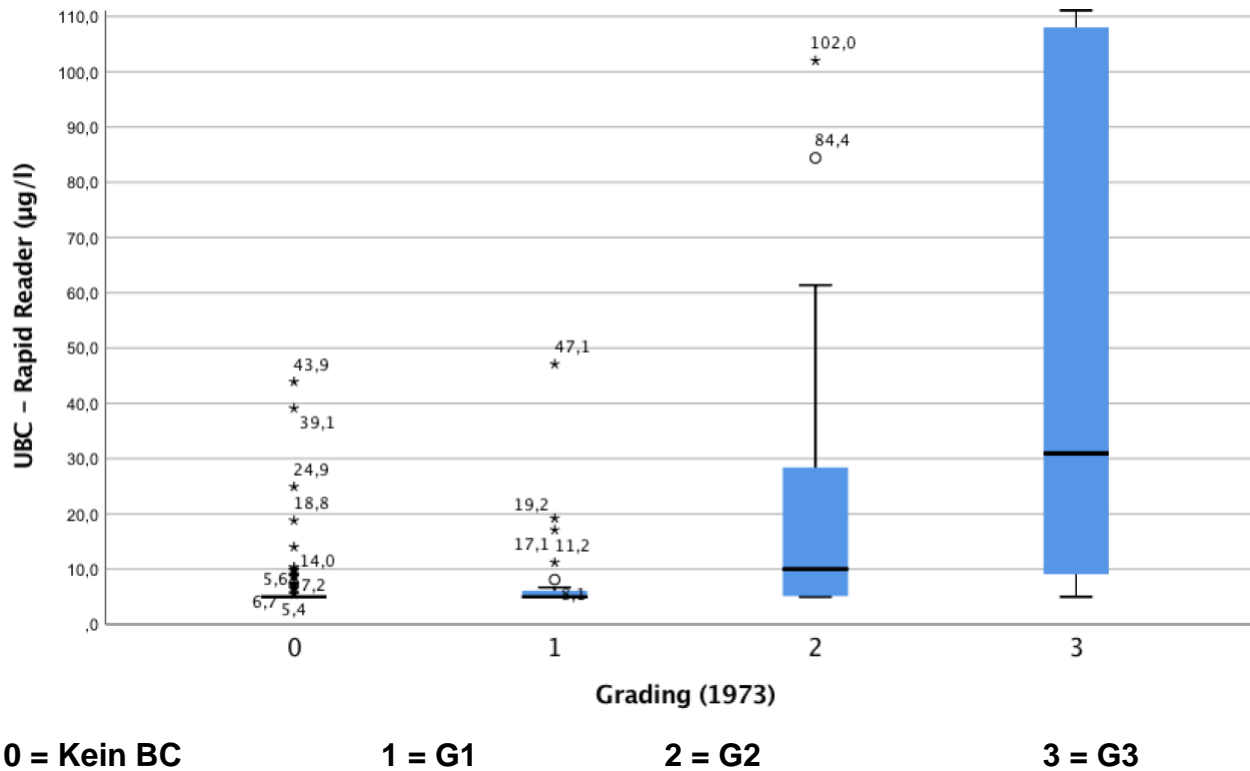
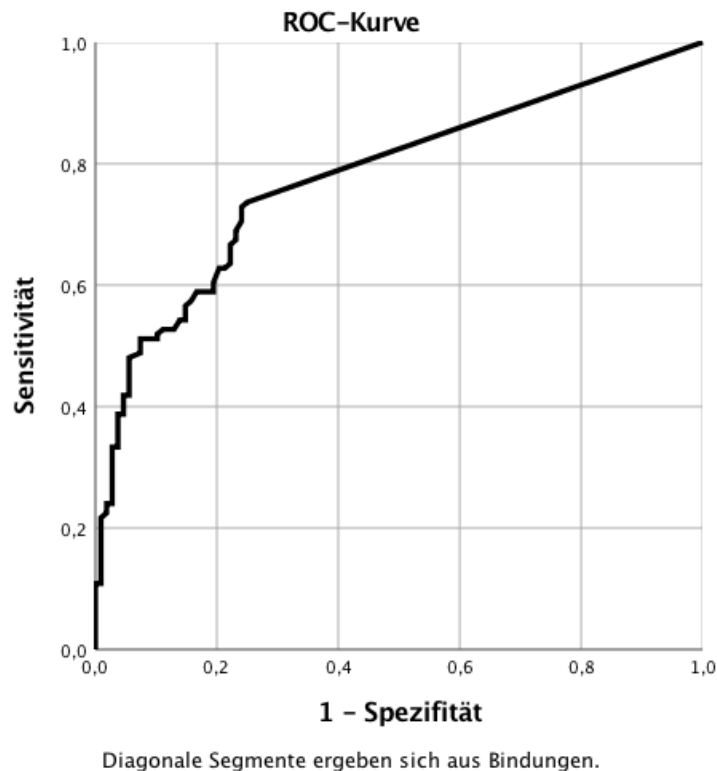


Abbildung 10: Ergebnisse des concile® Ω 100 Readers nach der histologischen Einteilung von 1973 (Werte über 110 µg/l werden aus Übersichtsgründen nicht dargestellt)



Für die Studienpopulation lässt sich eine AUC von 0,779 berechnen. Die graphische Darstellung erfolgt in Abbildung 11.

Abbildung 11: ROC-Kurve für den UBC® Rapid Test (n=237) mit einer AUC von 0,779



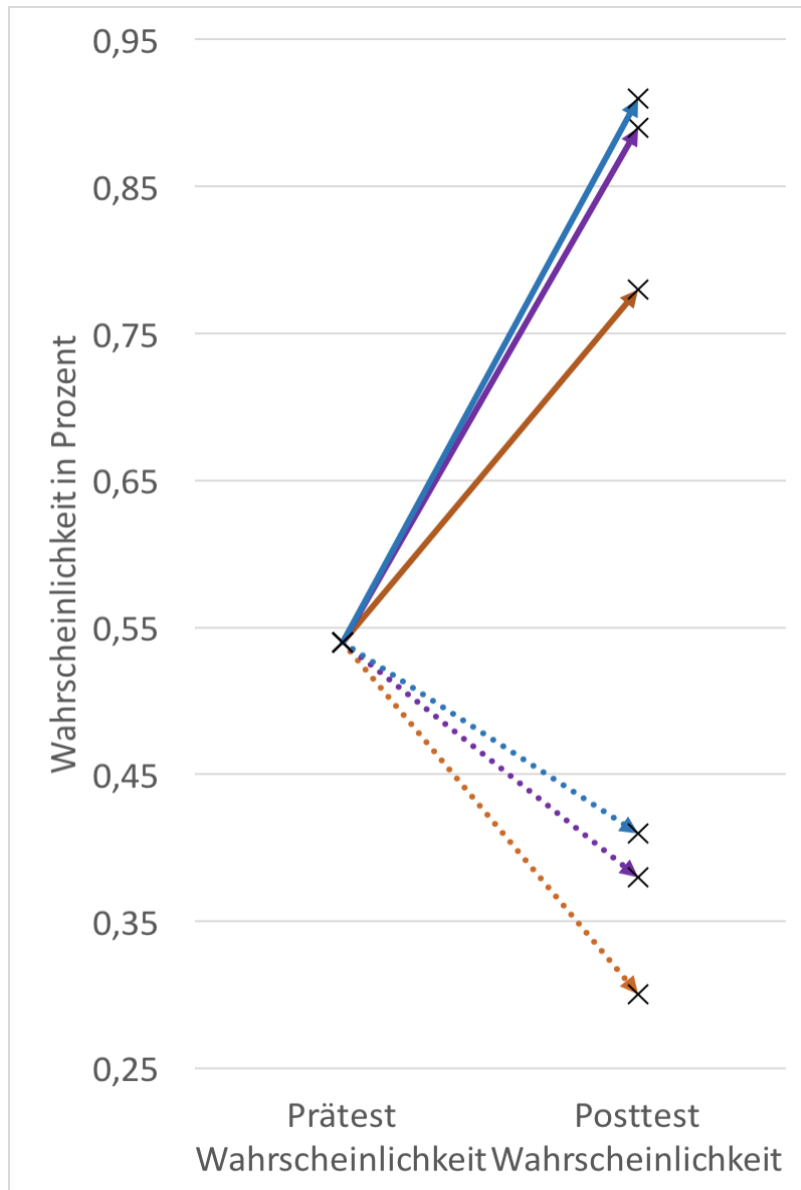
Aus der Studienpopulation wurde der statistisch optimale Cut-Off mittels Youden-Index berechnet und dieser liegt bei 5,15 µg/l ($J=0,488$). Unter Berücksichtigung dieses Wertes erhalten 120 Patienten ein positives und 117 ein negatives Testergebnis. Es werden folglich 94 der Tumorpatienten richtig diagnostiziert, während 35 Tumore übersehen werden. Es lässt sich eine Sensitivität von 72,9%, bei einer Spezifität von 75,9% berechnen (PPV: 78,3; NPV: 74,3).

Ein im klinischen Kontext optimaler Cut-Off sollte eine höhere Spezifität oder Sensitivität aufweisen. In einer absteigenden Tabelle der Youden-Indizes liegt der erste abweichende Cut-Off Wert bei 9,9 µg/l ($J=0,438$). Für diesen lässt sich eine Sensitivität von 51,2% bestimmen und eine Spezifität von 92,6%. Der PPV liegt bei 89,2% und der NPV bei 61,3%. Es werden folglich nur 51,2% der Tumorpatienten richtig diagnostiziert (66 von $n=129$), doch bei 89,2% (66 von $n=74$) der positiven Ergebnisse lag auch tatsächlich ein Tumorbefund vor.

Unter Anwendung des häufig in Publikationen verwendeten Cut-Offs von 14,5 µg/l ergibt sich für das untersuchte Patientenkollektiv eine Sensitivität von 41,9% und eine Spezifität von 95,4% (PPV: 91,5%; NPV: 57,9).

In der weiteren Untersuchung der Testergebnisse wurden die Prä- und Posttestwahrscheinlichkeiten entsprechend der oben genannten Cut-Offs bestimmt. Bei einer Prävalenz eines BC von 54% in dieser Studie, liegt die Prätestwahrscheinlichkeit bei 54%. Für den Cut-Off von 5,15 µg/l liegt die Wahrscheinlichkeit bei 78% einen vorliegenden Tumor mit einem positiven Testergebnis zu entdecken. Ein Patient mit einem negativen Testergebnis, hat jedoch weiterhin eine Wahrscheinlichkeit von 30% für einen übersehenen Tumor. Bei einem Cut-Off von 9,9 µg/l und 14,5 µg/l steigt jeweils die Posttestwahrscheinlichkeit bei einem positiven Testergebnis auf 89% und 91% an, doch haben auch 38%, bzw. 40% der negativen Testergebnisse einen Tumor. Eine graphische Darstellung erfolgt in Abbildung 12.

Abbildung 12: Prätest- Wahrscheinlichkeit und Posttest- Wahrscheinlichkeiten in Abhängigkeit des jeweils gewählten Cut-Offs des concile® Ω 100 Readers



- x— Cut-Off 5,15 µg/l (LR+) ···x··· Cut-Off 5,15 µg/l (LR-)
- x— Cut-Off 9,9 µg/l (LR+) ···x··· Cut-Off 9,9 µg/l (LR-)
- x— Cut-Off 14,5 µg/l (LR+) ···x··· Cut-Off 14,5 µg/l (LR-)

Zum Vergleich der Ergebnisse der optischen mit der quantitativen Auswertung des UBC® *Rapid Tests* wurden diese in Tabelle 14 einander gegenübergestellt. Es zeigt sich eine eindeutige Korrelation zwischen einem optisch positiven Testergebnis und einer erhöhten Fragmentkonzentration von Zytokeratinen 8 und 18. Als dynamischer Lateral Flow Assay lassen sich jedoch keine absoluten Grenzwerte ableiten.

Die ergänzende Diagnostik mittels concile® Ω 100 Readers ermöglicht jedoch absolute Zahlen und bietet damit einen zusätzlichen Informationsgehalt für die Risikostratifikation des betroffenen Patienten. Der gesetzte Cut-Off von 9,9 µg/l in der quantitativen Analyse deckt sich mit den Ergebnissen der qualitativen Auswertung. Es findet sich folglich kein Patient mit negativem Schnelltest, der nicht auch in der weiteren Auswertung als negativ beurteilt wird.

Tabelle 14: Qualitative und quantitative UBC® *Rapid* Testergebnisse im Vergleich

Optisches UBC® <i>Rapid</i> Testergebnis	Quantitatives UBC® <i>Rapid</i> Testergebnis (µg/l)
Negativ	5,0 – 9,8
Schwach positiv	8,7 – 24,9
Positiv	13,6 – 300,0

In der weiteren Analyse wurden die Patienten mit falsch-positiven und falsch-negativen UBC® *Rapid* Testergebnissen näher untersucht.

Ein positives Testergebnis (121 µg/l) wurde bei einem Patienten mit gutartiger Schleimhautwucherung intravesikal erhoben, der dysurische Beschwerden angegeben und nachweislich eine Nephrolithiasis mit Leukozyten und Erythrozyten im Urin hatte. Trotz erfüllter Ausschlusskriterien wurde dieser Patient bei sonographisch suspektem und entsprechend untersuchungspflichtigen Befund nicht von der Studie ausgeschlossen.

Eine Zytokeratinfragmentkonzentration von 43,9 µg/l ergab die Urinprobe bei einer Patientin mit multiplen gutartigen Raumforderungen der Harnblase. Die nächsthöheren Werte (39,1 µg/l; 25 µg/l) wurden bei Patienten in der Tumornachsorge gefunden, die jeweils eine sterile Urinkultur, jedoch histomorphologisch eindeutige Entzündungszeichen in der Harnblasenschleimhaut, bei Zustand nach BCG Therapie, aufwiesen.

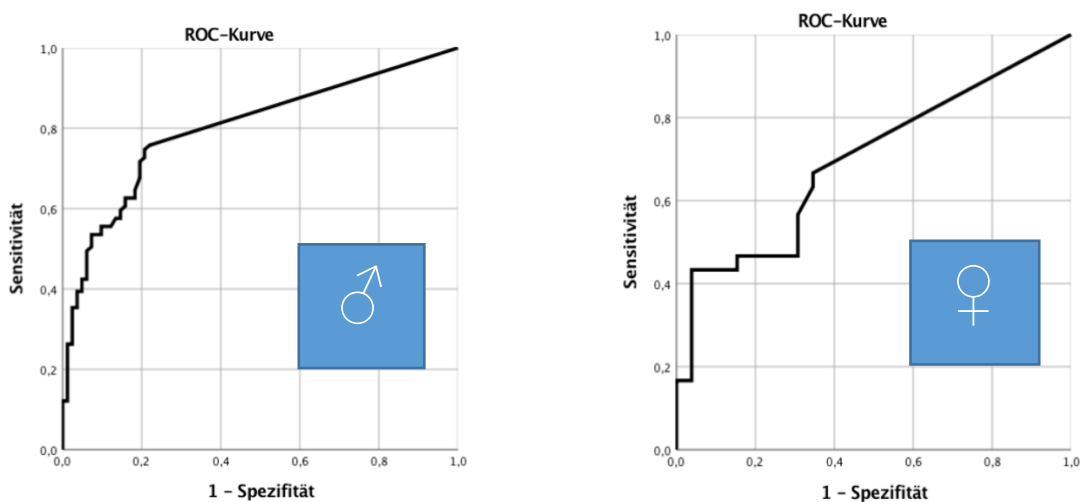
In der genaueren Betrachtung zeigt sich, dass selbst unter den als falsch-positiv gewerteten Testergebnissen viele Patienten mit klar abklärungswürdigen Befunden liegen. Folgerichtig könnten diese unter dem Aspekt der nötigen weiteren Abklärung als richtig positiv bewertet werden.

In der Analyse der falsch-negativen Ergebnissen kann kein Faktor identifiziert werden, der für das Übersehen eines Tumorgeschehens mit verantwortlich gemacht werden kann.

In der Subgruppenanalyse der Geschlechter fällt auf, dass die Ergebnisse des UBC® *Rapid Tests* beim männlichen Geschlecht (n=181) besser ausfallen. Hier lässt sich eine Sensitivität von 53,5% und eine Spezifität 92,7% berechnen, die beim weiblichen Geschlecht (n=56) nur Werte von 43,3% und 92,3% zeigen.

Eindrücklich zeigt sich dieser Sachverhalt in den ROC Kurven (Abbildung 13), die eine AUC von 0,800 bei Männern und nur eine AUC von 0,696 ergibt. Von den Frauen mit einem Harnblasenkarzinom wurden mehr als die Hälfte der Patientinnen nicht durch den Test detektiert.

Abbildung 13: ROC-Kurve UBC® *Rapid Test* bei Männern (n=181) mit einer AUC von 0,800 und bei Frauen (n=56) mit einer AUC von 0,696



In der näheren Betrachtung fällt jedoch auf, dass das Verhältnis der HG zu den LG Tumoren unterschiedlich über die beiden Geschlechter verteilt ist. 58,59% (58 von n=99) der Männer mit einem BC weisen einen LG Tumor auf, wohingegen dieser Anteil bei den Frauen bei 77,78% (20 von n=30) liegt. Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass auch der absolute Anteil der Frauen an der Studie mit 23,62% (n=56) gering ist.

5.4. UBC® *Rapid Test* nach Differenzierungsgrad des nachgewiesenen Blasentumors

In Anbetracht der prognostischen Bedeutung des Vorliegens eines Carcinoma in Situ wurden diese Fälle noch einmal separat bewertet. Hierfür wurden die optischen Ergebnisse der Auswertung des UBC® *Rapid Tests* herangezogen und unter

Berücksichtigung der schwach positiven Ergebnisse ergaben sich folgenden Resultate. Von den Patienten (n=8), bei denen ein Cis zusätzlich neben einem BC nachgewiesen werden konnte, wurden 7 von dem UBC® *Rapid* Test detektiert. Es ergibt sich hieraus eine Sensitivität von 87,5%, eine Spezifität von 69,0%, ein PPV von 8,97% und ein NPV von 99,37%.

Auch die isolierten Ergebnisse der High Grade Tumore (n=51) zeigen mit einer Sensitivität von 72,55% und einer Spezifität von 77,96% (PPV: 47,44%, NPV: 91,19%) deutlich, dass diese mit dem UBC® *Rapid* Tests detektiert werden können.

Betrachtet man die Ergebnisse unter Ausschluss der Low Grade Tumore, die im klinischen Kontext nicht als falsch positiv gewertet werden können, ergibt sich bei gleichbleibender Sensitivität eine Spezifität von 90,74% (PPV: 78,72%, NPV: 87,50%).

Die Analyse der Low Grade Tumor ergibt unter gleichen Voraussetzungen lediglich eine Sensitivität von 39,74%, bei einer Spezifität von 90,74% (PPV: 75,61%, NPV: 67,59%).

Eine optische Darstellung der Testergebnisse zeigen Abbildung 14-16. Es kann eindrucksvoll gezeigt werden, dass der Anteil an positiven Testergebnissen (inklusive der schwach positiven) proportional höher bei den HG Tumoren, im Vergleich zu den LG Tumoren, bzw. der Kontrollgruppe ist.

Abbildung 14: Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid* Tests bei Patienten mit nachgewiesenen HG Tumoren

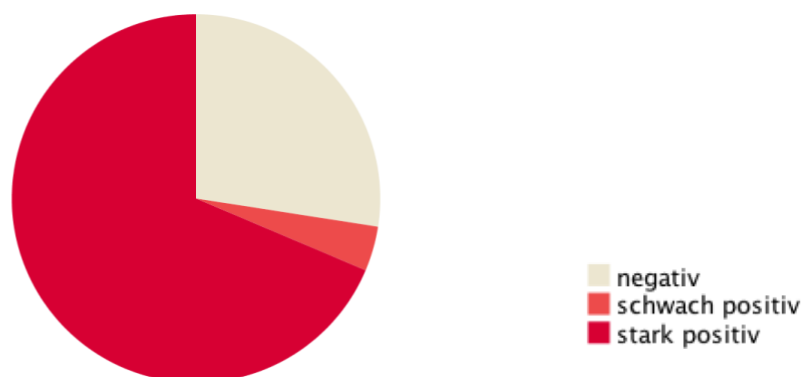


Abbildung 15: Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests* bei Patienten mit nachgewiesenen LG Tumoren



Abbildung 16: Ergebnisse der optischen Auswertung des UBC® *Rapid Tests* bei Patienten ohne nachgewiesenen Tumor



In der Subgruppenanalyse der HG Tumore zeigt die Anwendung des UBC® *Rapid Test* unter den bereits untersuchten Cut-Off Werten, die in Tabelle 15 dargestellten Ergebnisse. Mit zunehmendem Cut-Off steigt die Spezifität und die Sensitivität nimmt ab. Es ergeben sich Sensitivitäten bis zu 87,5% bei Patienten mit einem Cis, wobei dieser Wert unter Berücksichtigung der geringen Fallzahl betrachtet werden muss.

Auch die isoliert betrachteten Sensitivitäten der HG Tumore sind deutlich höher, als unter Berücksichtigung des Gesamtkollektivs.

Im klinischen Kontext sollte ein positives Testergebnis beispielsweise eines LG Tumors nicht als falsch positiv in die Auswertung eingehen, wenn HG Tumore oder Cis isoliert bewertet werden. Unter Berücksichtigung dieses Sachverhaltes können die HG Tumore und Cis gegen die Kontrollgruppe getestet werden. Hierdurch ergeben sich bei gleich

bleibender Sensitivität für die präsentierten Cut-Offs Spezifitäten von 75,9% (Cut-Off 5,15 µg/l), 92,6% (Cut-Off 9,9 µg/l), und 95,4% (Cut-Off 14,5 µg/l). Auf Grund der abweichenden Anzahl der in die Berechnung einfließenden Patientenzahlen ergeben sich differierenden Werte für den PPV und den NPV. Für die HG Tumore bedeutet dies beispielsweise bei einem Cut-Off von 9,9 µg/l ein PPV von 81,8% und ein NPV von 87,0%, sowie und für die Cis ein PPV von 46,7%, bei einem NPV von 99,0%.

Tabelle 15: Gütekriterien von HG und Cis Tumoren bei verschiedenen Cut-Offs des quantitativen UBC® *Rapid Tests*

	Sensitivität in % (95%KI)	Spezifität in % (95%KI)	PPV in %	NPV in %
Cut-Off 5,15 µg/l	72,9 (64,3 - 80,3)	75,9 (66,8 - 83,6)	78,3	74,3
HG Tumor (n= 51)	86,3 (73,7 - 94,3)	59,1 (51,7 - 66,3)	36,7	94,0
Cis (n= 8)	87,5 (47,4 - 99,7)	50,7 (44,0 - 57,3)	5,8	99,2
Cut-Off 9,9 µg/l	51,2 (42,2 - 60,1)	92,6 (85,9 - 96,8)	89,2	61,3
HG Tumor (n= 51)	70,6 (56,2 - 82,5)	79,6 (73,1 - 85,1)	48,7	90,8
Cis (n=8)	87,5 (47,4 - 99,7)	70,74 (64,4 - 76,5)	9,5	99,4
Cut-Off 14,5 µg/l	41,9 (33,2 - 50,8)	95,4 (89,5 - 98,5)	91,5	57,9
HG Tumor (n= 51)	68,6 (54,1 - 80,9)	78,0 (71,3 - 83,7)	47,4	91,2
Cis (n=8)	62,5 (24,5 - 91,5)	69,0 (62,6 - 74,9)	9,0	99,4

6. Diskussion

Tumormarker spielen in der Diagnostik, der Therapie, der Prognoseeinschätzung und der Nachsorge von Krebserkrankungen eine zentrale Rolle. Sie sollten nicht-invasiv sein und möglichst spezifisch Ergebnisse liefern, die unabhängig vom Untersucher reproduzierbar sind. Neben der einfachen Handhabung ist besonders die Kosteneffizienz für eine breite Anwendung ausschlaggebend.

Für zahlreiche Tumorentitäten haben sich bereits Marker durchgesetzt. Doch insbesondere für das häufig rezidivierende und potentiell weiter entdifferenzierende Urothelkarzinom läuft der internationale Wettkampf nach einem geeigneten Tumormarker weiter. Die ökonomische Relevanz ist für die Gesundheitssysteme durch die Therapie und die lebenslange Nachsorge hoch. Unter Berücksichtigung aller Kosten zwischen Diagnose und Tod stellt das Blasenkarzinom die kostenintensivste maligne Erkrankung dar.^{50,54}

Seit Jahrzehnten wird nach geeigneten Tumormarkern geforscht und es folgten bereits Zulassungen und der Einzug in die Leitlinien. Für die klinische Anwendung sind aktuell UBC[®], NMP22[®] und BTA Stat[®]/BTA TRAK[®] in der ergänzenden Diagnostik zugelassen. Doch kein Tumormarker konnte bis jetzt die nötige Sensitivität und Spezifität aufweisen, um die Zystoskopie als Goldstandard zur Detektion eines BC abzulösen.^{36,55} Die Zystoskopie ist als invasives Diagnostikum belastend für den Patienten. Die ebenfalls in der Leitlinie verankerte Urinzytologie ist aufwendig und stark untersucherabhängig. Die Urinzytologie weist eine hohe diagnostische Güte in der Detektion von High Grade Tumoren auf, doch bezogen auf die Gesamtheit der Harnblasenkarzinome variiert die Sensitivität je nach Studie zwischen 28 und 100%. Somit wertet die inhomogene Studienlage zur Sensitivität auch bei einer Spezifität von über 96% die Testgüte der zur Verfügung stehenden Biomarker mit zu vielen falsch negativen Untersuchungsergebnissen potentiell ab.^{34,35}

Neben den bereits genannten Aspekten liegt das Potential eines urinbasierten Tumormarkers in der zuverlässigen und frühen Detektion von hoch aggressiven und schnell fortschreitenden Tumorentitäten wie Cis und HG Tumoren. Dies hat einen großen Einfluss auf das Gesamtüberleben von betroffenen Patienten. ²⁸

6.1. Studienpopulation

Das untersuchte Studienkollektiv (n=237) zeigt in seinen untersuchten Gruppen vergleichbare Charakteristika in Alter, Geschlecht und Teilnehmerzahl. Es wurden auch keine signifikanten Unterschiede im BMI oder in den durchgeführten Urin- und Blutuntersuchungen gefunden.

Auf die Gesamtpopulation lassen sich die Ergebnisse nicht einfach übertragen, da über die Rekrutierung als urologischer Patient bereits eine Selektion erfolgt war.

Einige anerkannte Risikofaktoren für die Entstehung eines BCs wurden in der durchgeführten Studie mit untersucht.^{9,12,56,57} Das Rauchen, als größter Risikofaktor zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Patienten mit und ohne Tumornachweis (p=0,04). Vergleichbare Ergebnisse lieferte die positive familiäre Tumoranamnese. In absoluten Zahlen ist ebenfalls die Berufsanamnese auffällig gewesen, doch insgesamt ist die Aussagekraft einer Risikoanamnese bei einer vergleichbar kleinen Kohorte begrenzt.

6.2. Visuelle und quantitative Auswertung des UBC® *Rapid Tests*

Die Ergebnisse des UBC® *Rapid Tests* zeigen deutlich, dass dieser Test zwischen Patienten mit einem Blasen-tumor und gesunden Probanden unterscheiden kann. Steigende Fragmentkonzentrationen von Zytokeratin 8 und 18 korrelieren mit der Wahrscheinlichkeit für ein BC und einer aggressiven Tumorentität (HG und Cis) und diese lassen sich quantitativ und qualitativ mit dem UBC® *Rapid Test* nachweisen.

Die visuelle Darstellung ermöglicht zeitnah und untersucherunabhängig Ergebnisse, deren Sensitivität bei 41,9% (Spezifität 98,1%), bzw. bei 52,7% (Spezifität 91,5%) unter Einschluss der schwach positiven Ergebnisse liegt (p=>0,001). Mit einer LR+ von 22 ist der Test nach Ausschluss der schwach positiven Ergebnisse statistisch besser geeignet, einen Tumor zu detektieren, doch würden in der Praxis zu viele Tumore übersehen werden. Ein schwach positives Ergebnis sollte entsprechend als positives Testergebnis gewertet und eine weiterführende Diagnostik in Form einer Zystoskopie eingeleitet werden.

In der quantitativen Analyse mittels concile® Ω 100 Reader lassen sich Konzentrationen im Mikrogrammbereich darstellen, die wiederum mit zunehmenden Werten ein steigendes BC Risiko darstellt. Bereits 2013 wurde dieser Vorteil in der Risikoabschätzung im Vergleich zu einem dichotomisierten Testergebnis beschrieben.⁴⁵

Insgesamt ergab sich eine Sensitivität von 51,2% bei einer Spezifität von 92,6% bei einem Cut-Off von 9,9 µg/l. Dieser Wert entspricht neben seiner statistischen Relevanz laut Youden-Index gleichzeitig dem Grenzwert des qualitativen Tests unter Einschluss aller positiven und schwach positiven Ergebnisse. Ein positives UBC® *Rapid* Testergebnis wäre sowohl in der quantitativen, wie der qualitativen Auswertung positiv, bzw. negativ. Folglich würde unter alleiniger Anwendung des optischen Schnelltestes kein zusätzlicher Patient falsch negativ bewertet werden. Letztendlich bleibt anzumerken, dass dieser Wert willkürlich gewählt wurde, jedoch unter den gegebenen Voraussetzungen sinnvoll erscheint.

Die Spezifität übertraf deutlich viele vorangegangenen Studien, bei einer vergleichbar begrenzten Sensitivität. In einer Meta-Analyse wurden letztendlich 8 Studien von 1990-2017 zum UBC® *Rapid* Test untersucht und eine Sensitivität von 59% (95%KI, 55-62), eine Spezifität von 76% (95%KI, 72-80) bestimmt.⁴² Zu berücksichtigen ist hier zusätzlich, dass über die Jahre verschiedene Testversion des UBC® *Rapid* Tests verwendet wurden. Die erste Studie zur Bewertung des UBC® in der Diagnostik des Blasenkarzinoms wurde 1999 von Frau Sanchez-Carbayo durchgeführt.⁴⁰ Auch wenn die Ergebnisse vielversprechend ausfielen, war die damalige Testversion nicht ausreichend stabil und wurde 2004 vom Markt genommen. Eine verbesserte Version bei unveränderter Antikörperkonzentration wurde ab 2012 getestet und steht seitdem zusammen mit dem POCT-Gerät zum qualitativen und quantitativen Nachweis von pathologisch erhöhten Zytokeratinkonzentrationen zur Verfügung.^{41,46} Seit 2016 steht eine weitere vielversprechende Version zur optischen Auswertung (UBC® *Rapid* Visual POCT) zur Verfügung, die auf einer veränderten Antikörperkonzentration basiert. Die Ergebnisse der neuen Studien werden voraussichtlich die Bedeutung des UBC® *Rapid* Tests im ambulanten und klinischen Setting weiter definieren.

In der Analyse des optimalen Cut-Offs zur Detektion eines BCs wurden verschiedene Grenzwerte untersucht. Die höchste Sensitivität für die untersuchte Studienpopulation zeigte der statistisch optimale Cut-Off bei 5,15 µg/l. Dieser Wert lag nur knapp über der Nachweisgrenze des UBC® *Rapid* Test und auch wenn die Anwendung dieses Grenzwertes eine Sensitivität von 72,9% bot, ließ sich aus einer Spezifität von 75,9% nur begrenzt Konsequenzen für die weitere Behandlung ableiten. Die Belastung zusätzlicher Zystoskopien wäre hierdurch alleine nicht uneingeschränkt gerechtfertigt.

Einen Anstieg der Spezifität mit steigendem Cut-Off, bei absteigender Sensitivität hat

bereits Styrke et al gezeigt.⁵⁸ Entsprechend der absteigend sortierten Werte einer Youden-Index-Tabelle wurde in dieser Studie ein neuer Cut-Off mit einer hohen Spezifität bei akzeptabler Sensitivität festgelegt. Dieser Cut-Off markierte den ersten Wert, bei dem eine Sensitivität über 50% und die Spezifität noch über 90% lag. Der entsprechende Cut-Off lag bei 9,9 µg/l (Sensitivität 51,2%; Spezifität 92,6%) und wies einen ausreichenden Abstand zur Nachweisgrenze auf. Eine Sensitivität von unter 50% erscheint wenig sinnvoll. Ebenso scheint eine Spezifität von über 90% ausreichend, um weitere invasive Diagnostik zu rechtfertigen.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen das Potential der Anwendung des UBC® *Rapid Test* in seiner hohen Spezifität. Ein negatives Testergebnis schließt mit zu 92,6% Wahrscheinlichkeit das Vorliegen eines Harnblasentumors aus. Dieser Wert übertrifft die meisten der bisher in Studien publizierten Spezifitäten für die Urinzytologie und potentielle Tumormarker.^{36,42,46,58} Ein direkter Vergleich ist jedoch im Rahmen dieser Studie nicht erfolgt. Dieser Sachverhalt ist insbesondere in der Tumornachsorge und in der Entscheidung für eine weitere invasive und kostenintensivere Diagnostik bedeutsam.

Im Vergleich der Primärdiagnosen eines BC mit den Rezidivtumoren konnte kein statistisch relevanter Unterschied hinsichtlich der Testgüte des UBC® *Rapid Test* festgestellt werden. Doch wurde bereits für andere Tumormarker beschrieben, dass die Sensitivität in einer Screeningpopulation höher ist, als in der Tumornachsorge.^{59,60} Dies könnte laut Karamat an der kleineren Tumorgöße nach Primärresektion und der erhöhten Entdeckungsrate von LG Tumoren in der Tumornachsorge liegen.⁶⁰

Ein möglicher Erklärungsansatz für die hohe Sensitivität und Spezifität sind die Einschlusskriterien. Entsprechend der Herstellerempfehlung wurden in dieser Studie Patienten mit Nephrolithiasis, einem obstruktiven BPS und Nachweis eines Harnwegsinfektes ausgeschlossen, die jeweils falsch-positive Ergebnisse zeigen könnten.⁴¹ Diese Fehlerquellen wurden bereits 2015 von Todenhöfer beschrieben und auch Sánchez-Carbayo identifizierte die klinisch obstruktiv relevante BPH als ursächlich für 33% der falsch-positiven Testergebnisse in ihrer Studie.^{40,61}

In der Analyse der falsch-positiven Ergebnissen konnte gezeigt werden, dass häufig anderweitige pathologische Prozesse in der Harnblase ursächlich waren. Unter

Berücksichtigung, dass auch sonographisch gesicherte Raumforderungen und entzündliche Prozesse, wie zum Beispiel nach BCG Therapie einer weiteren Abklärung bedürfen, liefern diese Kasus Anhalt für den klinischen Nutzen des UBC® *Rapid* Tests, auch im Fall von falsch positiven Ergebnissen.

In der Subgruppenanalyse der Geschlechter konnte festgestellt werden, dass der UBC® *Rapid* Test eine verbesserte AUC bei Männern aufwies. Prozentual lag jedoch der Anteil an HG Tumoren bei den Männern höher, sodass diese Beobachtung nur die Effektivität des UBC® *Rapid* Test in der Diagnostik von HG Tumoren bestätigt. Eine geschlechterspezifische Sensitivität und Spezifität kann hiernach nicht abgeleitet werden, zumal der absolute Anteil der Frauen an der Studie nur bei 23,6% lag. Die Verteilung der diagnostizierten Tumorentitäten ist stark von dem untersuchten Tumorkollektiv abhängig und lässt bei einer verhältnismäßig kleinen Kohorte keine weiterführenden Rückschlüsse zu.

Zur Einordnung der gewonnenen Ergebnisse wurden die Sensitivitäten und Spezifitäten einiger vorangegangener Studien zum Vergleich herangezogen. Es konnte unter Anwendung der alten und aktuellen Testversionen gezeigt werden, dass der UBC® *Rapid* Test ein geeignetes Instrument in der ergänzenden Harnblasentumordiagnostik ist, doch die Testgüte nicht für einen alleinstehenden Einsatz ausreichend ist. Die folgende Tabelle umfasst die Ergebnisse der Studien, die sich in den letzten Jahren mit dem UBC® *Rapid* Test beschäftigt haben.

Tabelle 16: Auswahl veröffentlichter Studien zum UBC® *Rapid* Test 40,46,58,59,62,63,64,65

Autor	Jahr der Veröffentlichung	Anzahl eingeschlossener Patienten	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Cut-Off (µg/l)
Sánchez-Cabayo et al	1999	242	87	86	9,74
Mian et al.	2000	180	66	90	*
Hakenberg et al.	2004	181	64,4	63,6	12
Schröder et al	2004	115	35,6	75	*
Ritter et al.	2014	198	60,7	70,1	12
Pichler et al	2017	75	64,5	81,8	6,7
Styrke J et al.	2017	270	70,8	61,4	8,1
Ecke et al.	2018	530	53,3	93,8	10
Vorgelegte Arbeit	2019	237	51,2	92,6	9,9

*Ausschließliche Anwendung des optischen UBC® *Rapid* Tests

Zusammengefasst ermöglicht die optische Auswertung des UBC® *Rapid* Tests eine untersucherunabhängige und zeitnahe Risikoeinschätzung für das Vorliegen eines Harnblasentumors. Eine nachfolgende quantitative Auswertung mittels concile® Ω 100 Reader ermöglicht zusätzlich eine Information über die Wahrscheinlichkeit eines Tumors und einer vorliegenden aggressiven Tumorentität (HG und Cis) mit steigenden absoluten Werten.

6.3. UBC® *Rapid* Test nach Differenzierungsgrad des nachgewiesenen Blasentumors

Für die Prognose eines nachgewiesenen Urothelkarzinoms der Harnblase ist neben dem T-Stadium insbesondere der histopathologische Befund ausschlaggebend.^{12,21} Das 3-Jahre-Progressionsrisiko steigt von 5 auf 50% bei Nachweis eines HG Tumors im Vergleich zu einem LG Tumor.²³ Ta HG Tumore besitzen ein vergleichbares Risiko für einen Progress oder tumorassozierten Tod des betroffenen Patienten, wie T1 Tumore.⁶⁶ Bereits 1976 konnte gezeigt werden, dass bei 40-83% der unbehandelten Patienten mit Nachweis eines Cis, das BC in ein muskelinvasives Tumorstadium übergeht.³⁰ Der Nachweis eines muskel-invasiven BCs führt ohne Behandlung in 85% der Fälle innerhalb

2 Jahre zum Tode.⁶⁷

Ein weiteres Problem liegt in der Unterschätzung des tatsächlich vorliegenden Tumorstadiums. In einer Studie der Mayo Clinic konnte gezeigt werden, dass nach Zystektomie bei T1 Tumoren (vor Erhalt der systematischen intravesikalen Therapieoption) bereits bei 78% der Patienten ein T2 Stadium vorlag und bei 61% ein extravasikales Tumorwachstum.⁶⁸ Auch spätere Studien belegen ein Risiko für ein Understaging zwischen 27 und 50%.⁶⁸

UBC® *Rapid* Test zeigt in der Gesamtstudienpopulation nur eine begrenzte Sensitivität von 53,2%, da 60,4% der nachgewiesenen Harnblasenkarzinome LG Tumore sind. Diese Entitäten machen entsprechend epidemiologischer Daten rund 75% der BC aus und führen auf Grund ihres geringen Entdifferenzierungsgrades nicht regelhaft zu einer erhöhten Zytokeratinfragmentkonzentration im Urin. Der UBC® *Rapid* Test ist mit einer Sensitivität für diese Tumore von 39,74%, folglich nicht in der Lage LG Tumore zuverlässig nachzuweisen.

Im Gegensatz hierzu stehen die Ergebnisse der aggressiven Harnblasenkarzinome, der HG Tumore und Cis. Ihr hohes Risiko für einen Progress und oder ein Rezidiv unterstreicht die Bedeutung einer zeitnahen und sicheren Diagnosestellung. Die Stärke des untersuchten UBC® *Rapid* Tests liegt in der hohen Sensitivität und Spezifität für Cis und HG Tumore. Mit einer Sensitivität von 70,6- 87,5%, einer Spezifität von 92,6% (70,7- 79,6%, unter Berücksichtigung der gesamten Studienpopulation) und einem NPV von 90,8- 99,4% wird der Zeitpunkt einer Diagnose und einer entsprechenden Therapieeinleitung deutlich vorgezogen. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Tumor bei einem positiven Testergebnis vorliegt ist in der untersuchten Studienkohorte sehr hoch und sollte unverzüglich eine weiterführende Diagnostik nach sich ziehen.

Diese Ergebnisse zeigen deutlich, dass das Potential des UBC® *Rapid* Tests in einem zielgerichteten Einsatz für aggressive Tumorentitäten liegt.

In der Bewertung der Cis Tumore muss berücksichtigt werden, dass diese innerhalb dieser Studie immer simultan mit einem Tumorbefund nachgewiesen wurden. Die Werte zeigen eine eindeutige Tendenz zu einer erhöhten Zytokeratinfragmentkonzentration, doch ist der Cis-Befund letztendlich nicht nachweisbar allein hierfür verantwortlich.

In einer ergänzenden Anwendung des UBC® *Rapid* Tests sollte die Detektionsrate deutlich verbessert werden, wodurch Folgekosten, Belastungen für den Patienten und die Wahrscheinlichkeit eines tumorassoziierten Todes verringert werden könnten.

6.4. Diagnostische und prognostische Wertigkeit des UBC® *Rapid Tests* im klinischen Kontext

Ein positives optisches Testergebnis des UBC® *Rapid Tests* korreliert signifikant mit der Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines Urothelkarzinoms der Harnblase. Auch die quantitative Auswertung des Tests zeigt einen eindeutigen Zusammenhang zwischen einer erhöhten Konzentration von Zytokeratinfragmenten 8 und 18 und dem Vorliegen eines BCs, sowie der Wahrscheinlichkeit für einen HG Tumor oder Cis. Dieser Test ist nachweislich in der Lage zwischen gesunden und an einem Harnblasentumor erkrankten Personen zu unterscheiden.

Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelte diagnostische Testgüte des UBC® *Rapid Tests* ist jedoch nicht ausreichend, um den aktuellen Goldstandard in der Diagnostik des BC zu ersetzen oder um als Screeninginstrument eingesetzt zu werden. Ein großes Potential in der Anwendung des UBC® *Rapid Tests* liegt jedoch in der Primär- und Rezidivdiagnostik von hochaggressiven Tumorentitäten (HG Tumore, Cis). Diese müssen möglichst früh und zuverlässig erkannt und komplett reseziert werden, um das Gesamtüberleben betroffener Patienten zu verlängern. Verbesserte Sensitivitäten im Vergleich zur Zytologie sind bereits beschrieben worden.⁶⁹ Aus diesem Grund sollte der Einsatz des UBC® *Rapid Tests* zusätzlich zu den gängigen Methoden angewendet werden und den Zeitpunkt einer Zystoskopie mitbestimmen.

Ein positives UBC® *Rapid Test*ergebnis in der Nachsorge von HG Tumoren und Cis korreliert mit hoher Wahrscheinlichkeit mit einem Rezidiv. Mit einer Spezifität von 92,6% könnte der UBC® *Rapid Test* in dem Nachsorgealgorithmus von HG Tumoren Anwendung finden. Eine zeitnahe Zystoskopie sollte bei einem positiven Testergebnis erfolgen, um ein Rezidiv frühestmöglich zu detektieren und einem Progress entgegenzuwirken. Denkbar wäre beispielsweise eine zusätzliche Anwendung zwischen den gängigen Nachsorgeuntersuchungen, um den Zeitpunkt der belastenden und kostenintensiven Zystoskopien mitzubestimmen und in der Gesamtzahl zu reduzieren. Diese Anwendungsmöglichkeit wäre primär im ambulanten Bereich nützlich.

Im klinischen Alltag wäre ein weiteres Anwendungsgebiet denkbar. Die Anwendung des untersuchten Tests könnte den Einsatz von HEXVIX, zur Detektion von HG Tumoren und Cis, insbesondere auch in der Tumornachsorge neu definieren. Ein standardisierter Einsatz bei Kosten von 642,93 € (Stand 05/2019) für die einmalige Anwendung von HEXVIX, ist aus ökonomischer Sicht nicht sinnvoll, zumal eine vorangegangene

Anwendung (innerhalb der letzten 6-10 Wochen) verfälschte Ergebnisse liefert.^{36,70,71} Laut Leitlinie soll der Einsatz neben multifokalem Tumor und HG Tumor in der Anamnese, bei Verdacht auf einen vorliegenden Cis-Befund erfolgen.^{36,70,71} Für die Anwendung von HEXVIX nach erfolgtem UBC® *Rapid* Test ergeben sich folgende mögliche zusätzliche Einsatzmöglichkeiten:

- 1.) Ein positives UBC® *Rapid* Testergebnis könnte alternativ oder zusätzlich zu einer positiven Urinzytologie eine Indikation zur HEXVIX-Anwendung darstellen, da es als Risiko für das Vorliegen eines HG Tumors oder Cis gewertet werden sollte.
- 2.) In der Tumornachsorge von HG Tumoren und Cis könnte ein positives Testergebnis den Anwendung für HEXVIX unabdingbar machen.
- 3.) In der Primärdiagnostik nach schmerzloser Makrohämaturie oder rezidivierenden dysurischen Beschwerden ohne Keimnachweis sollte die Anwendung von HEXVIX bei einem positiven UBC® *Rapid* Testergebnis, neben bekannten Indikationen erfolgen und dieses möglichst zeitnah, da die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines Cis höher ist.

Die Primärdaten dieser Arbeit waren Teil einer Multicenter Studie, die vergleichbare Ergebnisse für die jeweiligen Zentren, sowie in der Gesamtanalyse (n=530) ergaben.⁶⁵ Die Sensitivität und Spezifität lag im Gesamtkollektiv bei 53,3% vs. 51,2%, bzw. 93,8% vs. 92,6% (PPV: 90,2% vs 89,2%; NPV 65,2% vs. 61,3%). Diese Beobachtung unterstreicht die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse und das Potential des UBC® *Rapid* Tests für die praktische Anwendung, insbesondere für High Grade Tumore und Carcinoma in situ.

6.5 Limitierungen

In Bezug auf die Genauigkeit der erhobenen Daten muss erwähnt werden, dass nicht jeder Studienteilnehmer einer Zystoskopie unterworfen wurde. In die Kontrollgruppe wurden Patienten mit anderweitigen urologischen Beschwerden eingeschlossen. Ohne Symptome oder ein erhöhtes Risiko für ein BC, war die Indikation für eine invasive Zystoskopie bei diesen Patienten nicht gegeben.

Eine weitere Limitierung besteht darin, dass im Gegensatz zu einigen vorangegangenen Studien der untersuchte Tumormarker nicht dem etablierten Verfahren der Urinzytologie als Referenz gegenübergestellt wurde.⁴⁶ Dies erschwert die Vergleichbarkeit der gewonnenen Ergebnisse. Die Bewertung der Urinzytologie zeigt eine große Spannweite durch ihre Untersucherabhängigkeit, doch ist sie in der Leitlinie verankert.³⁶

Eine weitere Einschränkung zum Einsatz des UBC® *Rapid* Tests stellen potentielle Fehlerquellen für falsch-positive Ergebnisse dar. Besonders der Nachweis eines Harnwegsinfekts kann zu einer Erhöhung der UBC-Konzentrationen führen.⁶¹ Dies kann in zweierlei Hinsicht als Einschränkung gesehen werden. Zunächst handelt sich um ein verbreitetes Krankheitsbild (besonders bei Frauen, bei Trägern von Dauerkathetern und generell im Alter), weiterhin besteht eine Assoziation zwischen rezidivierenden Infekten und der Entstehung eines BCs.^{12,13, 61}

Der Nachweis von Cis ist in absoluten Zahlen selten, liegt meist simultan mit Tumoren anderer Graduierung vor und die repräsentative Anzahl von 8 Patienten mit Cis-Tumor in der vorliegenden Studienpopulation bestätigt dies. Die gewonnenen Ergebnisse dieser speziellen Patientengruppe bedürfen daher sicherlich einer Überprüfung in Studien mit größeren Fallzahlen.

Die in dieser Studie gezeigten Ergebnisse wurden nach Ausschluss von möglichen Fehlerquellen entsprechend der Herstellerangaben durchgeführt und an einem vorselektierten urologischen Patientenkollektiv angewandt, sodass eine Übertragung auf die Gesamtpopulation nicht uneingeschränkt möglich ist.

Das Testergebnis muss folglich im klinischen Gesamtkontext beurteilt werden.

7. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Studie wurden 237 urologische Patienten eingeschlossen, um den UBC® *Rapid* Test, der Zytokeratinfragmente 8 und 18 im Urin nachweist, in seiner Bedeutung als Tumormarker des Blasenkarzinoms zu evaluieren. Es konnte gezeigt werden, dass dieser als kostengünstiges und untersucherunabhängiges Instrument der Diagnostik zwischen Patienten mit und ohne Nachweis eines BC unterscheiden kann ($p < 0,001$). Als Lateral Flow Essay bietet der UBC® *Rapid* Test ein visuelles dichotomes Ergebnis, welches mittels concile® Ω 100 Readers bei gleicher Sensitivität weiter quantifiziert werden kann. Mit einer Sensitivität von 51,2% und einer Spezifität von 92,6% ist der UBC® *Rapid* Test als Screening Test nicht geeignet und birgt auch nicht das Potential die Zystoskopie als Goldstandard in der BC Diagnostik abzulösen^{36,37,42,46}.

In der Subanalyse der aggressiven Tumorentitäten (HG Tumoren und Cis), deren rechtzeitige Detektion besonders relevant für das Gesamtüberleben betroffener Patienten ist, konnte eine überzeugende Sensitivität bis zu 87.5% und eine Spezifität von 92,6% berechnet werden. In der quantitativen Auswertung des UBC® *Rapid* Tests korrelierte der Nachweis von steigenden Zytokeratinfragmentkonzentrationen im Urin mit einer zunehmenden Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer aggressiven Tumorentität. Insbesondere bei diesen Hochrisikopatienten und in deren Tumornachsorge könnte der UBC® *Rapid* Tests in der Terminierung der Nachsorgezystoskopien berücksichtigt werden, um Rezidive früher nachzuweisen.

Zusätzlich bietet der UBC® *Rapid* Test das Potential die Indikationsstellung für die Anwendung von Hexaminolevulinat zu ergänzen und einen zielgerichteten Einsatz ermöglichen.

Um die gewonnenen Ergebnisse zu bestätigen und das Potential für einen flächendeckenden Einsatz des UBC® *Rapid* Test in der Klinik und im ambulanten Bereich zu eruieren sind jedoch ergänzende Studien mit größeren Fallzahlen nötig.

8. Literaturverzeichnis

- 1) Hautmann R, Huland H, Mersdorf A, Kramer W, Jonas D. Urologie, Anatomie und Physiologie. Springer, Berlin, Heidelberg 2001;14-22.
- 2) Schünke M, Schulte E, Schuhmacher U. Prometheus Lernatlas der Anatomie-Hals und Innere Organe. Georg Thieme Verlag 2005;232-235.
- 3) Schünke M, Schulte E, Schuhmacher U. Prometheus Lernatlas der Anatomie-Hals und Innere Organe, Georg Thieme Verlag 2005;286-287.
- 4) Bolla SR, Jetti R. Histology, Bladder (updated 2019, Sept 20). In: Stat Pearls(Internet). Treasure Island (FL): StatPearls Publishing: 2019 Jan-., gefunden unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540963/> (aufgerufen am 23.10.2019).
- 5) Wu XR, Kong XP, Pellicer A, Kreibich G, Sun TT. Uroplakins in urothelial biology, function and disease. *Kidney Int.* 2009;75(11):1153-1165.
- 6) Institut für Anatomie und Zellbiologie II der Universität Gießen. Mephisto, Die Kurspräparate der Anatomie und Zellbiologie der Universität Gießen, Ureter Präparat 140, gefunden unter <https://www.mephisto-online.de/book/Ureter/140> (aufgerufen am 23.10.2019).
- 7) Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Inter J Cancer* 2018;144:1941-1953.
- 8) Burger M, Catto J, Dalbagni G, Barton Grossmann H, Herr H, Karakiewicz P, Kassouf W, Kiemeny L, La Vecchia C, Shariat S, Lotan. Epidemiology and risk factors of urothelium bladder cancer. *Eur. Urol.* 2012;234-241.
- 9) Freedmann ND, Silverman DT, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC. Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women. *JAMA* 2011;306(7):737-745.
- 10)Rehn L. Blasengeschwulste bei Fuchsin-Arbeitern. *Arch Klin Chir* 1895;50:588.
- 11)Bosetti C, Bofetta P, La Vecchia C. Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons and respiratory and urinary tract cancers: a quantitative review to 2005. *Ann Oncol.* 2007;18(3):431-46.
- 12)Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Harnblasenkarzinoms, Langversion 1.1, AWMF-Registrierungsnummer

- 032/0380L, 2016; 32-57, unter <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Harnblasenkarzinom.92.0.html> (Aufgerufen am 23.10.2019).
- 13) Kantor AF, Hartge P, Hoover RN, Narayana AS, Sullivan JW, Fraumeni JF. Urinary tract infection and risk of bladder cancer. *Am J Epidemiol.* 1984;119(4):510-5.
 - 14) Chaturvedi AK, Engels EA, Gilbert ES, Chen BE, Storm H, Lynch CF, Hal P, Langmark F, Pukkala E, Kaijser M, Andersson M, Fosså, Joensuu H, Boice JD, Kleinmann RA, Travis LB. SD Second cancers among 104,760 survivors of cervical cancer: evaluation of long-term risk. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99(21):1634-43.
 - 15) Salem HK, Mahfouz S. Changing patterns (age, incidence, and pathologic types) of schistosoma-associated bladder cancer in Egypt in the past decade. *Urology* 2012;79(2):379-83.
 - 16) Skeldon SC, Semotiuk K, Aronson M, Holter S, Gallinger S, Pollett A, Kuk C, van Rhijn B, Bostrom P, Cohen Z, Fleshner NE, Jewett MA, Hanna S, Shariat SF, Van Der Kwast TH, Evans A, Catto J, Bapat B, Zlotta AR. Patients with Lynch syndrome mismatch repair gene mutations are at higher risk for not only upper tract urothelial cancer but also bladder cancer. *Eur Urol.* 2013;63(2):379-85.
 - 17) Dudek AM, Grotenhuis AJ, Vermeulen SH, Kiemeneij LA, Verhaegh GW. Urinary bladder cancer susceptibility markers. What do we know about functional mechanisms? *Int J Mol Sci.* 2013;14(6):12346-66.
 - 18) Fletcher A, Choudhury A, Alam N. Metastatic Bladder Cancer: A Review of Current Management. *ISRN Urol.* 2011;545241.
 - 19) Klein EA, Lee CT, Wood DP. Bladder Cancer Diagnosis, Therapeutics and Management, Fig. 1.1. Humana Press c/o Springer Science+Business Media, LLC, 2010;6.
 - 20) Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Harnblasenkarzinoms, Langversion 1.1, AWMF-Registrierungsnummer 032/0380L, 2016; 60-1, unter <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Harnblasenkarzinom.92.0.html> (Aufgerufen am 23.20.2019).
 - 21) Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL, Ulbright TM, Reuter VE. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur Urol.* 2016;70(1):106-119.

- 22) Vögeli TA. WHO Klassifikation, gesehen unter <http://www.bladdercalculator.de/classification.php> (aufgerufen am 23.10.2019).
- 23) Campbell-Walsh Urology, Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, Peters CA, Part XIII, Benign and Malignant Bladder Disorders, Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer (Ta, T1, and CIS). Elsevier 2016;2207.
- 24) Droller MJ. Biological considerations in the assessment of urothelial cancer: a retrospective. *Urology* 2005;66(5):66-75.
- 25) Harnden P. A critical appraisal of the classification of urothelial tumours: time for a review of the evidence and a radical change? *BJU* 2007;99(4):723-5.
- 26) Degtyar P, Neulander E, Zirkin H, Yusim I, Doudevani A, Mermershtain W, Kaneti J, Manor E. Fluorescence in situ hybridization performed on exfoliated urothelial cells in patients with transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 2004;63(2):398-401.
- 27) Zabolotneva A, Zhavoronkov A, Garazha A, Roumiantsev S, Buzdin A. Characteristic patterns of microRNA expression in human bladder cancer. *Front Genet.* 2013;3:310.
- 28) Sylvester RJ, van der Meijden APM, Oosterlinck W, Witjes JA, Bouffieux C, Denis L, Newling DWW, and Kurth KH. Predicting Recurrence and Progression in Individual Patients with Stage Ta T1 Bladder Cancer Using EORTC Risk Tables: A Combined Analysis of 2596 Patients from Seven EORTC Trials. *Eur Urol.* 2006;49:466-477.
- 29) Ro J, Staerckel G, Ayala A. Cytologic and histologic features of superficial bladder cancer. *Urol Clin North Am.* 1992;19:435–453.
- 30) Althausen A, Prout G, Daly J. Non-invasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. *J Urol.* 1976;116(5):575-80.
- 31) Masood S, Sriprasad S, Palmer J, Mufti G. T1G3 bladder cancer--indications for early cystectomy. *Int Urol Nephrol.* 2004;36(1):41-4.
- 32) Millán-Rodríguez F, Chéchile-Toniolo G, Salvador-Bayarri J, Palou J, Vicente-Rodríguez J. Multivariate analysis of the prognostic factors of primary superficial bladder cancer. *J Urol.* 2000;163(1):73-8.
- 33) Manski, D. Harnblasenkarzinom: Klinik und Diagnose, unter https://www.urologielehrbuch.de/harnblasenkarzinom_03.html (aufgerufen am 23.10.2019).
- 34) Tetu B. Diagnosis of urothelial carcinoma from urine. *Mod. Pathol* 2009;22(2):53-9.

- 35) Raitanen MP, Aine R, Rintala E, Kallio J, Rajala P, Juusela H, Tammela TL, FinnBladder Group. Differences between local and review urinary cytology in diagnosis of bladder cancer. An interobserver multicenter analysis. *Eur Urol.* 2002;41(3):284-9.
- 36) Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Harnblasenkarzinoms, Langversion 1.1, AWMF-Registrierungsnummer 032/0380L, 2016; 77-106, unter <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Harnblasenkarzinom.92.0.html> (Aufgerufen am 23.10.2019).
- 37) Jocham D, Witjes F, Wagner S, Zeylemaker B, van Moorselaar J, Grimm M, Mutscher R, Popken G, König F, Knüchel R, Kurth K. Improved detection and treatment of bladder cancer using hexaminolevulinate imaging: a prospective, phase III multicenter study. *J Urol.* 2005;174(3):862-6.
- 38) Remzi M, Shariat S, Huebner W, Fajkovic H, Seitz C. Upper urinary tract urothelial carcinoma: what we have learned in the last four years. *Ther adv Urol.* 2011;3(2):69-80.
- 39) Liou L. Urothelial cancer biomarkers for detection and surveillance. *Urology* 2006;67:25-33.
- 40) Sánchez-Cabayo M, Herrero E, Megías J, Mira A, Soria F. Initial evaluation of the new urinary bladder cancer rapid test in the detection of transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 1999;54:656-661.
- 41) UBC® Rapid, REF 10-038, Gebrauchsanweisung deutsch. IDL Biotech AB 2012; über www.idl.se.
- 42) Lu P, Cui J, Chen K, Lu Q, Zhang J, Tao J, Han Z, Zhang w, Song R, Gu M.. Diagnostic accuracy of the UBC Rapid Test for bladder cancer; A meta-analysis. *Oncol Lett* 2018;16(3):3770-3778.
- 43) Southgate J, Harnden P, Trejdosiewicz LK. Cytokeratin expression patterns in normal and malignant urothelium: a review of the biological and diagnostic implications. *Histol Histopathol.* 1999;14(2):657-64.
- 44) Hodges KB, Lopez-Beltran A, Davidson DD, Montironi R, Cheng L. Urothelial dysplasia and other flat lesions of the urinary bladder: clinicopathologic and molecular features. *Hum Pathol.* 2010;41(2):155-62.
- 45) Lokeshwar VB, Habuchi T, Grossmann HB, Murphy WM, Hautmann SH, Hemstreet GP 3rd, Bono AV, Getzenberg RH, Goebell P, Schmitz-Dräger BJ,

- Schalken JA, Fradet Y, Marberger M, Messing E, Droller MJ. Bladder tumor markers beyond cytology: International Consensus Panel on bladder tumor markers. *Urology* 2005;66(6:1):35-63.
- 46) Ritter R, Hannenlotter J, Kühns U, Hofmann U, Aufderklamm S, Blutbacher P, Deja A, Hohneder A, Gerber V, Gakis G, Stenzl A, Schwentner C, Todenhöfer T. Evaluation of a new quantitative point-of-care test platform for urine-based detection of bladder cancer. *Urol Oncol.* 2014;32(3):337-44.
- 47) Witjes JA, Compérat E, Cowan NC, De Santis M, Gakis G, Lebrét T, van der Heijden AG, Ribal MJ. EAU Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer. Limited Update 2016, unter <https://uroweb.org/guideline/bladder-cancer-muscle-invasive-and-metastatic/> (aufgerufen 23.10.2019).
- 48) Babjuk M, Burger M, Compérat E, Gontero P, Mostafid AH, Palou J, van Rhijn BWG, M. Rouprêt, S.F. Shariat, R. Sylvester, R. Zigeuner. EAU Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer. Edn. presented at EAU Annual Congress in Barcelona 2019; 978-94-92671-04-2.
- 49) Hasui Y, Osada Y, Kitada S, Nishi S. Significance of invasion to the muscularis mucosae on the progression of superficial bladder cancer. *Urology* 1994;43(6):782-6.
- 50) Leal J, Luengo-Fernandez R, Sullivan R, Witjes JA. Economic burden of bladder cancer across the European Union. *Eur Urol.* 2016;69:438-447.
- 51) Campbell-Walsh Urology, Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, Peters CA, Part XIII, Benign and Malignant Bladder Disorders, Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer (Ta, T1, and CIS). Elsevier 2016; 2219.
- 52) Gebrauchsanweisung concile® Ω 100-Version 2.0_Deutsch. concile GmbH 2013: über www.concile.de.
- 53) Ana-Maria Šimundić, AM. Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. *EJIFCC* 2009;19(4):203-211.
- 54) Botteman M, Pashos C, Redaelli A, Laskin B, Hauser R. The health economics of bladder cancer: a comprehensive review of the published literature. *Pharmacoeconomics* 2003;21(18):1315-30.
- 55) Blick CG, Nazir SA, Mallett S, Turney BW, Onwu NN, Roberts IS, Crew JP, Cowan NC. Evaluation of diagnostic strategies for bladder cancer using computed tomography (CT) urography, flexible cystoscopy and voided urine cytology: results for 778 patients from a hospital haematuria clinic. *BJU Int.* 2012;110(1):84-94.

- 56) Brennan P, Bogillot O, Cordier S, Greiser E, Schill W, Vineis P, Lopez-Abente G, Tzonou A, Chang-Claude J, Bolm-Audorff U, Jöckel KH, Donato F, Serra C, Wahrendorf J, Hours M, T'Mannetje A, Kogevinas M, Boffetta P. Cigarette smoking and bladder cancer in men : a pooled analysis of 11 case-control studies. *Int J Cancer* 2000 ;86(2) :289-94.
- 57) Brennan P, Bogillot O, Greiser E, Chang-Claude J, Wahrendorf J, Cordier S, Jöckel KH, Lopez-Abente G, Tzonou A, Vineis P, Donato F, Hours M, Serra C, Bolm-Audorff, U Schill W, Kogevinas M, Boffetta P. The contribution of cigarette smoking to bladder cancer in women (pooled european data). *Cancer Causes Control* 2001 ;12(5) :411-7.
- 58) Styrke J, Henriksson H, Ljungberg B, Hasan M, Silfverberg I, Einarsson R, Malmström P, Sherif A. Evaluation of the diagnostic accuracy of UBC® Rapid in bladder cancer: a Swedish multicenter study. *Scand J Urol*. 2017;51(4):293-300.
- 59) Mian C, Lodde M, Haitel A, Egarter Vigl E, Marberger M, Pycha A. Comparison of two qualitative assays, the UBC rapid test and BTA stat test, in the diagnosis of urothelial cell carcinoma of the bladder. *Urology* 2000;56:228-31.
- 60) Karamat A, Vlahou A, Taylor J, Hudson M, Pesch B, Ingersoll M, Todenhöfer T, van Rhijn B, Kassouf W, Barton Grossmann H, Behrens T, Chandra A, Goebell P, Palou J, Sánchez-Cabayo M, Schmitz-Dräger B. Considerations on the use of urine markers in the management of patients with high-grade non-muscle-invasive bladder cancer. *Urol Oncol*. 2014;32:1069-77.
- 61) Todenhöfer T, Hennenlotter J, Tews V, Gakis G, Aufderklamm S, Kuehs U, Stenzel U, Schwendner C. Impact of different grades of microscopic hematuria on the performance of urine-based markers for the detection of urothelial carcinoma. *Urol Oncol*. 2013;31(7):1148-54.
- 62) Hakenberg OW, Fuessel S, Richter K, Oelschlaeger S, Rathert P, Meye A, 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):1121-6.
- 63) Schröder GL, Lorenzo-Gomez MF, Hautmann SH, Friedrich MG, Ekici S, Huland H, Lokeshwar. A side by side comparison of cytology and biomarkers for bladder cancer detection. *J Urol*. 2004;172(3):1123-6.
- 64) Pichler R, Tulchiner G, Fritz J, Schaefer G, Horninger W, Heidegger I. Urinary UBC Rapid and NMP22 Test for bladder Cancer Surveillance in Comparison to Urinary

- Cytology: Results from a Prospective Single-Center Study. *Int J Med Sci.* 2017;14(9):811-819.
- 65) Ecke TH, Weiß S, Stephan C, Hallmann S, Arndt C, Barski D, Otto T, Gerullis H. UBC®Rapid Test- A Urinary Point-of-Care (POC) Assay for Diagnosis of Bladder Cancer with focus on Non-Muscle Invasive High Grade Tumors: Results of a Multicenter Study. *Int J Mol Sci.* 2018;12(12):3841.
- 66) Herr HW. Tumor progression and survival of patients with high grade, noninvasive papillary (TaG3) bladder tumors: 15-year outcome. *J Urol* 2000;163(1):60-1.
- 67) Prout G, Marshall V. The prognosis with untreated bladder tumors. *Cancer* 1956;(3):551-8.
- 68) Campbell-Walsh Urology, Wein A J, Kavoussi LR, Partin AW, Peters CA, Part XIII, Benign and Malignant Bladder Disorders. Elsevier 2016;2208.
- 69) Ecke TH, Weiß S, Stephan C, Hallmann S, Barski D, Otto T, Gerullis H. UBC® Rapid Test for detection of carcinoma in situ for bladder cancer. *Tumour Biol.* 2017;39(5):1010428317701624.
- 70) Geavlete B, Multescu R, Georgescu D, Jecu M, Stanecu F, Geavlete P. Treatment changes and long-term recurrence rates after hexaminolevulinate (HAL) fluorescence cystoscopy: does it really make a difference in patients with non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC) ? *BJU Int.* 2012 ;109(4) :549-56.
- 71) Kausch I, Sommerauer M, Montorsi F, Stenzel A, Jacqmin D, Jichlinski P, Jocham D, Ziegler A, Vontheim R. Photodynamic diagnosis in non-muscle-invasive bladder cancer: a systematic review and cumulative analysis of prospective studies. *Eur Urol.* 2010;57(4):595-606.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Sarah Katharina Assiba Weiß, geborene Gützlaff, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Visuelle und quantitative Auswertung des UBC® *Rapid* Tests mittels concile® Ω100 Reader bei Patienten mit Urothelkarzinom der Harnblase“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE - www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum 20.10.2019

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Sarah Katharina Assiba Weiß hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

Ecke TH, Weiß S, Stephan C, Hallmann S, Barski D, Otto T, Gerullis H. UBC® Rapid Test for detection of carcinoma in situ for bladder cancer. Tumor Biol. 2017;39(5):1010428317701624.

Beitrag:

Datenerhebung, Durchführung der Untersuchungen, Aufbereitung und Auswertung der Ergebnisse, Überarbeitung des Manuskripts.

Publikation 2:

Ecke TH, Weiß S, Stephan C, Hallmann S, Arndt C, Barski D, Otto T, Gerullis H. UBC® Rapid Test—A Urinary Point-of-Care (POC) Assay for Diagnosis of Bladder Cancer with a focus on Non-Muscle Invasive High-Grade Tumors: Results of a Multicenter-Study. Int. J. Mol. Sci. 2018;19(12)3841.

Beitrag:

Datenerhebung, Durchführung der Untersuchungen, Aufbereitung und Auswertung der Ergebnisse, Anteile Diskussion, Überarbeitung des Manuskripts.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift der Doktorandin

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

- 1.) Ecke TH, Weiß S, Stephan C, Hallmann S, Barski D, Otto T, Gerullis H. UBC® Rapid Test for detection of carcinoma in situ for bladder cancer. Tumor Biology 2017; 39(5): 1010428317701624.
- 2.) Ecke TH, Weiß S, Stephan C, Hallmann S, Arndt C, Barski D, Otto T, Gerullis H., UBC® Rapid Test—A Urinary Point-of-Care (POC) Assay for Diagnosis of Bladder Cancer with a focus on Non-Muscle Invasive High-Grade Tumors: Results of a Multicenter-Study, International Journal for Molecular Science, 2018; 19(12)3841.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich in der Ausarbeitung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein größter Dank gebührt Herrn PD Dr. med. Thorsten Ecke für die Überlassung des Dissertationsthemas, die zuverlässige Betreuung und das unendliche Verständnis für die Verzögerungen in der Ausarbeitung.

Ein großer Dank geht an meinen Ehemann, der mir immer wieder den Rücken freigehalten hat und mich mit sehr viel Geduld der Statistik näher gebracht hat. Von ganzem Herzen danke ich ihm, meinen Kindern, Geschwistern und Eltern für die bedingungslose Unterstützung und das mir entgegen gebrachte Vertrauen in die Fertigstellung dieser Arbeit.

Zum Abschluss möchte ich noch einmal Marianne N. für ihre geduldige Lektorentätigkeit hervorheben. Vielen Dank.