

Aus der Klinik für Urologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

TATI und NMP 22 als Tumormarker des oberflächlichen
Harnblasenkarzinoms

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Katja Stier

aus Zehdenick

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. St. Weikert
 2. Priv.-Doz. Dr. med. A. Schmittel
 3. Prof. Dr. med. M. Schrader

Datum der Promotion: 05.06.2011

	-Seite-	
I. Inhaltsverzeichnis	3	
II. Abkürzungsverzeichnis	5	
1. Einleitung		7
1.1 Epidemiologie	7	
1.2 Ätiologie	8	
1.3 Pathologie und Pathogenese des Urothelkarzinoms	10	
1.4 klinische Einteilung, Stadien und Differenzierungsgrad	14	
1.5 Diagnostik des Urothelkarzinoms	16	
1.6 Tumormarker und nicht-invasive Blasentumortests des Urothelkarzinoms	17	
1.6.1 TATI	19	
1.6.1.1 TATI im Serum von Blasentumorpatienten	20	
1.6.1.2 TATI im Urin von Blasentumorpatienten	21	
1.6.2 NMP	22	
1.6.2.1 NMP 22 bei Blasentumorpatienten	23	
2. Zielstellung		26
3. Material und Methoden		27
3.1 Patientenauswahl		27
3.2 Probensammlung und Aufbereitung		28
3.2.1 Art der Proben		28
3.2.2 TATI		29
3.2.3 NMP 22		29
3.3 TATI Testverfahren		30
3.3.1 Prinzip des SPECTRIA® TATI RIA		30
3.3.2 Vorbereitung der Komponenten des SPECTRIA TATI RIA und der Proben		30
3.3.3 Durchführung des Radio-Immunoassays		30
3.3.4 Ergebnisberechnung		32

3.4 NMP 22 Testverfahren	32
3.4.1 Prinzip des Matritech® NMP 22 Enzym-Immunoassays	
32 3.4.2 Vorbereitung der Komponenten des Matritech® NMP 22	
Enzym-Immunoassays und der Proben	33
3.4.3 Durchführung des Enzym-Immunoassays	
33	
3.4.4 Ergebnisberechnung	34
3.5 Statistik	35
4. Ergebnisse	36
4.1 TATI in Seren von Blasentumorpatienten	38
4.2 TATI im Urin von Blasentumorpatienten	45
4.3 NMP 22 im Urin von Blasentumorpatienten	53
4.4 Zytologie der Blasentumorpatienten	61
4.5 Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Tumormarker	67
5. Diskussion	68
5.1 TATI im Serum als Tumormarker des Harnblasenkarzinoms	69
5.2 TATI im Urin als Tumormarker des Harnblasenkarzinoms	
71	
5.3 NMP 22 als Tumormarker des Harnblasenkarzinoms	74
5.4 Diagnostische Wertigkeit der Zytologie beim Harnblasenkarzinom	76
5.5 Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Tumormarker	77
6. Zusammenfassung	78
7. Literaturverzeichnis	81
8. Erklärung	89
9. Danksagung	90
10. Lebenslauf	91

II. Abkürzungsverzeichnis

Abb.:	Abbildung
AUC:	Area under the Curve
BTA:	Blasentumor Antigen
bzw.:	beziehungsweise
Cis:	Carcinoma in situ
DGI:	Digoxigenin
DNA:	desoxyribonucleinacid
DNS:	Desoxyribonukleinsäure
EGRF:	Epithelial growth factor Rezeptor
EU :	Europäische Union
FISH:	fluorescent in situ hybridization
HRP:	Horseradish Peroxidase
LDH:	Laktatdehydrogenase
M:	Molar
NMP:	nukleäres Matrixprotein
n:	Anzahl
N:	Normal
n.s.:	nicht signifikant
NuMa:	Nuklear Mitotic Apparatus Protein
OPD:	o-Phenylenediamin
PCR:	Polymerase Kettenreaktion
PPW:	positiv prädiktiver Wert
PSA:	Prostata spezifisches Antigen
PSTI:	Pankreatic Secretory Trypsin Inhibitor
RNS:	Ribonukleinsäure
ROC:	Receiver Operating Characteristic
SAD:	Schaf-Anti-Digoxigenin-Antikörper
TATI:	Tumorassoziierter Trypsin Inhibitor

TNM: Classification of Malignant Tumors
TUR: transurethrale Resektion
UBC: Urinary-bladder-Carcinoma
UICC: Union Internationale Contre le Cancer
vs: versus
z. B. : zum Beispiel

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie

Das Urothelkarzinom der Harnblase ist nach dem Prostatakarzinom der zweithäufigste Tumor im Urogenitaltrakt und der sechsthäufigste Tumor überhaupt. Es hat einen Anteil von 2% an allen malignen Tumoren (28). Jährlich erkranken in Deutschland 25000 Patienten an diesem Tumor, wobei Männer dreimal häufiger betroffen sind als Frauen (54; 48), was vor allem auf eine höhere berufsbedingte Exposition als auch auf einen stärkeren Zigarettenkonsum zurückgeführt wird (19). Das Harnblasenkarzinom hat mit 60 bis 80% die höchste Rezidivrate aller Tumore (48), wobei 10 bis 20% als muskelinvasive Tumore wiederauftreten (24).

Betrachtet man die prozentuale Verteilung aller Krebsformen, so nimmt das Harnblasenkarzinom als vierthäufigste Krebserkrankung des Mannes einen Wert von 8,9% ein. Allgemein sind 3,5% aller Krebssterbefälle durch den Harnblasentumor verursacht. Dieser Anteil steigt auf 5,9% an, wenn man Männer mit einem Alter von höher als 75 Jahren betrachtet (55).

Bei den Frauen nimmt das Harnblasenkarzinom einen prozentualen Wert von 3,6% aller Krebsneuerkrankungen ein und bedeutet für das weibliche Geschlecht die achthäufigste Krebserkrankung mit einem Anteil von weniger als 2,6% aller Krebssterbefälle (54; 55). Aufgrund der veränderten Expositionsverhältnisse der letzten Jahrzehnte ist jedoch in Zukunft eine starke Zunahme des weiblichen Anteils an Erkrankten zu erwarten.

Bei der Altersverteilung der Neuerkrankungen wird deutlich, dass es sich hierbei um einen Tumor des höheren Alters handelt, denn über 80% der im Jahr 2000 erkrankten Personen hatten das 60. Lebensjahr überschritten (54). Dabei lag das mittlere Erkrankungsalter für Männer bei 70 Jahren und für Frauen bei 72 Jahren (54)

Jüngere Patienten erkranken mit weniger als 1% nur sehr selten (28). Im EU-Vergleich nehmen Frauen aus Deutschland den ersten Platz in den Harnblasentumorerkrankungen ein, deutsche Männer folgen Spanien auf dem zweiten Platz (54). Dabei muss beachtet werden, dass der internationale Vergleich aufgrund unterschiedlicher Bewertung der Malignität mit Einschränkungen zu betrachten ist (19).

Es zeigt sich, dass die Sterberaten der Männer tendenziell leicht sinken, während die der Frauen unverändert auf niedrigem Niveau bleiben (54).

Wichtig für die Prognose ist der Grad der Erkrankung zum Zeitpunkt der Diagnose. Allgemein liegt die Fünfjahresüberlebensrate bei oberflächlichen Tumoren zwischen 73-76% und bei invasivem Wachstum zwischen 63 bis 67% (54).

1.2 Ätiologie

Obwohl bisher die Ätiologie von circa 80% der Harnblasenkarzinome unbekannt ist, spielen berufliche und außerberufliche Umwelteinflüsse, aber vor allem bestimmte Lebensgewohnheiten, für die Urothelkarzinogenese eine bedeutende Rolle (03; 19). Als Risikofaktoren gelten neben dem Alter, Geschlecht und ethnischen Zugehörigkeit vor allem das Zigarettenrauchen und die Exposition gegenüber bestimmten Chemikalien (28; 54).

1856 berichtete Perkin über das gehäufte Auftreten von Harnblasenkarzinomen bei Industriearbeitern, die mit der Synthese von Anilinpurpur beschäftigt waren (19). Untersuchungen von Rehn im Jahr 1895 zeigten den Zusammenhang zwischen Tumorinduktion und Exposition gegenüber Anilinfarbstoffen bei deutschen Industriearbeitern (19).

1938 wurde für die aromatischen Amine experimentell der Nachweis der Harnblasenkarzinogenität erbracht. Nach Fütterung von 2-Naphthylamin an Hunde entwickelten diese Transitionalzelltumore. Dabei wurde deutlich, dass Intensität und Dauer der Exposition mit dem Erkrankungsrisiko korrelieren (33). Die Karzinogenität wurde bei einer durchschnittlichen Latenzzeit von 20 bis 30 Jahren auch bei einer Expositionsdauer von weniger als einem Jahr nachgewiesen (21).

Die aromatischen Amine werden auf verschiedenen Stoffwechselwegen, vor allem in der Leber, in karzinogen wirksame Substanzen umgewandelt (19).

Auch bei den Rauchern wird das 2-Naphthylamin als Hauptursache für die Entstehung von Urothelkarzinomen angesehen (33), wobei der Zigarettenrauch allein etwa 40

kanzerogene Substanzen enthält (03). Im Urin von Rauchern wurden dabei höhere Konzentrationen des 2-Amino-7-naphthol, einem Metaboliten des 2-Naphthylamins, nachgewiesen (19). Raucher haben im Vergleich zu Nichtrauchern ein relatives erhöhtes Risiko zwischen 2:1 bis 6:1 an einem Harnblasenkarzinom zu erkranken (33). Der Anteil der Harnblasenkarzinome, die durch Zigarettenrauchen verursacht werden, beträgt 30 bis 40% (33) und bei 50% der Harnblasenkarzinompatienten wurde der Nachweis von regelmäßigem Zigarettenkonsum erbracht. Dabei korreliert das Erkrankungsrisiko mit der Anzahl der durchschnittlich gerauchten Zigaretten, dem Einstiegsalter und dem Teergehalt der Zigaretten (19; 21). Das erhöhte Risiko der Tumorentstehung fällt bei Exrauchern erst nach 7-15 Jahren auf das Niveau von Nichtrauchern zurück (19).

Chronische Entzündungszustände der Harnblase zum Beispiel durch Dauerkatheterisierung, Querschnittläsionen, Blasenextrophie, Bilharziose und Urinstase stellen einen eigenen Risikofaktor dar. So liegt beispielsweise das Risiko, nach langjähriger Harnableitung mittels Katheter an einem Harnblasenkarzinom zu erkranken zwischen 5-10% (19).

Angenommen wird dabei, dass durch die wiederholte chronische Irritation durch Fremdkörper Metaplasien entstehen, welche sich zu Dysplasien weiterentwickeln und letztendlich in einem Karzinom resultieren (20).

Bei Patienten mit Harnwegserkrankungen werden Nitrosamine mit einem erhöhten Blasenkrebsrisiko in Zusammenhang gebracht. Dabei wird Urinnitrat bakteriell zum Beispiel durch Bakterienstämme wie *Escherichia coli* zu Nitrit katalysiert beziehungsweise zu Stickstoffmonoxid reduziert. In Verbindung mit anderen harngängigen sekundären Aminen entsteht in der Folge Dimethylnitrosamin (21). Patienten mit Harnwegsinfekten haben gegenüber der Normalbevölkerung eine zwei- bis vierfach erhöhte Inzidenz (21).

Diese Nitrosaminbildung wird auch mit dem erhöhten Aufkommen von Plattenepithelkarzinomen bei der Bilharziose in Zusammenhang gebracht, die endemisch in weiten Teilen Afrikas vorkommt (28).

Auch Analgetika stellen einen Risikofaktor bei der Entstehung des Harnblasenkarzinoms dar. So gelten deren Metaboliten als Hauptursache von Harnblasenkrebs bei Frauen unter 50 Jahren (03).

Grundsätzlich gestaltet sich die exakte Identifikation des auslösenden Risikofaktors jedoch als schwierig, da das Zeitintervall zwischen Exposition und Auftreten des Karzinoms im Mittel 24 Jahre beträgt (33).

Chemische Farbstoffe	aromatische Amine: Benzidin 4-Aminobiphenyl 2-Naphthylamin 4-Chlor-o-Toluidin
Chronische Infekte	Nitrosamine: Dimethylnitrosamin
Balkannephropathie	Mykotoxine
Medikamente	Chlonaphazin Phenacetin Cyclophosphamid
Zigarettenrauch	2-Naphthylamin

Tabelle 1.2.1: Auswahl Kanzerogene und Risikofaktoren des Harnblasenkarzinoms

1.3 Pathologie und Pathogenese des Urothelkarzinoms

Das Epithel der ableitenden Harnwege, als Urothel bezeichnet, besteht aus drei Kernlagen, die einer Basalmembran aufliegen. In ihrem Proliferations- und Differenzierungsprozess wandern kleine, der Basalmembran aufliegende, kubische Zellen zum Blasenlumen hin, vergrößern sich dabei und liegen dem Urothel schirmartig auf, bevor sie mit dem Urin durch Desquamation ausgeschwemmt werden. Im gesunden Organismus herrscht hierbei ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Zellteilung und Zelltod.

Infolge der Proliferation kann es hingegen zu unterschiedlichen Wachstumsmustern der Epithelschicht kommen, z. B. zu einer Verbreiterung des Epithels im Sinne einer Hyperplasie und dabei auch Atypien aufweisen. Das Bild der Dysplasie entsteht bei zunehmenden Atypien. Die Dysplasie wird in drei Grade unterteilt, wobei Grad eins gleichzusetzen ist mit Kernvergrößerung, Anisomorphie und Hyperchromasie der Zellkerne. Diese Zellveränderungen können reversibel sein, wohingegen sie bei Grad drei bestehen bleiben. Das Carcinoma in situ (Cis) bildet dann die karzinomatöse Vorstufe des Harnblasenkarzinoms. Dabei handelt es sich um eine intraepithelial wachsende, nicht die Lamina propria mucosae infiltrierende Dysplasie mit hohem Chromatingehalt in großen Zellkernen, prominenten Nukleoli und erhöhter mitotischer Aktivität. Nach der TNM-Klassifikation werden dann die eigentlichen Karzinome in drei Differenzierungsgrade eingeteilt (03).

Histologisch handelt es sich bei dem Harnblasentumor in bis zu 90% um ein Urothelkarzinom das meist multifokal aufzufinden ist. Seltener hingegen sind Plattenepithelkarzinome mit 5-6% oder in weniger als 2% der Fälle die Adenokarzinome, die bevorzugt am Blasendach, ausgehend vom Urachus auftreten (03; 28; 54). Mit weniger als 1% finden sich vereinzelt sekundäre Blasentumore durch Infiltration ausgehend vom weiblichen Genitale, der Prostata, des Kolon oder Metastasierung zum Beispiel des Mamma-, Magen-, oder Bronchialkarzinoms sowie des Melanoms (28). Klassifiziert sind des Weiteren Tumore nicht-epithelialen und mesenchymalen Ursprungs, die sowohl benigner (Fibrom, Myxom, Leiomyom, Hämangiom) als auch maligner (Leiomyosarkom, Fibrosarkom, Rhabdomyosarkom) Natur sein können.

Bei circa 70% wird initial ein oberflächlicher Tumor diagnostiziert, die verbleibenden 30% bilden in die Muskelschicht vorgewachsene Urothelkarzinome, die zu einem hohen Prozentsatz bei der Erstdiagnose metastasiert sind (03).

Bei der Entstehung des Harnblasenkarzinoms handelt es sich um einen multifaktoriellen mehrstufigen Prozess, auch Inition genannt, bei dem Karzinogene die maligne Transformation der Urothelzelle verursachen und im weiteren Verlauf proliferationsstimulierende Kokarzinogene das Tumorwachstum in der Promotion realisieren (03). Voraussetzung zur Einleitung dieses Prozesses scheint die Änderung

der chromosomalen Struktur durch eine Mutation der DNA zu sein (19). Die Onkogene ras, erb-2 und der Epithelial-growth-factor-Rezeptor (EGFR) spielen beim Blasenkarzinom eine bedeutende Rolle. Die Familie der ras-Proteine, bestehend aus H-ras, K-ras und N-ras, besitzen infolge einer Mutation onkogenes Potential und fördern somit den Übergang von normalen Wachstumsverhalten der Zelle zu ungebremstem Tumorwachstum. Beim Harnblasenkarzinom ist das H-ras-Protein bei der Signaltransduktion und somit bei der Zellproliferation und Zelldifferenzierung integriert (19), in bis zu 36% auftretender Harnblasenkarzinome wurde die Mutation des H-ras gefunden (20).

ErbB-2 und EGFR gehören zur Familie der Rezeptortyrosinkinasen, die durch Überexpression transformierendes Potential erlangen. Der EGFR reguliert die Zellproliferation und wird durch EGF oder TGF-alpha aktiviert. Beim Harnblasenkarzinom sind diese Onkogene überexprimiert (24).

Zytogenetische Studien über das Harnblasenkarzinom haben Abnormalitäten der Chromosomen 1, 3, 5, 7, 9, 11, 17, X und Y ergeben. Daneben sind auch numerische Auffälligkeiten, wie die Trisomie 7 oder die Monosomie 9 beschrieben worden (01). Auch der Verlust des Chromosoms 9, scheint ein frühes genetisches Ereignis der Tumorgenese darzustellen, weshalb angenommen wird, dass sich auf diesem Chromosom Tumorsuppressorgene befinden (03).

Bei der Regulation des Zellzyklus stellt die Phosphorylierung eine zentrale Rolle dar. Das Tumorsuppressorgen Retinoblastomagen, das auf Chromosom 13 lokalisiert ist, zeigt bei 14-80% der Harnblasentumore eine Inaktivierung durch Deletion des Chromosoms 13. Dabei zeigt sich eine strenge Korrelation zwischen der Rb-gen-Inaktivierung und dem Tumorstadium (05). Als Transkriptionsfaktor fungiert das nukleäre Phosphoprotein p53, das auf Chromosom 17 lokalisiert ist.

Aufgabe des p53 ist es, den Zellzyklus in Phase G1 zu blockieren und somit die Reparatur von geschädigter DNA zu ermöglichen, indem es die Transkription von WAF1 initiiert, das CDK2 (zyklinabhängige Kinase 2) bindet und inhibiert. Somit ist der Übergang in die nächste Phase der Proliferation gestoppt.

Ist das p53-Suppressorgen mutiert, entfällt die für die DNA-Reparatur und Initiierung der Apoptose notwendige Pause des Zellzyklus, die Zellen entarten. Aufgrund der längeren Halbwertszeit des p53-Mutanten gegenüber dem Wildtypen kommt es folglich zur unkontrollierten Zellproliferation (19; 20). Bei 50% aller invasiven Blasenkarzinome sind

Mutationen des p53 nachweisbar (19; 20), neuere Untersuchungen zeigten aber auch das Vorhandensein akkumulierter p53 in einfachen Dysplasien und im Carcinoma in situ (36).

Im Vergleich zum gesunden Organismus müssen Tumore unter anderem die Fähigkeiten ausbilden, invasiv zu wachsen oder Metastasen bilden zu können. Diese Fähigkeiten ergeben sich z. B. dadurch, dass Veränderungen der extrazellulären Matrix entstehen. Funktion und Aufbau dieser unterliegt komplexen Steuerungen, an denen unter anderem Proteinasen beteiligt sind, die sich teilweise gegenseitig aktivieren. Plasminogenaktivatoren vom Urokinasetyp (uPA) nehmen hierbei eine Schlüsselrolle ein, indem sie Plasminogen zu Plasmin umwandeln. In Blasentumoren ist eine im Vergleich zur gesunden Mukosa ein bis zu zehnfach erhöhte uPA-Spiegel gefunden worden. In diesen Fällen ergaben sich selbst zwischen G1 und G3 Tumoren signifikante Unterschiede in dessen Konzentration. Plasmin besitzt neben der Fähigkeit einzelne Bestandteile der extrazellulären Matrix abzubauen, auch die Eigenschaft, Metallproteinasen zu aktivieren. Zwei wichtige dieser Proteinase sind die interstitielle Kollagenase (Typ I-III), die Kollagenfibrillen abbaut und die Kollagenase Typ IV, die die Vernetzung der Kollagenfibrillen in der Basalmembran zerstören kann. Somit scheint die Wirkung des Plasmins und dessen aktivierter Enzyme vor allem für das invasive Wachstum bedeutungsvoll zu sein (19). Die Wechselwirkungen zwischen Zytoskelett und extrazellulärer Matrix werden durch bisher noch weitgehend unbekanntes Zellsekrete kontrolliert.

Im Urin von Blasentumorpatienten wurde eine weitaus höhere Konzentration des autokrinen Motilitätsfaktor festgestellt. Dieser Motilitätsfaktor bewirkt dosisabhängig eine ungerichtete starke Bewegungssteigerung der Zellen. Dabei kommt es zur Ausbildung von Zellfortsätzen, Pseudopodien und zur Auflösung von Zell-Zell-Kontakten mit folgend ungerichteter, regelloser Bewegung aus dem Zellverband heraus (19). Die Zelle, die einmal die Wachstumskontrolle durchbrochen hat, verhält sich im Gewebeverband völlig autark und folgt nun ihrem eigenen individuellen Vermehrungsprogramm.

1.4 Klinische Einteilung, Stadien und Differenzierungsgrad

Die Klassifikation der Harnblasentumore bezieht sich nur auf Karzinome, Papillome werden hierbei nicht berücksichtigt. Die lokale und organüberschreitende Ausdehnung des Tumors wird mit Hilfe der TNM-Klassifikation der UICC beschrieben (19). Dabei beschreibt T die lokale Ausdehnung des Tumors. Beschränkt sich der Tumor auf die Blasenmukosa, so wird der Tumor mit Ta kategorisiert. Wird hingegen das supepitheliale Bindegewebe bis an die untere Begrenzung der Lamina propria heran infiltriert, bezeichnet man dies als Stadium T1. Durchbricht der Tumor die Lamina propria bis in die oberflächliche Muskelschicht, so handelt es sich um Stadium T2. T3 beschreibt die Infiltration des perivesikalen Gewebes, das weitergeführt mit der Infiltration umliegender Organe im kleinen Becken in Stadium T4 endet. Der Zusatz m soll verwendet werden, um multiple Läsionen anzuzeigen.

Klinisch wird unterschieden in nicht infiltrierende, oberflächliche Tumore (pTa, Tis, pT1) und infiltrierende, invasive Tumore (größer und gleich pT2). Die Infiltrationstiefe ist eines der wichtigsten Klassifikationsmerkmale und hat entscheidenden Einfluss auf die zu wählende Therapie (03).

T-Stadium	Merkmale
Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
Ta	Nicht-invasives papilläres Karzinom
T1	Infiltration subepithelial
T2	Infiltration der Blasenmuskulatur
T2a	Infiltration der oberflächlichen Muskulatur
T2b	Infiltration der tiefen Muskulatur
T3	Infiltration perivesikalen Gewebes
T3a	Mikroskopisch
T3b	Makroskopisch
T4	Infiltration von Prostata oder Uterus, Vagina, Becken- oder Bauchwand
T4a	Infiltration von Prostata oder Uterus, Vagina
T4b	Infiltration von Becken- und Bauchwand

Tabelle 1.4.1: T-Stadium

Die lymphogene Metastasierung des Harnblasenkarzinoms befällt die Lymphknoten des kleinen Beckens in der Fossa obturatoria und der iliakalen Region. Dieser Zustand wird mit dem N der TNM-Klassifikation beschrieben, dabei hat die Lateralität keinen Einfluss (28).

N-Stadium	Merkmal
NX	Lymphknotenstatus unbekannt
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Befall eines Lymphknotens <2 cm
N2	Befall eines Lymphknotens 2-5 cm oder mehrer Lymphknoten <5 cm
N3	Lymphknotenbefall >5 cm im Durchmesser

Tabelle 1.4.2: N-Stadium

Die hämatogene Metastasierung des Harnblasenkarzinoms befällt in erster Linie die Lunge, das Skelettsystem und die Leber. Sie wird mit Hilfe des M in der TNM-Klassifikation beschrieben.

M-Stadium	Merkmal
MX	Vorhandensein von Fernmetastasen kann nicht beurteilt werden
M0	Kein Anhalt für Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen vorhanden

Tabelle 1.4.3: M-Stadium

Der Index p beschreibt die pathologische Klassifikation.

Die Zelldifferenzierung des Harnblasentumors wird in verschiedene Grade unterteilt. Das Bild des G1 Urothelkarzinoms zeigt gut differenzierte Zellen, G2 mäßig differenzierte Zellen, G3 weist schlecht differenzierte Zellen auf (28).

WHO 1973	WHO 2004
Papillom	Papillom
Grad 1	niedrig maligne Potenz low-grade Karzinom
Grad 2	low-grade Karzinom high-grade Karzinom
Grad 3	high-grade Karzinom

Tabelle 1.4.4: G-Stadium nach WHO-Leitlinien

1.5 Diagnostik des Harnblasenkarzinoms

Das Leitsymptom des Harnblasenkarzinoms besteht in 80% der Fälle in der schmerzlosen Makrohämaturie und in einigen Fällen (30%) in zystitischen Beschwerden, wie Dysurie, Pollakisurie oder Urgesymptomatik. In 20% wird die Diagnose Urothelkarzinom zufällig bei der Abklärung einer Mikrohämaturie gestellt (03). Die klinische Untersuchung zielt darauf ab, eine Hydronephrose, einen Unterbauchtumor oder eine Infiltration der Beckenorgane zu erfassen (28). Allgemeine klinische Untersuchungen bestehen in der Palpation des Nierenlagers, des Unterbauches und des inneren Genitale, in der Harnanalyse durch Sedimentuntersuchungen, in Laboruntersuchungen wie Kreatininbestimmung, in der Urographie und Sonographie der Nieren und der Harnblase. Während bei muskelinvasiven Tumoren die Frage der Organüberschreitung und Metastasierung eine bedeutende Rolle spielt, steht bei den oberflächlichen Blasenkarzinomen die lokale Tumordiagnostik im Vordergrund.

Die Diagnose des Harnblasenkarzinoms wird zystoskopisch gestellt (53). Endoskopisch wird dabei der Tumor lokalisiert und die Anzahl der Herde und der Wachstumstyp festgestellt. Häufig kann dabei zwischen oberflächlichem und invasivem Tumor unterschieden werden (52). Da das zystoskopische Bild nicht immer eindeutig ist, Sensitivitäten von größer als 90% werden berichtet (35), sind in Zweifelsfällen zytologische und histologische Abklärungen durch transurethrale Resektion oder durch die Entnahme einer Biopsie angezeigt. Die transurethrale Resektion (TUR) ist somit

Mittel zur Diagnostik und im Falle eines nicht-invasiven Tumors auch gleichzeitig Therapie (03).

Bei der TUR werden getrennt Biopsien aus den Tumorrändern und aus dem Tumorgrund, die jeweils Blasenmuskulatur aufweisen müssen, genommen. Besteht zystoskopisch der Verdacht eines Cis, ist eine Urinzytologie erforderlich. In allen anderen Fällen ist diese fakultativ (53). Hierbei ist die Sensitivität abhängig vom Tumorgrad, denn gut differenzierte Tumoren entgehen in mehr als 50% der Fälle der urinzytologischen Diagnostik. Falsch positive Werte bei Makrohämaturie, Harnwegsinfektionen oder Harnsteinleiden schränken die Spezifität weiterhin ein (52), so dass sich eine Spezifität von mehr als 93% ergibt, aber die Sensitivität nur zwischen 25-40% liegt (35).

Die weitere Ausbreitungsdiagnostik richtet sich nach dem histologischen Ergebnis der TUR. Bei den oberflächlichen Karzinomen (kleiner als T2) erfolgt die Nachresektion eine bis sechs Wochen nach dem Ersteingriff, eine weitere Diagnostik ist nur in Spezialfällen notwendig. Die invasiven Harnblasenkarzinome (größer oder gleich T2) erfordern weitere diagnostische Abklärungen zum Ausschluss von Fernmetastasen.

1.6 Tumormarker und nicht-invasive Blasentumortests des Urothelkarzinoms

Die Identifizierung spezifischer, im Urin nachweisbarer molekularer Marker für das Harnblasenkarzinom ist die Grundlage nicht-invasiver Blasentumortests. Ziel dieser Testverfahren (z. B. BTA, NMP 22, Immunocyt, UBC, Telomerase, FISH) ist die Reduzierung unnötiger Zystoskopien in der Primärdiagnostik, aber insbesondere im Rahmen der Tumornachsorge. Die Entwicklung dieser Tests erfolgte mit der Absicht eine Alternative zu der invasiven und kostspieligen Zystoskopie zu etablieren. Aufgrund der noch unzureichenden diagnostischen Präzision konnten diese bisher nicht überzeugen (28).

Die Zytologie zählt neben der Zystoskopie zur grundlegenden Diagnostik des Harnblasenkarzinoms und wird routinemäßig eingesetzt. Diese nicht-invasive Methode unter Verwendung von Spontanurin zeigt in mehreren Studien eine Spezifität von 90 bis

zu 95%. Die Sensitivität dieses Verfahrens hingegen ist gering und wird in mehreren Studien von 11% bis 76% beschrieben (32; 37). Die Sicherheit der Diagnose steigt mit zunehmendem Malignitätsgrad.

Mehrere Faktoren beeinflussen die Sensitivität der Zytologie. Probleme ergeben sich bei der Diagnosesicherung von hochdifferenzierten und oberflächlichen Tumoren, bei Vorliegen einer Zystitis oder bei einer vorangegangenen intravesikalen Zytostatikaapplikation. All diese Faktoren können zu Zellatypien führen, die schwer von den Tumorzellen abzugrenzen sind (03). Auch die Qualität der gewonnenen Probe sowie die Anzahl der darin enthaltenen Zellen spielen eine wesentliche Rolle (37). Weiterhin ist die Diagnose abhängig von der Einschätzung und Erfahrung des Zytopathologen (31). Beim Nachweis eines Carcinoma in situ ist die Zytologie das einzige Diagnosekriterium bei negativem Zystoskopiebefund (03).

Ergänzt werden kann die Zytologie durch den ImmunoCyt Test. Dieser Fluoreszenztest wird zum Nachweis tumorspezifischer Antigene auf exfoliierten Tumorzellen mikroskopisch durchgeführt. Die Sensitivität beträgt 90%, die Spezifität 75%. Es wird angenommen, dass die Anzahl der Zystoskopien durch diesen Test um 40% gesenkt werden kann (11).

Klinisch weisen circa 85% der Patienten mit Harnblasentumor eine Mikro- oder Makrohämaturie auf. Der Hämoglobin-Teststreifen ist eine einfache Methode um Blut im Urin nachzuweisen und bedarf keiner intensiven Schulung des auszuführenden Personals. Die eher geringe Sensitivität von 47% bis 74% und Spezifität erklären sich durch das intermittierende Auftreten der Hämaturie, und vielerlei anderer ursächlichen Möglichkeiten, wie zum Beispiel der benignen Prostatahyperplasie, Harnwegsinfektionen oder Steinleiden (29).

Der BTA Test ist ein Enzymimmunoassay auf Grundlage monoklonaler Antikörper, das qualitativ das Vorhandensein von humanen komplement Faktor H abhängigen r Protein im Urin von Blasen-tumorpatienten nachweist (35; 37). Das hCFH-r Protein ist gleich dem hCFH-Protein und wird von Tumorzellen gebildet.

In mehreren Studien lag die Sensitivität und Spezifität des BTA Test zwischen 50 und 85% (35; 37), wobei in anderen Studien eine sehr hohe Rate an falsch positiven Ergebnissen bei Patienten mit Makrohämaturie aufgezeigt wurde. Dieser Test ist leicht erhältlich und vergleichsweise preiswert (51).

Immunhistochemisch lässt sich das p53 Tumorsuppressorgen nachweisen. Dieses steuert als Zellregulator das Zellwachstum in normalen Zellen. Es wird angenommen, dass dessen Inaktivierung oder Mutation ein Schritt in der Tumorgenese sein kann. Mit der gleichen Methode lassen sich auch das nm23-H1, als potentieller Suppressor von Metastasen, und der Ki67, als Marker für das Potential der Zellteilung, nachweisen (03). Mittels der Polymerase Kettenreaktion (PCR) kann der Nachweis der Telomerase erbracht werden. Die Telomerase ist eine reverse Transkriptase, welche die bei jeder Zellreplikation kürzer werdenden Telomere rekonstruiert. Ist die Telomeraseaktivität in der Zelle erhöht, wird der natürliche Zelluntergang gestört. Die Telomeraseaktivität ist in malignen Zellen um ein Vielfaches erhöht (51). Die Sensitivität liegt bei 77%, die Spezifität bei 85% (11).

1.6.1 TATI

Der Tumor assoziierte Trypsin Inhibitor (TATI) ist ein 6kDa großes Peptid, das Trypsin und Acrosin spezifisch hemmt und zuerst im Urin von Patientinnen mit Ovarialkarzinomen immunochemisch isoliert wurde (10; 16; 41; 23; 38).

Sehr hohe TATI Konzentrationen wurden in der Zystenflüssigkeit bei Patienten mit muzinösen Ovarialkarzinomen nachgewiesen, aber auch von viele andere Tumoren wird angenommen, dass sie TATI bilden. So gilt er als prognostischer Marker nicht nur für die Ovarialkarzinome, sondern auch für Nierenzell- und Blasenkarzinome (17; 41; 42). Dieser ist identisch zu dem schon früher beschriebenen Pancreatic Secretory Trypsin Inhibitor (PSTI) (23; 41), der vorzeitig aktiviertes Trypsin im Pankreas hemmt. Ausgeschüttet wird TATI mit tumor-assoziiertem Trypsin, von welchem angenommen wird, dass es an der tumor-assoziierten Protease-Kaskade teilnimmt, die die Tumordinvasivität vermittelt (17; 38; 41).

Bei benignen Erkrankungen verursacht vor allem die Pankreatitis eine erhöhte TATI Konzentration (10) vermutlich infolge einer vermehrten Freisetzung von PSTI aus dem erkrankten Pankreasgewebe. Bei leichten entzündlichen Erkrankungen ist TATI jedoch selten erhöht. Verschiedene maligne Tumoren verursachen eine Erhöhung des Markers im Serum und Urin, meist durch eine vom Tumor selbst ausgehende TATI Produktion. Die Konzentrationen im Urin und Serum korrelieren stark miteinander, dennoch

unterliegt die TATI Konzentration im Urin größeren Schwankungen und ist stark von der glomerulären Filtrationsrate abhängig, weshalb die Serumkonzentration zu bevorzugen ist (41; 46). Immunzytochemisch konnten Diggle et al. nachweisen, dass zum Beispiel beim papillären Harnblasentumor alle Zellschichten TATI positiv waren (10).

Beim Nierenzellkarzinom zeigt TATI mit 69% eine höhere Sensitivität als andere Marker und eignet sich besonders für die Verlaufskontrolle nach chirurgischer Therapie. Da eine erhöhte TATI Konzentration meist mit dem fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung korreliert, eignet es sich nicht als Marker für die frühe Diagnose aber als prognostischer Marker (41) sowie als Marker bei Rezidivtumoren und bei dem Auftreten von Metastasen (44).

Bei anderen Tumorerkrankungen, wie zum Beispiel Lungenkarzinom oder Brustkrebs, zeigte sich TATI nicht im Vorteil im Vergleich zu schon gebräuchlichen Markern (41).

Klinisch ist TATI am hilfreichsten im Monitoring des Ovarialkarzinoms. Dennoch scheint die prognostische Aussagekraft des TATI für viele Tumorerkrankungen groß zu sein. Die erhöhte Expression des TATI reflektiert die Bildung von Trypsin durch den Tumor. Da Trypsin viele Proteasen aktiviert, wie zum Beispiel Prourokinase und Matrix-Metallprotease-2, die wesentliche Rollen bei der Tumorinvasivität spielen, scheint zu verdeutlichen, wie Trypsin und somit TATI bei Tumorerkrankungen agieren (41).

1.6.1.1 TATI im Serum von Blasen tumorpatienten

Im normalen Urothel wird TATI nur von der oberflächlichen, nicht von der intermediären oder basalen Zellschicht exprimiert (10). Die Serumkonzentration des TATI beträgt bei gesunden Individuen im Mittel 11 µg/L (Intervall 3-21 µg/L) (41). Diese ergibt sich aus verschiedenen gesunden Geweben, wie zum Beispiel des Gastrointestinaltraktes, der Lunge, Leber, Brust, Niere und des Harnblasenepithels (38). Geringere Konzentrationen wurden mittels Assays basierend auf monoklonalen Antikörpern nachgewiesen (Mittel 9,6 µg/L; Intervall 3,1-16) (41).

Beim Harnblasenkarzinom zeigte sich TATI als hilfreicher Serummarker. In Abhängigkeit des Stadiums, haben 22 bis 70% der Fälle eine erhöhte TATI –

Konzentration, und TATI kann somit zum Monitoring dieser Krankheit genutzt werden (41). Der Median der TATI Serumkonzentration lag in einer Studie von Diggle et al. bei Blasentumorpatienten bei 36,6 µg/l im Vergleich zu den gesunden Kontrollpatienten bei 17,7 µg/l ($p < 0,02$) (10).

In einer Studie von Kolloniemi et al. wurde die Rolle des TATI im Urin und Serum als prognostischer Marker bei der Verlaufskontrolle des Harnblasenkarzinoms untersucht ($n=157$, Follow-up 12 Jahre). Die Sensitivität für die Detektion des Harnblasentumors war mit 44% nicht überzeugend und auch die Sensitivität allein für das invasive Karzinom nur gering höher bei 56%. Es zeigte sich, dass TATI vor allem ein Marker des invasiven Karzinoms darstellt und sich somit nicht für die Frühdiagnose eignet. 56% (9 von 16) der invasiven Tumore (größer und gleich T2) wurden positiv erkannt, wohingegen nur 40% (19 von 48) der oberflächlichen Tumore als richtig positiv eingeordnet wurden. Sie wiesen den Serum-TATI als unabhängigen prognostischen Faktor des Urothelkarzinoms aus, der weniger invasiv als die bisherige Diagnostik ist und vor allem dann brauchbar, wenn mittels Zystoskopie oder Biopsie kein Tumor aufgefunden wurde. Auffällig war ebenso, dass alle aufgrund des Harnblasenkarzinoms verstorbenen Patienten auch eine erhöhte TATI-Konzentration aufwiesen (größer und gleich 21µg/l) und somit früher als high-risk Patienten hätten eingestuft werden könnten (23).

Bei lokal fortgeschrittenem (75,8%) und metastasiertem (89,5%) Harnblasenkarzinom haben sich ebenfalls erhöhte Serum TATI Konzentrationen gezeigt. Hierbei sollen die gemessenen Tumormarkerspiegel eine Vorhersage des möglichen Ansprechens auf eine Chemotherapie treffen können (34; 38).

1.6.1.2 TATI im Urin von Blasentumorpatienten

Aufgrund der kleinen molekularen Größe wird TATI mit einer Halbwertszeit von 6 Minuten per renaler Exkretion aus der Zirkulation entfernt. Ist die renale Funktion gestört, resultiert folglich ein Anstieg der TATI - Konzentration. Bei einer GFR von kleiner als 40-60 ml/min ist ein Anstieg der TATI Serumkonzentration aufzufinden. Die Konzentration im Urin ist normalerweise um das zwei- bis dreifache höher als im

Serum, schwankt aber in Abhängigkeit der Diurese (41; 47) und wird deshalb als weniger hilfreich als die Serum TATI Konzentration eingeschätzt (23). Die Urinkonzentration bei gesundem Urothel liegt bei 25µg/l (Intervall 7-51µg/l) (41).

Shariat et al. fanden heraus, dass die Urin TATI Konzentrationen in Blasentumorpatienten höher sind als bei gesunden Kontrollpatienten (n=85, p=0,001) (10; 23; 38). Des Weiteren hatten die Proben mit positiver Zytologie auch signifikant höhere TATI Urinkonzentrationen (p<0,001).

Bei negativer Zytologie hatte TATI eine größere Assoziation zum Blasenkarzinom als andere Marker. Im Vergleich zum NMP 22 ist der TATI innerhalb der AUC bei Sensitivitäten größer als 75% spezifischer und akkurater. Es wurde gezeigt, dass invasive Tumorstadien (>T1) höhere TATI Konzentrationen aufwiesen als oberflächliche Tumoren (p=0,002) (38).

Im Gegensatz dazu fanden Hotakainen et al. heraus, dass die TATI Konzentration in allen benignen Erkrankungen der Blase und nicht-invasiven Tumoren erhöht war, nicht jedoch in invasiven Tumoren (T2) (17).

Weniger aussagekräftig verhält sich die Urinkonzentration im Hinblick auf das Harnblasenkarzinom-Überleben im Vergleich zum Serum TATI (38). Der Urin TATI stellt sich als nicht-unabhängiger prognostischer Marker dar (n=157, Follow-up 12 Jahre) (23).

1.6.2 NMP

Nukleäre Matrix-Proteine (NMP) bilden das Gerüst für die räumliche Struktur der Zellkerne und sind an vielen wichtigen Vorgängen wie der drei-dimensionalen Organisation der Chromosomen, der DNS-Replikation oder der RNS-Synthese maßgeblich beteiligt. Lokalisiert sind sie in dem mitotischen Spindelapparat. Zudem sind sie in die Chromatinverteilung auf die Tochterzellen während der zellulären Replikation involviert (02; 08; 09; 13). Erstmals wurden diese Nukleären Matrix-Proteine von Berezney und Coffey 1974 beschrieben (02).

Die Expression dieser Proteine variiert je nach Zelltyp, Stadium der zellulären Differenzierung, Zell-Zyklus und dementsprechend auch je nach Tumorart (39).

Bei Zelltod zerfällt das NMP in lösliche Fragmente, die folgend im Urin mittels monoklonaler Antikörper nachweisbar sind. Erhöhte Werte wurden bei einigen malignen Erkrankungen verschiedenen Ursprungs, wie z. B. des Colons, der Brust oder des Knochens, nachgewiesen (06; 22; 25; 27). Dabei konnte kein signifikanter Einfluss des Alters ($p=0,267$) oder des Geschlechts auf die Höhe der NMP 22 Konzentrationen nachgewiesen werden (39).

1.6.2.1 NMP 22 bei Blasentumorpatienten

Das NMP 22 ist mit Tumoren des Urogenitaltraktes assoziiert (39). Studien haben belegt, dass NMP 22 in Tumorzellen in mehr als zehnfacher Konzentration gegenüber gesunden Zellen enthalten ist, im Falle des Harnblasenkarzinoms wird sogar von fünfundzwanzigfach erhöhten Werten im Vergleich zu gesunden Harnblasenkonzentrationen berichtet (07; 09; 22; 35). Weiterhin gibt es Hinweise, dass die Höhe der Konzentration abhängig von der Differenzierung des Tumors sei (06). Somit erscheint das NMP 22 als potentieller Marker zum Nachweis eines malignen Geschehens innerhalb des Urothels.

Der erste kommerziell erhältliche Test für NMP 22 war ein quantitatives Immunoassay, entwickelt von der Firma Matritech Inc. mit Hilfe monoklonaler Antikörper ist es hierbei möglich, Fragmente oder komplexe NuMa nachzuweisen. Der ELISA wurde ursprünglich von der US Food and Drug Administration zum Nachweis des Harnblasenkarzinoms bei Patienten mit Risikofaktoren oder Symptomen entwickelt. Er sollte des Weiteren hilfreich bei der Nachsorge von Blasentumorpatienten nach chirurgischer Intervention sein und ein frühes Erkennen von Rezidiven ermöglichen (07).

Die Sensitivität und Spezifität dieses ELISA sind bisher nicht eindeutig definiert. In den verschiedenen Studien liegt die Sensitivität zwischen 47% bis 100%, die Spezifität zwischen 60 und 70%. Diese große Spannweite resultiert vor allem dadurch, dass in den unterschiedlichen Versuchsreihen verschiedene Cut-Off Werte verwendet wurden und Primärtumore sowie Rezidivtumore nachgewiesen wurden (25; 29). Der Hersteller empfiehlt eine Konzentration von größer als 10U/ml für ein positives Testergebnis,

wobei verschiedene Studien alternativ den Cut-Off von 3,6 bis 13,7U/ml wählten (40). Auffällig ist weiterhin eine hohe Rate an falsch positiven Ergebnissen bei Patienten mit anderen urologischen Tumoren, entzündlichen Prozessen (04), Nieren- oder Blasensteinen sowie Fremdkörpern, wie auch Dauerkatheter (07). Diesbezüglich wurden vom Hersteller Ausschlusskriterien der Testanwendung definiert, wie extreme körperliche Belastung, interstitielle Zystitis, Infektionen des Harntraktes oder Manipulationen an diesem.

In einer Studie von Saad et al. wurde in einer Untersuchungsgruppe (n=120) eine Sensitivität von insgesamt 81%, und eine Spezifität von 87% ermittelt. Es wurde deutlich, dass die Sensitivität mit höherem Malignitätsgrad ansteigt. Der PPW betrug hierbei 82% (35).

Ramakur et al. erzielten in ihren Untersuchungen eine Sensitivität von nur 54% und eine Spezifität von 60%. Bei dem vom Hersteller empfohlenen Cut-Off von größer als 10 U/ml ergaben sich für die Sensitivität nur 48% und Spezifität 90%. Somit definierte diese Forschungsgruppe ihren individuellen Cut-Off bei 3,6 U/ml, was unter Einbuße der Spezifität zu einer höheren Sensitivität führt (51).

Gegensätzlich zu diesen Ergebnissen fanden Shariat et al. mit einem Cut-Off von 6,5 U/ml (n=302) die aussagekräftigsten Resultate mit einem signifikanten Unterschied zu der vom Hersteller empfohlenen Konzentration von größer als 10 U/ml für alle Stadien und Graduierungen des Tumors. Die Rate der richtig detektierten Tumorpatienten lag in ihrer Versuchsreihe bei 69% im Vergleich zum Hersteller mit nur 58% (n=2951) (39; 40).

Eine weitere Studie konnte zeigen, dass die NMP 22 Test Sensitivität für solide Tumoren höher ist als in papillären, ebenso bei multifokalen im Vergleich zu einzeln auftretenden Läsionen und auch bei Primärtumoren im Vergleich zu Rezidiverscheinungen. Dabei soll die Sensitivität mit Tumorgröße steigen (50).

Die neue Generation des NMP 22 Test ist ein qualitatives Assay basierend auf einer chromatographischen Analyse von vier Tropfen Urin, wobei NMP 22 mittels spezifischer Antikörper innerhalb 30 Minuten nachgewiesen wird, ohne weitere Laborprozesse nach sich zu ziehen (32). Der so genannte BladderCheck Test® wurde prospektiv an einer Gruppe von Risikopatienten evaluiert (n=1331), die entweder eine positive Raucheranamnese hatten oder Symptome wie Hämaturie oder Dysurie aufwiesen.

Insgesamt wurden dabei 79 Patienten mit Harnblasenkarzinom identifiziert. Die Sensitivität dieses Tests liegt bei 55,7%, die Spezifität bei 85,7% zum Nachweis des Harnblasenkarzinoms (14; 29; 32). Es soll sich auch hier eine Überlegenheit des Testes bei der Sensitivität gegenüber der Urinzytologie aufzeigen ($p < 0,001$) (14), die für alle Stadien der Erkrankung gelten soll (45).

Diesen Ergebnissen schließt sich auch eine Studie von Talwar et al. an, in der der NMP 22 Test als Substitut der Zytologie bezeichnet wird, da er einerseits schnell verfügbare und durchführbar, andererseits er in allen Stadien und Graduierungen einen höheren Aussagewert als die Zytologie aufweist (43). Bei negativer Zytologie hingegen ist die NMP 22 Konzentration nicht mit dem Vorhandensein eines Tumors assoziiert (38).

Hutterer et al. kombinierten die Zytologie mit dem NMP 22 Test bei nicht Transitionalzellkarzinomen und zeigten hierbei einen leichten Anstieg von Sensitivität und Spezifität (18).

Generell betrachtet steigt bei beiden Testmethoden die Sensitivität mit höherer Malignität (29; 49). So zeigt die differenzierte Beurteilung invasiver Tumore ($>T2$) eine signifikant höhere NMP 22 Konzentration als die Gruppe der oberflächlichen Tumore (Ta, T1) ($p = 0,006$) (27; 39). Für die Diagnosesicherung des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms eignet sich der NMP 22 Test nicht (25). Im Gegensatz hierzu ergab eine Testreihe von Mansoor et al., dass die Sensitivität des NMP 22 Tests mit zunehmender Invasivität abnimmt und eher als Nachweismethode des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms zu werten ist (30). Bestätigt wurde diese Annahme auch durch andere Untersuchungen (26).

Auch in der Betrachtung der Zelldifferenzierung zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen Grad I-II im Vergleich zu Grad III ($p = 0,005$ für NMP 22; $p = 0,013$ für Zytologie) (27).

In weiteren Studien wurde gezeigt, dass Patienten mit einer positiver Zytologie signifikant höhere NMP 22 Werte aufwiesen (27; 15). Die Rate der positiven Testergebnisse sowohl für die untersuchte Zytologie als auch für die NMP 22 Konzentration stieg mit einer Größe von größer als 20mm an, multifokales Auftreten nahm hingegen keinen signifikanten Einfluss (27).

2. Zielstellung

Erhöhte Spiegel der Serum- und Urinkonzentrationen von TATI und NMP 22 wurde bei einer Reihe von malignen Tumorerkrankungen, einschließlich dem Blasenkarzinom, aufgezeigt (07; 17; 25; 27; 38; 41).

Die bisher untersuchten Tumormarker ergaben jedoch nicht die erwünschten Resultate hinsichtlich Sensitivität, Spezifität und Signifikanz (28).

Ziel dieser Arbeit ist die prospektive Analyse der Serum- und Urinkonzentrationen von TATI und der Urinkonzentrationen von NMP 22 von Blasentumor- und Kontrollpatienten und deren Vergleich mit etablierten Methoden der Blasentumordetektion.

Fragestellungen dieser Analyse sind:

1. Welche diagnostische Güte erreichen die Tumormarker TATI und NMP 22 als nicht-invasive Tests für das Harnblasenkarzinoms im Vergleich zu den Standard-Diagnosemethoden?
2. Hat die Kombination von Tumormarkern eine höhere Güte (Sensitivität/Spezifität) in der Diagnose des Blasenkarzinoms als die bisher üblichen Diagnosekriterien?
3. Können anhand der Tumormarker des Harnblasenkarzinoms Aussagen über die Malignität und Invasivität des Tumors getroffen werden?

3. Material und Methoden

3.1 Patientenauswahl

Zur Untersuchung der Tumormarker des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms wurden prospektiv Proben von insgesamt 210 Patienten gesammelt, die sich im Zeitraum von Februar 2003 bis August 2005 in Behandlung der Urologischen Klinik und Poliklinik der Charité Campus Mitte befanden. Eingeschlossen wurden die Patienten, bei denen Symptome den Verdacht eines Urothelkarzinoms stellten, zusätzlich zu denen, die sich im Rahmen eines bekannten Harnblasentumors zu Nachsorgeuntersuchungen vorstellten.

Das durchschnittliche Alter aller Patienten betrug 67 Jahre, wobei die Spannbreite des Alters zwischen 31 und 87 Jahren lag. Aus der geschlechtlichen Verteilung der Patientengruppe ergab sich ein Anteil von 77,14% (n=162) für Männer mit einem Durchschnittsalter von 67,64 Jahren (36-87) und für Frauen ein Anteil von 22,86% (n=48) mit einem durchschnittlichen Alter von 68,63 Jahren (Range 31-85).

	Patientenanzahl (n)	prozentualer Anteil (%)	durchschnittliches Alter (Jahre)
Insgesamt	210	100	67,87
Männlich	162	77,14	67,64
Weiblich	48	22,86	68,63

Tabelle 3.1.1: Auflistung Geschlechts- und Altersverteilung

Jedem Patienten der Gesamtgruppe wurde eine vorher definierte Diagnose zugeordnet. Aus dieser Zuordnung ergaben sich insgesamt fünf zu vergleichende Gruppen. Die Festlegung der Diagnosen erfolgte aufgrund pathohistologischer Untersuchungen anhand der Mikroskopie von Proben der Blase sowie anhand klinischer und paraklinischer Untersuchungsbefunde. Des Weiteren wurde für jeden einzelnen

Patienten eine zytologische Untersuchung durchgeführt, mittels derer maligne Zellen im Urin nachgewiesen werden können.

Die einzelnen Untersuchungsgruppen und die Verteilung der Patienten zu den Diagnosen zeigen sich in der folgenden Tabelle.

Diagnose	n = (% an Gesamtgruppe)	Alter (Range)
Blasentumoranamnese, derzeit kein Malignitätsnachweis	67 (31,90)	66,55 (31-84)
Primärtumor	43 (20,48)	68,26 (56-78)
Rezidivtumor	48 (22,86)	71,5 (39-87)
Andere benigne urologische Erkrankung	34 (16,19)	67,29 (55-80)
Andere maligne Erkrankung	18 (8,57)	63,22 (71-76)
Summe	210 (100)	67,87 (31-87)

Tabelle 3.1.2: Auflistung der Patientenzuordnung

3.2 Probensammlung und Aufbereitung

3.2.1 Art der Proben

Von jedem der 210 Patienten wurden jeweils zwei Urin- und eine Serumprobe gewonnen, die jeweils nach dem zu untersuchenden Tumormarker gemäß den Herstellerangaben aufbereitet und anschließend gelagert wurden. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Probenentnahme vor jeglicher Manipulation am Urogenitaltrakt, wie

z. B. die Anlage eines Dauerkatheters oder einer Zystoskopie, erfolgte. Des Weiteren wurden keine Proben von Patienten in die Versuchsreihe einbezogen, die zuvor intravesikal chemotherapeutisch behandelt wurden.

3.2.2 TATI

Analog der NMP 22 Proben erfolgte auch zur Vorbereitung des TATI Nachweis die Überführung der Urinprobe in ein steriles 4,5 ml PP-Kryoröhrchen, welche bei einer Temperatur von -70°C bis -80°C gelagert wurden.

Die Serumabnahme erfolgte mittels einer Monovette mit gerinnungsfördernder Substanz auf Kunststoffgranulat. Diese wurde geschwenkt und nach maximaler Verweildauer von 120 Minuten in Raumtemperatur weiterverarbeitet. Dazu wurde die Probe in ein steriles 15 ml PP-Röhrchen überführt und zentrifugiert (10 Minuten bei 1300 x g). Der Überstand wurde in ein steriles 4,5 ml PP-Kryoröhrchen pipettiert, beschriftet und bei -70°C bis -80°C gelagert.

Für die Urin- und Serumuntersuchungen wurden jeweils 210 Proben gesammelt.

3.2.3 NMP 22

Die Urinproben wurden in einem sterilen Auffangbehälter gesammelt und sofort mit dem Matritech[®] NMP 22 Urine Collection Vials stabilisiert. Dabei zeigte sich ein Farbwechsel nach blau-grün.

Innerhalb der folgenden 96 Stunden wurden die Proben weiterverarbeitet. Dazu wurden 10 ml des stabilisierten Urins in ein steriles PP-Röhrchen überführt und zentrifugiert (10 Minuten bei 3000 x g). Die Lagerung erfolgte anschließend bei -70°C bis -80°C nach Abpipettieren des Überstandes und Überführen in ein 4,5 ml PP-Kryoröhrchen.

Insgesamt wurden hierbei 112 Proben für den Tumormarker NMP 22 gesammelt.

3.3 TATI Testverfahren

3.3.1 Prinzip des SPECTRIA® TATI RIA

Dieses kompetitive Radio-Immunoassay basiert auf der Coated Tube Technologie der Firma Orion Diagnostica. Hierbei konkurriert eine bekannte Menge an radioaktiv markiertem TATI mit einer unbekanntem Menge an nicht-radioaktiv markiertem TATI in der Probe um die Bindungsstellen der in limitierter Menge vorhandenen korrespondierenden Antikörpern, mit denen die Spectria-Röhrchen beschichtet sind. Durch Auswaschen werden nicht gebundene Antigene entfernt und die Menge an radioaktiv markiertem TATI im Spectria-Röhrchen ist folglich umgekehrt proportional zur Menge des TATI in der Probe. Die Konzentration des TATI in der Probe wird anschließend mittels einer Kalibrationskurve ermittelt.

3.3.2 Vorbereitung der Komponenten des SPECTRIA TATI RIA und der Proben

Für die Rekonstruktion der Kontrollen wurden die Fläschchen zunächst auf Raumtemperatur gebracht und anschließend in 500 µl Aquadest gelöst. Der Inhalt der geschlossenen Fläschchen wurde sorgfältig gemischt und mindestens 60 Minuten ruhen gelassen. Sowohl die Urinproben als auch die Serumproben wurden auf Raumtemperatur gebracht.

3.3.3 Durchführung des Radio-Immunoassays

In jedes der beschichteten Röhrchen wurden 50 µl (SMI Micro/Pettor US. Pat.3,815,790; 50 µl) der TATI Kalibratoren, der Kontrollen oder der Patientenproben pipettiert. Die Röhrchen für die Bestimmung des Leerwertes wurden mit 50 µl eines beliebigen Patientenserums oder Patientenurins gefüllt. Die unbeschichteten Röhrchen der Totalaktivität blieben vorerst leer. Anschließend wurden in jedes Röhrchen 200 µl des Tracers pipettiert. Weiterhin wurden in alle Röhrchen, ausgenommen die der

Totalaktivität und des Leerwertes, 200 µl des TATI-monoklonalen Antikörpers gegeben. In die Leerwertröhrchen wurden 200 µl deionisiertes Wasser pipettiert. Im Anschluss wurden alle Röhrchen kurz geschüttelt, verschlossen und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert.

Nach der Inkubationszeit wurden mit Ausnahme der Totalaktivitätsröhrchen alle Röhrchen dekantiert und auf saugfähigem Papier ausgeklopft. Anschließend fügte man den dekantierten Röhrchen je ein Milliliter Aquadest hinzu. Nach Durchmischen wurden wiederum alle Röhrchen mit Ausnahme der Totalaktivität dekantiert und nochmals ausgeklopft. Mit der Öffnung nach unten blieben die Röhrchen mindestens 5 Minuten stehen bevor diese nochmalig ausgeklopft werden. Im Gammacounter (Multi-Crystal Counter LB 2104) wurde anschließend jedes Röhrchen für mindestens eine Minute gezählt oder eine Zählrate von mindestens 10000 erreicht war.

Volumen	Schritt / Reagenz
50 µl	Der TATI Kalibratoren, Kontrollen oder der Patientenproben in ein beschichtetes Röhrchen
50 µl	Beliebiges Patientenserum/-urin in das beschichtete Röhrchen für die Leerwertbestimmung
200 µl	Tracer in jedes Röhrchen
200 µl	Monoklonaler Antikörper in Kalibrations-, Kontroll- und Probenröhrchen
200 µl	Wasser in Leerwertröhrchen
	Röhrchen schütteln, verschliessen, über Nacht bei Raumtemperatur inkubieren
	Kalibratoren-, Kontroll- und Patientenröhrchen dekantieren und ausklopfen
1 ml	Aqua dest. in Kalibratoren-, Kontrollen-, Proben- und Leerwertröhrchen
	Durchmischen, Kalibratoren-, Kontrollen-, Proben- und Leerwertröhrchen dekantieren und ausklopfen
	Kalibratoren-, Kontrollen-, Patienten- und Leerwertröhrchen umgekehrt mindestens 5 Minuten stehen lassen, nochmalig ausklopfen
	Zählung des radioaktiven Zerfalls im Gammacounter

Tabelle 3.3.3.1 Durchführung des Radio-Immunoassays

3.3.4 Ergebnisberechnung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte durch die Kurvenanpassung mittels des Modells der Spline-Funktion. Für jedes Röhrchen wurde die mittlere Zählrate mit folgender Gleichung berechnet: $\%B/B_0 = \frac{\text{Zählrate Kalibrator oder Probe-Leerwert}}{\text{Zählrate Nullkalibrator} - \text{Leerwert}} \times 100$

Anschließend wurden die TATI Werte der Proben durch Interpolation ihrer %B/B₀-Werte auf der Kalibrationskurve abgelesen.

Die Konzentration von TATI im Urin unterliegt den Schwankungen der Diurese. Um diese Schwankungen auszugleichen, wurde bei Probenentnahme der Kreatininwert der jeweiligen Urinprobe bestimmt und der entsprechende Quotient gebildet.

3.4 NMP 22 Testverfahren

3.4.1 Prinzip des Matritech[®] NMP 22 Enzym-Immunoassays

Das NMP 22 ist ein Antigenanteil des Nuclear Mitotic Apparatus Protein (NuMA), das in malignen Geweben in einer mehr als zehnfach höheren Konzentration als in normalen Geweben nachgewiesen wurde. Im Matritech[®] NMP 22 Enzym-Immunoassay werden Antikörper eingesetzt, die spezifisch für die Kopfdomäne des NuMA dem NMP 22 entsprechend sind und somit das Vorhandensein dieses Antigenanteils nachweisen. Das Assay erkennt sowohl komplexe (>1000 kD) als auch fragmentierte (30 kD) Formen des NuMA im stabilisierten Urin.

3.4.2 Vorbereitung der Komponenten des Matritech® NMP 22 Enzym-Immunoassays und der Proben

Gemäß den Herstellerangaben wurden die Komponenten und die Proben vorbereitet. Zur Testvorbereitung wurden die gekühlt gelagerten Proben auf Raumtemperatur (18°C-25°C) gebracht und nochmals zentrifugiert (1000 x g für 10 Minuten), um Präzipitate zu entfernen. Anschließend folgte die Vorbereitung der Assaykomponenten. Auch diese wurden auf Raumtemperatur erwärmt und vorsichtig durch Schwenken gemischt. Bei der Herstellung der Waschlösung wurde das Waschkonzentrat 1:100 mit deionisiertem Wasser verdünnt. Des Weiteren erfolgte die Vorbereitung einer 2 Molaren (4-Normalen) Schwefel-Stopplösung. Die im Testkit vorhandenen Standards und Kontrollen wurden je in 2 ml deionisiertem Wasser gelöst und 10 Minuten bei Raumtemperatur verschlossen, ruhen gelassen und anschließend gedreht und geschwenkt, so dass sich das Lyophilisat vollständig auflöste.

3.4.3 Durchführung des Enzym-Immunoassays

Zu Beginn des Tests wurde die Mikrotiterplatte, bestehend aus zwölf Streifen mit je acht Kavitäten und mit Maus-monoklonalem-anti-NMP 22 beschichtet, drei Mal mit der Waschlösung behandelt, die anschließend vollständig entfernt wurde. Von jedem Standard, jeder Kontrolle, dem Leerwert und den Proben wurden 200 µl/Kavität im Duplikat gegeben und bei Raumtemperatur über zwei Stunden inkubiert.

Nach der Inkubationszeit wurde die Streifenplatte erneut gewaschen. Anschließend wurde pro Kavität 200 µl DIG-Anti-NMP22-Reagenz hinzugegeben, das digoxigeninmarkierte Maus-monoklonale Anti-NMP22 enthält, und für eine weitere Stunde inkubiert. Nach einem weiteren Waschgang wurden 200 µl pro Kavität des HRP-SAD-Reagenz, bestehend aus Meerrettich-Peroxidase-markierten Schaf-Anti-digoxigenin-Antikörpern, hinzugefügt. Nach Ablauf von 30 Minuten Inkubationszeit wurden die Teststreifen gewaschen und pro Kavität 200 µl OPD-Lösung, einem Gemisch aus Wasserstoffperoxid in Zitrat-Phosphatpuffer und o-Phenylenediamin, hinzugegeben. Für die Farbentwicklung wurde die Mikrotiterplatte für 30 Minuten ins Dunkle gestellt und anschließend die Reaktion mit 50 µl pro Kavität 2M (4N) Schwefelsäure gestoppt. Innerhalb von 10 bis 30 Minuten wurde nun die Absorption mit

einem Photometer bei 492 nm gemessen, welches mittels Leerwert aus deionisiertem Wasser auf „Null Absorption“ kalibriert wurde.

Volumen pro Kavität	Schritte/Reagenz	Inkubationszeit
	3 x Waschen mittels Waschlösung	
	Entfernen der Waschlösung	
200 µl	Standard, Kontrolle, Probe Alles in Duplikat	2 Stunden
	3 x Waschen	
200 µl	DIG-Anti-NMP22-Reagenz	1 Stunde
	3 x Waschen	
200 µl	HRP-SAD-Reagenz	30 Minuten
	3 x Waschen	
	OPD-Lösung zur Farbentwicklung	30 Minuten Dunkel
50 µl	2M (4N) Schwefelsäure Reaktionsstopp	10 bis 30 Minuten Dunkel
	Messung der Absorption bei 492nm	

Tabelle 3.4.3.1 Durchführung des Enzym-Immunoassays

3.4.4 Ergebnisberechnung

Zur Berechnung der Ergebnisse wurden Computerprogramme herangezogen. Mittels einer Punkt zu Punkt Kurvenanpassung erfolgt die Erstellung der Standardkurve. Unter Anwendung dieser Standardkurve wurden die Ergebnisse der untersuchten Proben ermittelt. Vergleichsweise wurde die Standardkurve ebenfalls mit 4-Parameter-Logistikfit, einer linearen Regressionsanalyse, dargestellt und die zugehörigen Probenergebnisse zugeordnet.

3.5 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe verschiedener Programme wie SPSS 12.0, MedCalc 7 und Graph Pad Prism 4.00. Für die Selektion wichtiger Einflussgrößen wurde als nicht-parametrischer Test der Mann-Whitney-Test angewandt. Zur Berechnung der Güte der Test wurden ROC Kurven erstellt sowie die Sensitivität, Spezifität und die Fläche unter der Kurve bestimmt.

Als nicht signifikant wurden Ergebnisse auf dem Signifikanzniveau von größer gleich 0,05; als signifikant $<0,05$; als sehr signifikant kleiner als 0,01 und als höchstsignifikant kleiner als 0,001 eingestuft.

Der Einfluss des Alters sowie des Geschlechtes auf die jeweiligen Tumormarker und die Zytologie wurden mittels des Tests of Between-Subjects-Effects ermittelt.

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte vor allem mittels Box-Plots.

4. Ergebnisse

Bezüglich der Tumormarkerdetektion an oberflächlichen Blasenkarzinomen wurden die gesammelten Proben hinsichtlich TATI-Urinkonzentration, TATI-Serumkonzentration, NMP22-Konzentration und der dazugehörigen Zytologie untersucht. Weiterhin wurde der Einfluss des Alters und des Geschlechts überprüft.

Insgesamt wurden Proben von 210 Patienten in die Versuchsreihe aufgenommen. Die folgende Abbildung 4.1 zeigt die Aufteilung der Diagnosegruppen des Patientenkollektivs bezüglich des Alters.

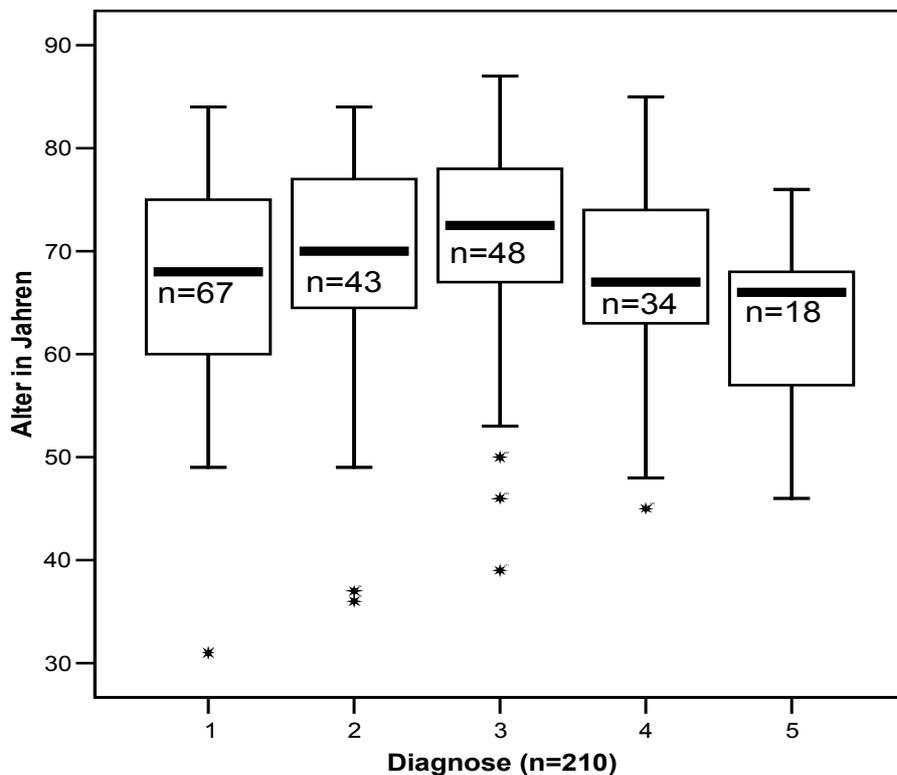


Abb. 4.1: Verteilung des Patientenkollektivs bezüglich der Diagnosegruppen

1= anamnestisch Blasentumor, derzeit kein Malignitätsnachweis

2= Primärtumor

3= Rezidivtumor

4= andere benigne urologische Erkrankung

5= andere maligne Erkrankung

Ergebnisse

Von diesen 210 Patienten waren 162 männlich und 48 weiblich. Das durchschnittliche Alter betrug 67,87 Jahre (Range 31-87). An Blasen-tumor erkrankt waren zum Untersuchungszeitpunkt 91 der 210 Patienten, die entweder ein Primärtumor (n=43) oder Rezidivtumor (n=48) aufwiesen. Die anderen Diagnosegruppen (n=119) wurden teilweise als gesund im Vergleich zu den Blasen-tumorpatienten angesehen, spezifisch als krank oder als andere maligne Erkrankung definiert.

Die folgende Darstellung (Tabelle 4.1) gibt Aufschluss über die Verteilung der einzelnen Diagnosegruppen.

Diagnose	Anamnestisch Blasen-tumor, derzeit kein Malignitäts- nachweis	Primärtumor	Rezidivtumor	Andere benigne urologische Erkrankung	Andere maligne Erkrankung
n	67	43	48	34	18
Geschlecht					
weiblich	12	10	12	13	17
männlich	55	33	36	21	1
Alter (MW)					
weiblich (Range)	63,25 (31-80)	76,3 (56-84)	68,4 (39-80)	67,7 (55-85)	71 (71)
männlich (Range)	67,3 (49-84)	65,8 (36-78)	72,5 (46-87)	67,1 (45-80)	62,8 (46-76)
T-Stadium					
Ta/T1		27	41		
T2-T4		14	7		
Cis		2	0		
Zelldifferen- zierung					
GI		7	18		
GII-GIII		36	30		
Zytologie					
positiv	9	25	17	4	2
negativ	58	18	31	30	16

Tabelle 4.1: Verteilung der Diagnosegruppen

4.1 TATI in Seren von Blasentumorpatienten

Allgemein kann hierbei nachgewiesen werden, dass die Konzentration von TATI im Serum von Patienten mit Tumorerkrankungen höher ist als die Konzentration von TATI im Serum von Nicht-Tumorpatienten.

Die nachfolgende Abbildung 4.1.1 zeigt die Verteilung der TATI Serumkonzentration im Hinblick der aufgestellten Untersuchungsgruppen.

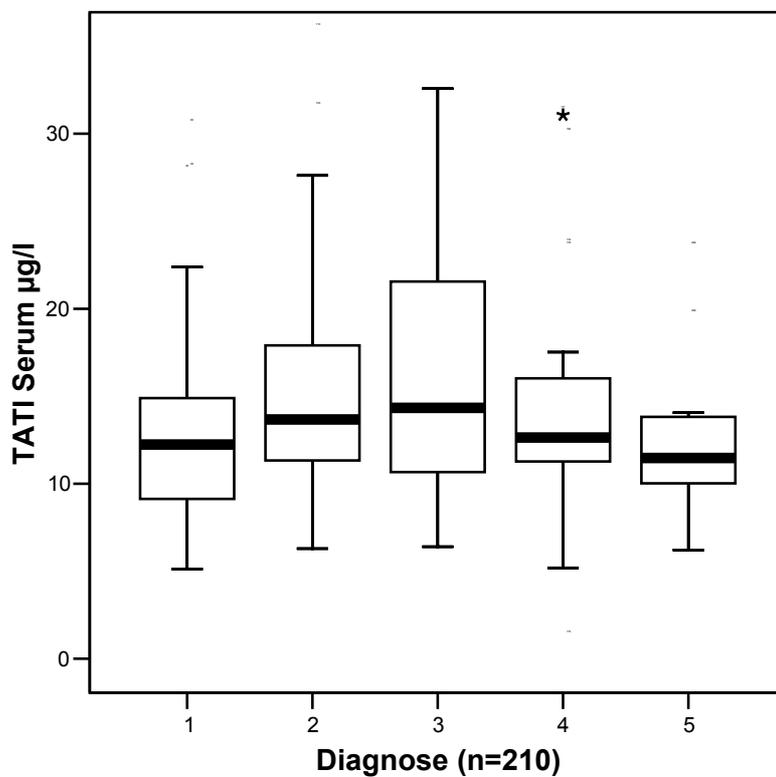


Abb. 4.1.1: Verteilung der Diagnosegruppen bezüglich der TATI-Serumkonzentration

1= anamnestisch Blasentumor, derzeit kein Malignitätsnachweis

2= Primärtumor

3= Rezidivtumor

4= andere benigne urologische Erkrankung

5= andere maligne Erkrankung

Weiterhin zeigt sich ein signifikanter Unterschied bei dem Vergleich Blasen-tumorpatienten mit nicht-Blasen-tumorpatienten ($n=210$; $p=0,003$) bezüglich der TATI-Serumkonzentration, wie sich in der Abbildung 4.1.2 widerspiegelt. Dieser bleibt ebenfalls bei der Betrachtung Blasen-tumorpatienten und gesunde Kontrollgruppe bestehen ($n=158$; $p=0,003$), wie die Abbildung 4.1.3 zeigt.

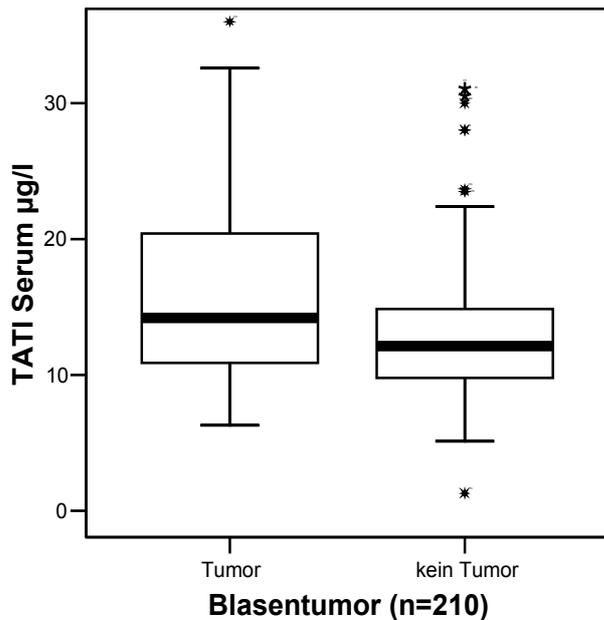


Abb. 4.1.2: Vergleich TATI-Serumkonzentration Blasen-tumorpatienten und nicht-Blasen-tumorpatienten

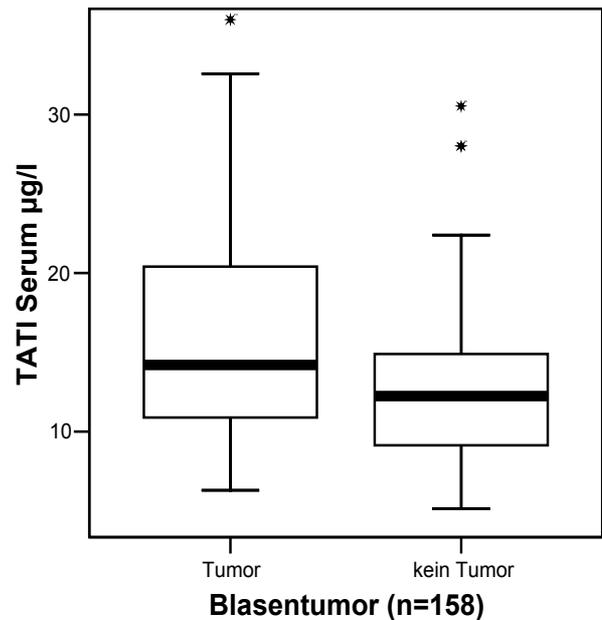


Abb. 4.1.3: Vergleich TATI-Serumkonzentration Blasen-tumorpatienten und gesunde Kontrollgruppe

Bezieht man in die Gruppe der Tumorpatienten auch andere Tumorerkrankungen ein, bleibt eine Signifikanz bei der Gegenüberstellung Tumorpatienten und nicht-Tumorpatienten bestehen ($n=210$, $p=0,018$). Auch bei der Konfrontation „krank“ und „gesund“ ergibt sich ein Unterschied ($n=210$, $p=0,017$) in der Konzentration des TATI im Serum.

Eine höhere Expression von TATI im Serum bei Patienten mit Primärtumor im Vergleich zu Patienten, die einen Rezidivtumor aufweisen, kann nicht aufgezeigt werden ($n=91$, $p=0,697$).

Beim Vergleich Primärtumor (n=43) und gesunde Kontrollgruppe (n=67) ergab sich ein signifikanter Unterschied von $p=0,02$ (Abbildung 4.1.4); der Konzentrationsunterschied ist beim Vergleich der Rezidivgruppe mit der Kontrollgruppe noch verstärkt ($p=0,007$)

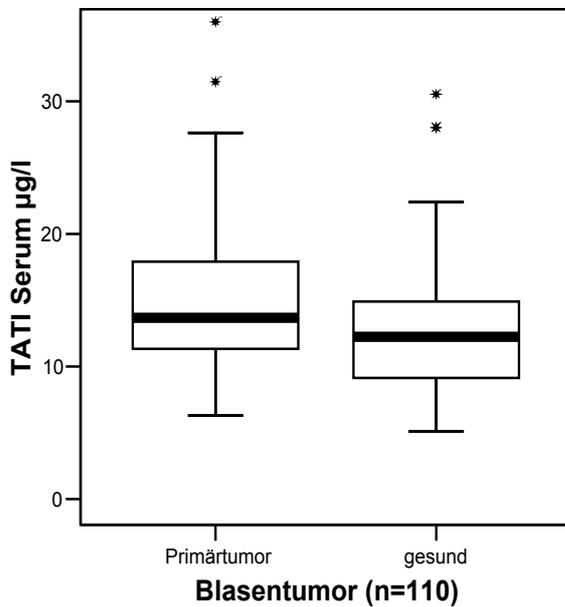


Abb. 4.1.4: Vergleich TATI-Serumkonzentration Primärtumor und gesunde Kontrollgruppe

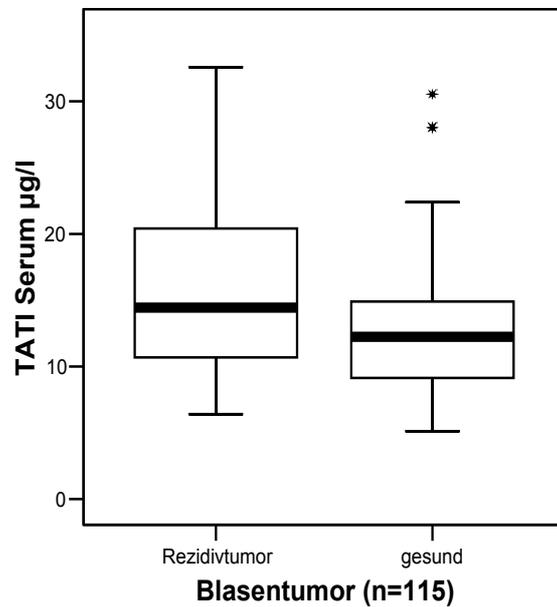


Abb. 4.1.5: Vergleich TATI-Serumkonzentration Rezidivtumore und gesunde Kontrollgruppe

In der Analyse der einzelnen Tumorstadien ergeben sich keine bedeutenden Unterschiede (Ta vs T2-T4 n=72, $p=0,163$; Ta/T1 vs T2-T4 n=89, $p=0,339$).

Bei den lokal fortgeschrittenen Tumoren zeigt sich eine Sensitivität von 66,67% (größer und gleich T2; 14 von 21), bei den oberflächlichen Tumoren nur von 57,14% (Cis, Ta, T1; 40 von 70) (Abbildung 4.1.6)

Auch die Gegenüberstellung der Zelldifferenzierung erbringt keine Signifikanz der TATI-Konzentration im Serum (GI vs GIII n=54, $p=0,157$). Dieses Ergebnis zeigt sich in Abbildung 4.1.7. Bei den anhand des Zellbildes als hochdifferenziert klassifizierten Karzinomen sind 13 von 25 als richtig positiv erkannt (52%), bei den schlechter differenzierten Karzinomen findet sich ein Prozentsatz von 68,96% als richtig positiv (20 von 29) erkannt wieder.

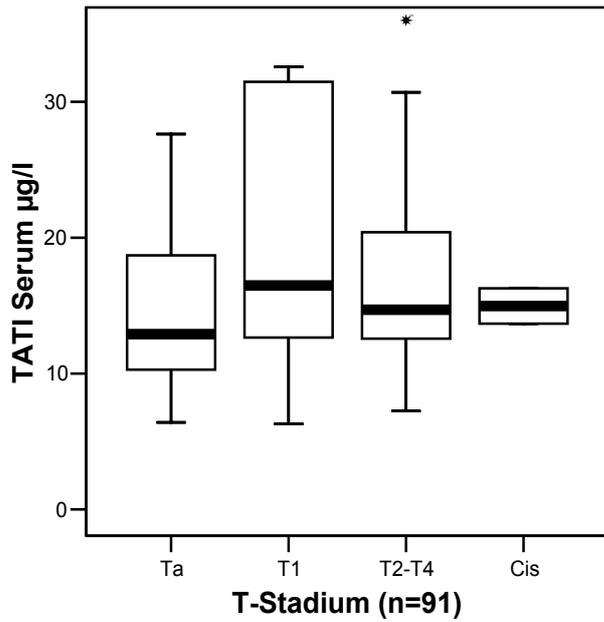


Abb. 4.1.6: Verteilung der TATI-Serumkonzentrationen bezüglich der Tumorstadien

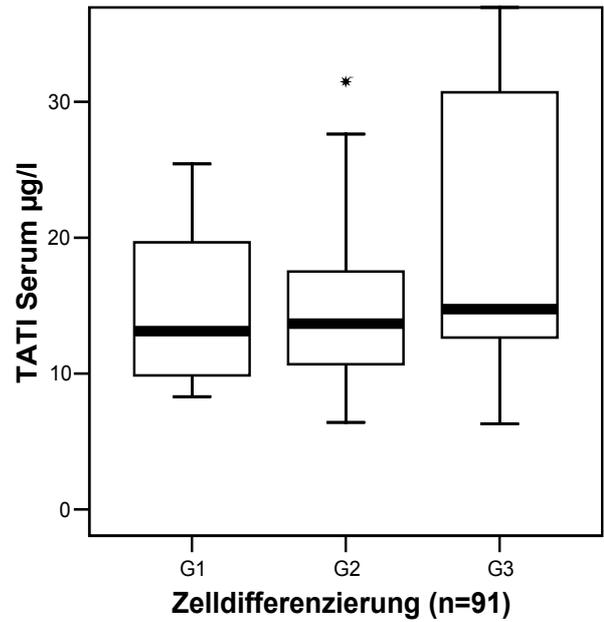


Abb. 4.1.7: Verteilung der TATI-Serumkonzentrationen bezüglich der Zelldifferenzierung

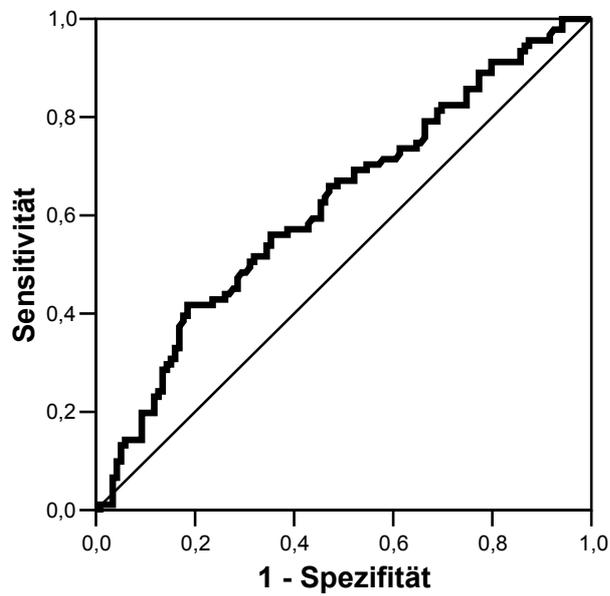


Abb. 4.1.8: ROC-Kurve TATI Serum (n=210)
AUC 0,62

Die Wahl des Cut-Offs bei 12,87 µg/l ergibt eine Sensitivität von 59,3 % und eine Spezifität von 56,3 % (n=210; AUC 0,62), dargestellt in Abbildung 4.1.8. Es ergibt sich eine Rate von 59,34 % als richtig positiv erkannte Proben (54 von n=91) bei den Tumorpatienten und ein Anteil von 37 an 91 an falsch negativ identifizierten Fälle (37 von n=91; 40,66 %).

Bei der Gruppe der falsch negativ identifizierten Fällen hatten die Primärtumore eine Rate von 41,86 % (18 von n=43). Bei den Rezidivtumoren lag der Anteil der als nicht tumorerkrankt kategorisierten Fälle bei 39,58 % (19 von n=48).

Bei der Betrachtung der Kontrollgruppen zeigt sich eine Anzahl von 67 (n=119; 56,3%) an richtig negativen und 52 (n=119; 43,7%) an falsch positiven Werten auf.

Die falsch positiv gewerteten Fälle ergaben sich aus 17 Proben (n=34; 50%) der benignen urologischen Erkrankungen, 28 Proben (n=67; 41,79 %) der Gruppe, die anamnestisch ein Blasen-tumor aufwiesen, derzeit jedoch kein Malignitätsnachweis aufzeigten, und 7 Fällen (n=18; 38,89 %) aus der Kontrollgruppe der anderen malignen Erkrankungen.

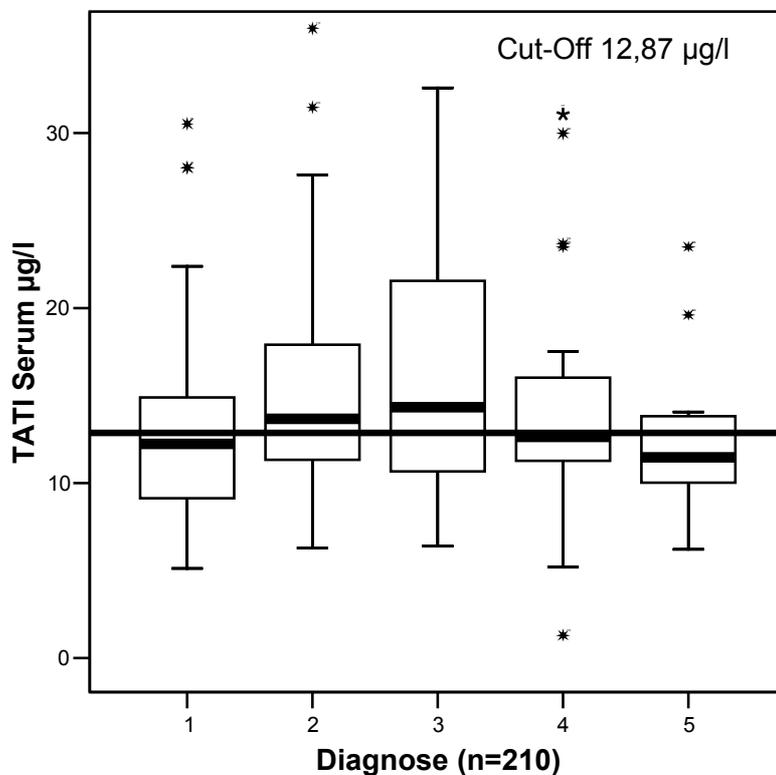


Abb. 4.1.9: Verteilung der TATI-Serumkonzentrationen bezüglich der Diagnosegruppen mit festgelegtem Cut-Off von 12,87µg/l

- 1= anamnestisch Blasentumor, derzeit kein Malignitätsnachweis
- 2= Primärtumor
- 3= Rezidivtumor
- 4= andere benigne urologische Erkrankung
- 5= andere maligne Erkrankung

Der Hersteller des TATI Radioimmunoassays (Spectria®; Orion Diagnostica, Finland) definiert ab einer Konzentration von größer als 18 µg/l die Probe bezüglich eines bestehenden Blasentumors als positiv.

In der gesamten untersuchten Gruppe (n=210) werden mit Hilfe dieses Cut-Offs 44 Proben (20,95 %) als positiv erkannt, jedoch sind nur 27 davon als richtig positiv definiert.

Bei den Primärtumoren liegt die Rate der richtig positiven Fälle bei 11 von 43 (25,58 %), bei den Rezidivtumoren liegt der prozentuale Anteil bei 33,3 % mit einem Anteil von 16 an 48 richtig positiven Fällen.

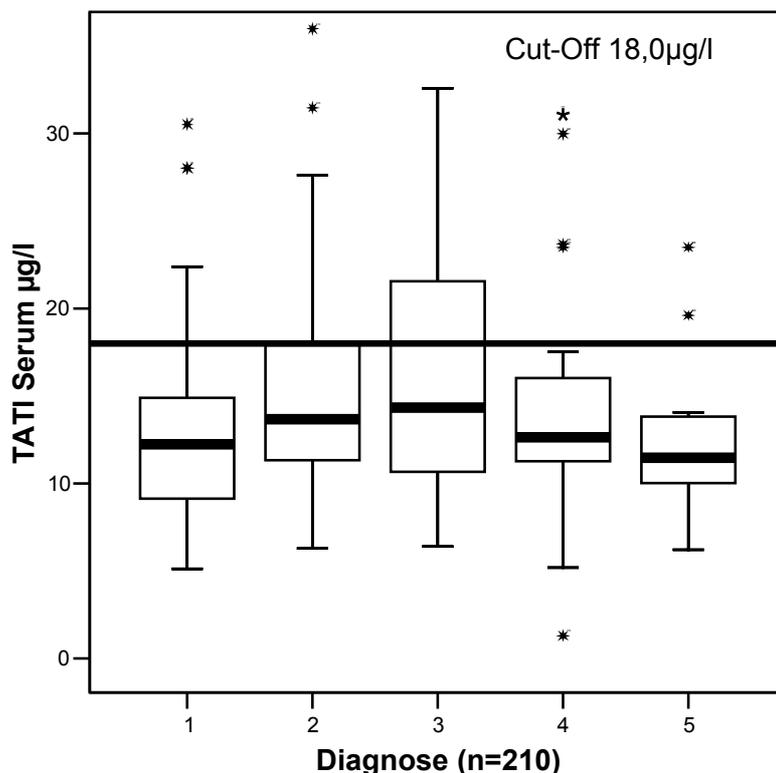


Abb. 4.1.10: Verteilung der TATI-Serumkonzentrationen bezüglich der Diagnosegruppen mit festgelegtem Cut-Off von 18,00µg/l

Ergebnisse

- 1= anamnestisch Blasentumor, derzeit kein Malignitätsnachweis
- 2= Primärtumor
- 3= Rezidivtumor
- 4= andere benigne urologische Erkrankung
- 5= andere maligne Erkrankung

Die Sensitivität beträgt für diesen Cut-Off 28,57 % und die Spezifität 85,71 % (95 % CI 0,551-0,686; n=210). Die Fläche unter der Kurve (AUC) beträgt hierbei 0,6204.

Die folgenden Tabellen 4.1.1 und 4.1.2 fassen die gesamten Ergebnisse zusammen.

Test	Probe	Vergleich	n	Statistik	p=	AUC	Cut-Off	Sensitivität	Spezifität
TATI	Serum	Blasentumor vs kein Blasentumor	210	ROC MW	 0,003	0,62	12,87 µg/l	59,3 %	56,3 %

Tabelle 4.1.1: TATI-Serumkonzentration Gesamtergebnisse

Test	Probe	Vergleich	n	Statistik	p=
TATI	Serum	Tumor vs kein Tumor	210	MW	0,018
	Serum	krank vs gesund	210	MW	0,017
	Serum	Primärtumor vs Rezidiv	91	MW	0,697
	Serum	Tumor- anamnese vs Primärtumor	110	MW	0,024
	Serum	Tumor- anamnese vs Rezidiv	115	MW	0,007
	Serum	Tumoranam- nese vs Blasentumor	158	MW	0,003
	Serum	Ta vs T2-T4	72	MW	0,163
	Serum	Ta/T1 vs T2-	89	MW	0,339

		T4			
	Serum	GI vs GIII	54	MW	0,157

Tabelle 4.1.2 TATI-Serumkonzentration Gesamtergebnisse

4.2 TATI im Urin von Blasenmorpapatienten

Die TATI Urinkonzentrationen unterliegen starken Schwankungen. Frei von den Glomeruli filtrierte und teilweise von den Tubuli reabsorbiert sind die Urinkonzentrationen des TATI zwei- bis dreifach im Vergleich zu den TATI-Serumkonzentrationen erhöht und schwanken in Abhängigkeit von der Diurese. Daher wurden durch Bildung des Quotienten mit Kreatinin die gemessenen Urinkonzentrationen des TATI korrigiert. Die nachfolgende Abbildung 4.2.1 zeigt die Verteilung der TATI-Urinkonzentration in Hinblick der aufgestellten Untersuchungsgruppen.

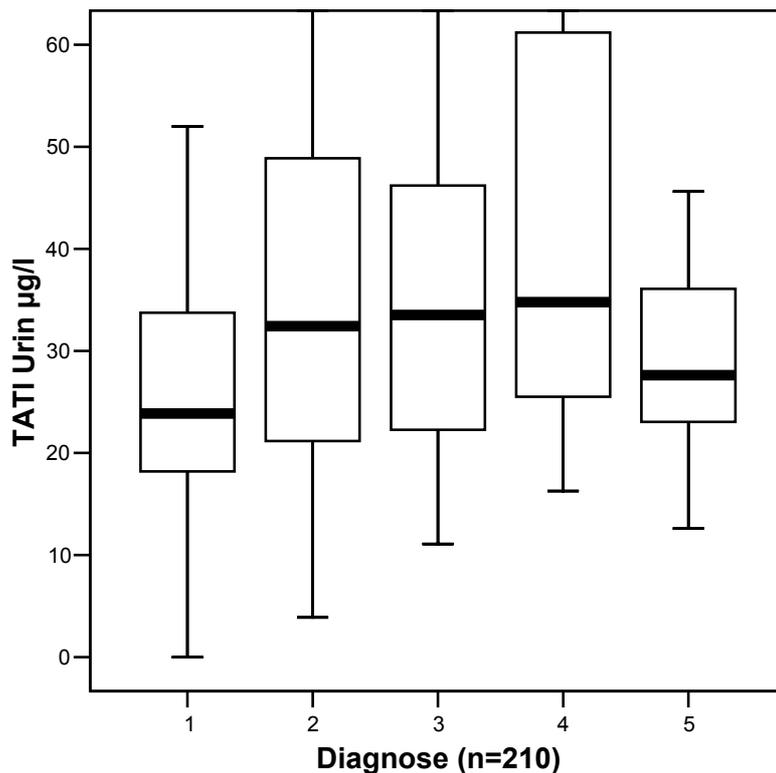


Abb. 4.2.1: Verteilung der Diagnosegruppen bezüglich der TATI-Urinkonzentration

1= anamnestisch Blasenmorpapatient, derzeit kein Malignitätsnachweis

2= Primärtumor

3= Rezidivtumor

4= andere benigne urologische Erkrankung

5= andere maligne Erkrankung

Die Urinkonzentration des TATI ist bei Blasen-tumorpatienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpatienten erhöht.

Bei der Gegenüberstellung der Blasen-tumorpatienten (n=158; Primärtumor und Rezidivtumor) und der gesunden Kontrollgruppe (anamnestisch Blasen-tumor, derzeit kein Malignitätsnachweis), ergibt sich ein sehr signifikanter Unterschied (p=0,003) der TATI-Urinkonzentrationen.

Dieser Unterschied wird bei dem Vergleich Primärtumor und gesunde Kontrollgruppe (n=110, p=0,0168) (Abbildung 4.2.2) sowie Rezidivtumor und gesunde Kontrollgruppe (n=115, p=0,0102) (Abbildung 4.2.3) bestätigt.

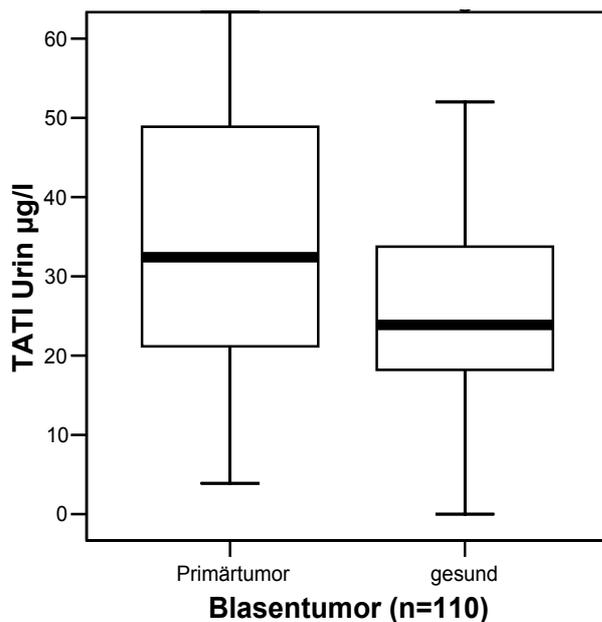


Abb. 4.2.2: Vergleich TATI-Urinkonzentration Primärtumor und gesunde Kontrollgruppe

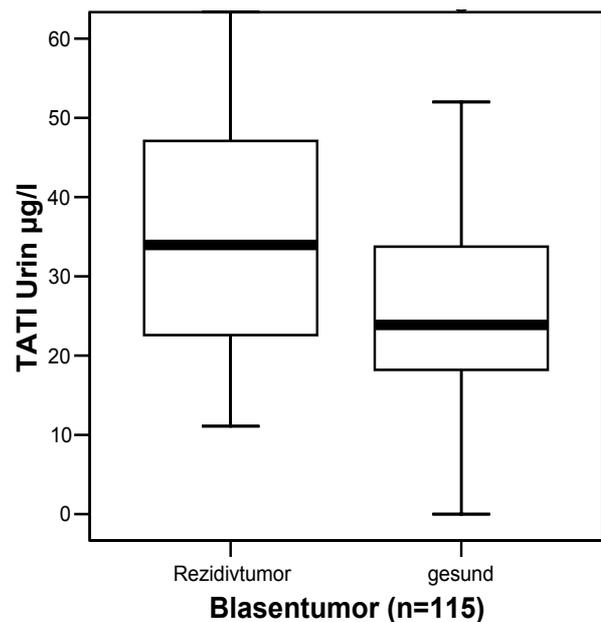


Abb. 4.2.3: Vergleich TATI-Urinkonzentration Rezidivtumor und gesunde Kontrollgruppe

Es kann kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen Primärtumor und Rezidivtumor aufgezeigt werden (n=91, p=0,943), wie sich in Abbildung 4.2.4 aufzeigt.

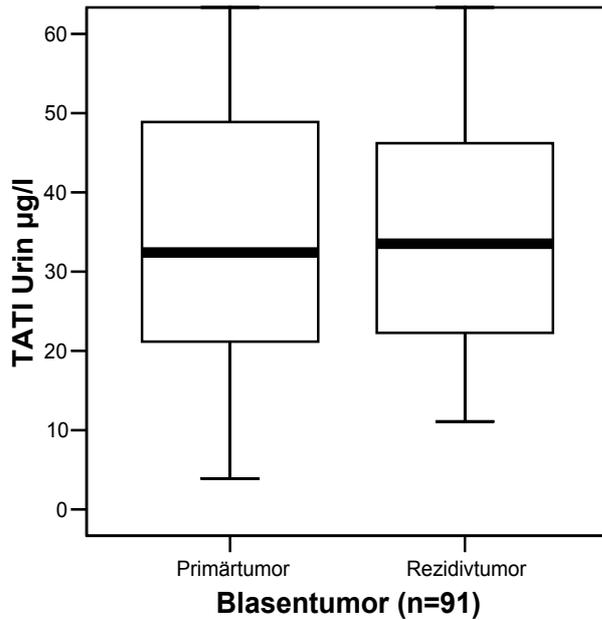


Abb. 4.2.4: Vergleich TATI-Urinkonzentration Primärtumor und Rezidivtumor

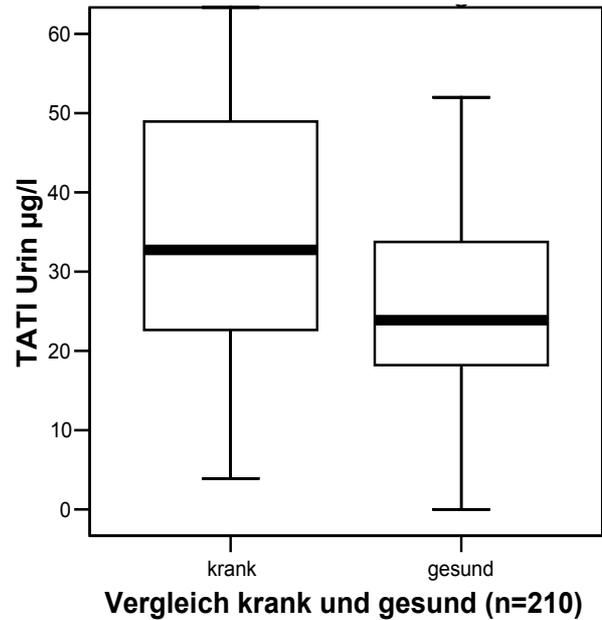


Abb. 4.2.5: Vergleich TATI-Urinkonzentration krank und gesund

Bei der Gegenüberstellung krank und gesund in Abbildung 4.2.5 können sogar höchstsignifikante Unterschiede aufgezeigt werden ($n=210$, $p=0,0003$).

Wird die Kontrollgruppe um andere benigne und maligne Erkrankungen erweitert, verschwindet diese Signifikanz. So ergibt sich weder bei dem Vergleich Blasen-tumor-erkrankte mit nicht-Blasen-tumor-erkrankte ($n=210$, $p=0,119$), noch bei der Untersuchung Tumorpatienten und nicht-Tumorpatienten ($n=210$, $p=0,1378$) ein bedeutender Unterschied.

Bei der detaillierten Betrachtung des TATI-Urinspiegels im Hinblick auf das Tumorstadium und den Grad der Zelldifferenzierung ergeben sich keine signifikanten Unterschiede. Vergleicht man die Konzentration zwischen Ta und T2 bis T4 ergibt sich ein $p=0,706$ ($n=72$), zwischen Ta und T1 im Vergleich zu T2 bis T4 ein $p=0,588$ ($n=89$). Bei den lokal fortgeschrittenen Harnblasentumoren werden insgesamt 57,14% richtig zugeordnet (12 von 21), bei den oberflächlichen Tumoren zeigen sich bei 61,42% (43 von 70) eine erhöhte Konzentration der TATI-Urinspiegel. Die Gegenüberstellung von GI zu GIII ergibt ein p von 0,696 ($n=54$). Dabei zeigen 64% der GI differenzierten

Proben (16 von 25) und 65,52% der GIII differenzierten Proben (19 von 29) eine erhöhte Konzentration an TATI.

Die nachfolgenden Abbildungen 4.2.6 und 4.2.7 stellen diese Ergebnisse dar.

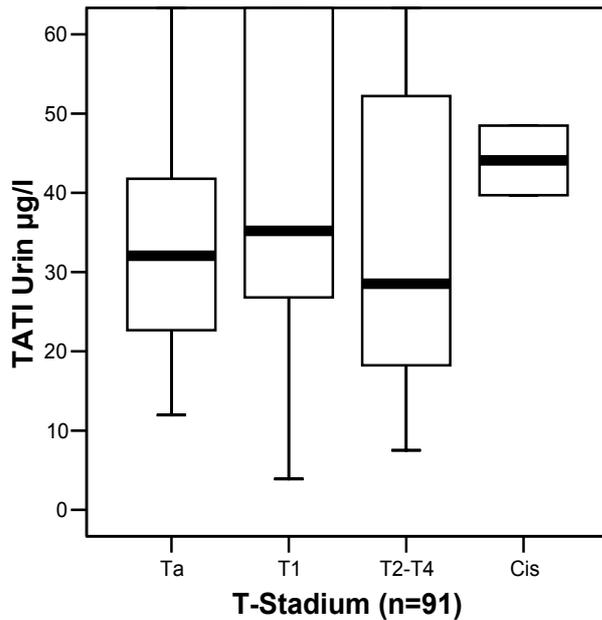


Abb. 4.2.6: Verteilung TATI-Urinkonzentration bezüglich der Tumorstadien

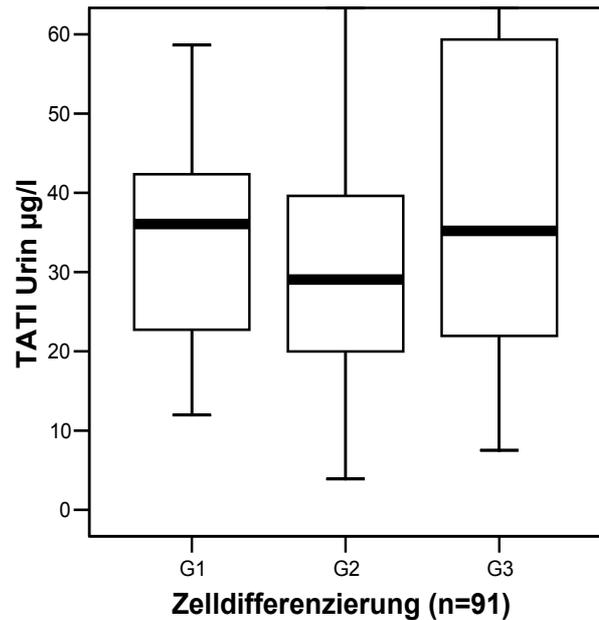


Abb. 4.2.7: Verteilung TATI-Urinkonzentration bezüglich der Zelldifferenzierung

Bei einer Konzentration von größer als $28\mu\text{g/l}$ für die TATI Urinkonzentration ergibt sich bei der signifikant relevanten Untersuchungsgruppe eine Sensitivität von 60,4% und eine Spezifität von 59,7% (95% CI 0,552-0,725; $n=158$; AUC 0,639).

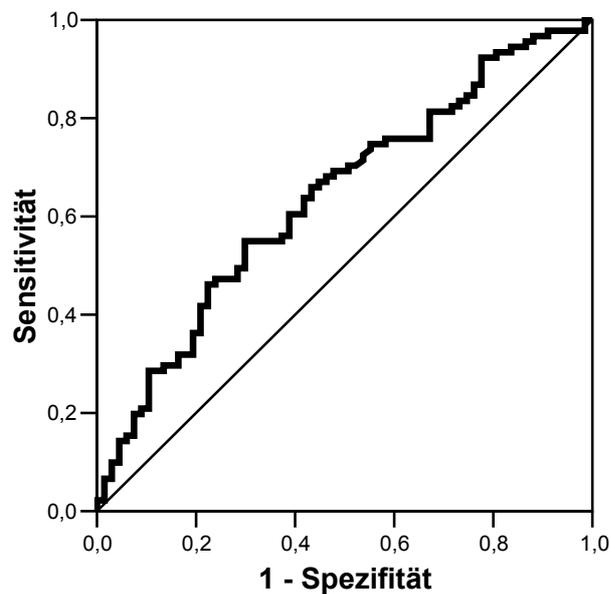


Abb. 4.2.8: ROC-Kurve TATI Urin
AUC 0,639

Bei diesem selbst gewählten Cut-Off erscheinen insgesamt 83 Proben als tumorpositiv (n=158, 52,53%). Von diesen Proben bestätigen sich 55 als richtig positiv bei den Tumorpatienten (n=91, 60,43%).

Die Rate der falsch negativen Untersuchungen liegt bei 39,56% (36 von n=91). Dabei nehmen die Primärtumore einen Anteil von 15,38% (14 von insgesamt n=91; 32,55% bei n=43) ein, bei den Rezidivtumoren ergibt sich ein Rate von 24,17% (22 von n=91; 45,83% bei n=48) an falsch negativen Ergebnissen.

In der Kontrollgruppe (n=67) erweisen sich 39 der Proben als richtig negativ mit einer entsprechenden Rate von 58,2% (24,68% bei n=158). Falsch positiv sind folglich 41,79% (28 von n=67; 17,72% bei n=158).

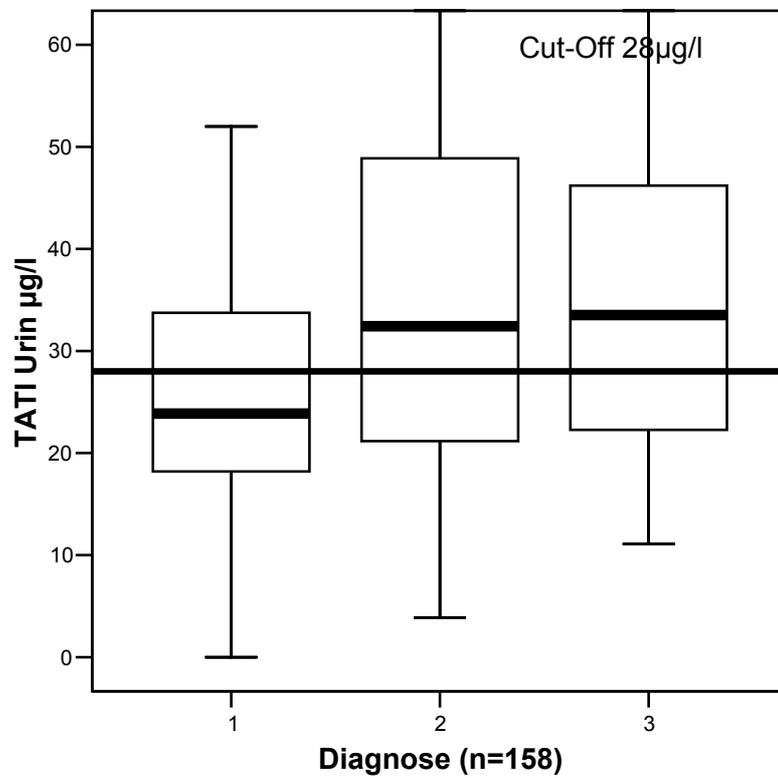


Abb. 4.2.9: Verteilung der TATI-Urinkonzentrationen bezüglich der Diagnosegruppen mit festgelegtem Cut-Off von 28,00µg/l

1= anamnestisch Blasen tumor, derzeit kein Malignitätsnachweis

2= Primärtumor

3= Rezidivtumor

Ab einer Konzentration von größer als 34 µg/l TATI im Urin von Testpersonen definiert der Hersteller die Probe als positiv bezüglich der Detektion des Blasentumors.

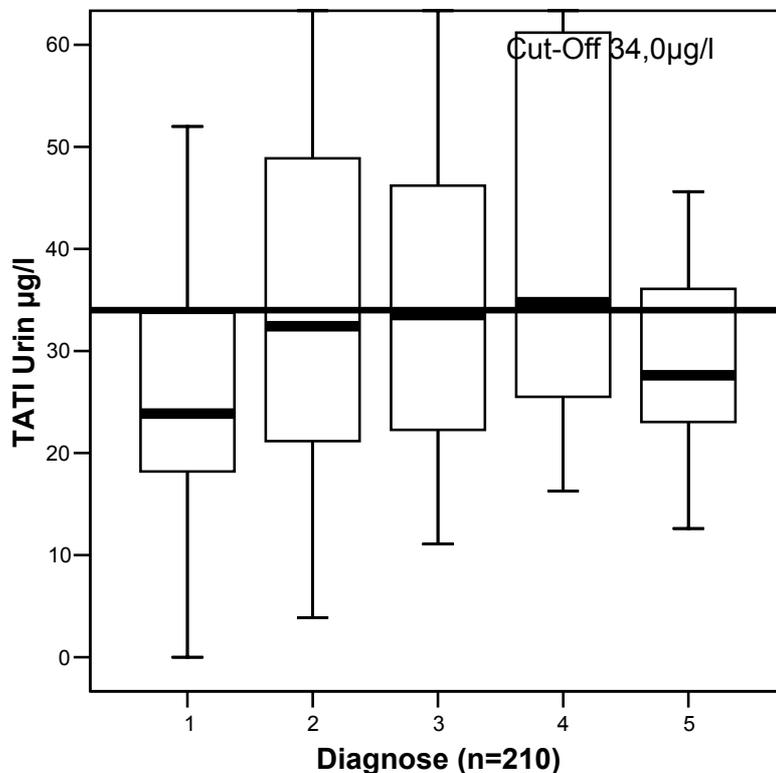


Abb. 4.2.10: Verteilung der TATI-Urinkonzentrationen bezüglich der Diagnosegruppen mit festgelegtem Cut-Off von 34,00µg/l

1= anamnestisch Blasentumor, derzeit kein Malignitätsnachweis

2= Primärtumor

3= Rezidivtumor

4= andere benigne urologische Erkrankung

5= andere maligne Erkrankung

Für diesen Wert ergibt sich für die gesamte Untersuchungsgruppe eine Sensitivität von 46,15% und Spezifität von 68,91% (95% CI 0,493-0,631; n=210; AUC 0,563).

In dem untersuchten Patientenkollektiv sind somit 81 Proben als positiv erkannt (n=210; 38,57%), von denen 42 als richtig positiv erfasst wurden (n=91; 46,15%). Die Rate der richtig positiven Fälle liegt bei den Rezidivtumoren mit insgesamt 53,49% (n=43) höher als die der Primärtumore mit 39,58% (n=48).

Ergebnisse

Zusammenfassend stellen die folgenden Tabellen 4.2.1 und 4.2.2 die Ergebnisse nochmals dar.

Test	Probe	Vergleich	n	Statistik	p=	AUC	Cut-Off	Sensitivität	Spezifität
TATI	Urin	Blasentumor vs kein Blasentumor	210	ROC Mann Whitney	0,119	0,563	n.s.		
	Urin	Tumoranamnese vs Blasentumor	158	ROC Mann Whitney	0,003	0,639	28 µg/l	60,4%	59,7%

Tabelle 4.2.1: TATI-Urinkonzentration Gesamtergebnisse

Test	Probe	Vergleich	n	Statistik	p=
TATI	Urin	Tumor vs kein Tumor	210	Mann Whitney	0,1378
	Urin	krank vs gesund	210	Mann Whitney	0,0003
	Urin	Primärtumor vs Rezidiv	91	Mann Whitney	0,943
	Urin	Tumoranamnese vs Primärtumor	110	Mann Whitney	0,0168
	Urin	Tumoranamnese vs Rezidiv	115	Mann Whitney	0,0102
	Urin	Ta vs T2-T4	72	Mann Whitney	0,706
	Urin	Ta/T1 vs T2-T4	89	Mann Whitney	0,588
	Urin	GI vs GIII	54	Mann Whitney	0,696

Tabelle 4.2.2: TATI-Urinkonzentration Gesamtergebnisse

4.3 NMP 22 im Urin von Blasen tumorpatienten

Die Konzentrationen von NMP 22 im Urin von Blasen tumorpatienten sind sehr signifikant erhöht im Vergleich zu Patienten ohne Blasen tumor ($n=112$, $p=0,001$). Die folgende Abbildung 4.3.1 zeigt die Verteilung der NMP 22 Konzentrationen in den von uns definierten Untersuchungsgruppen.

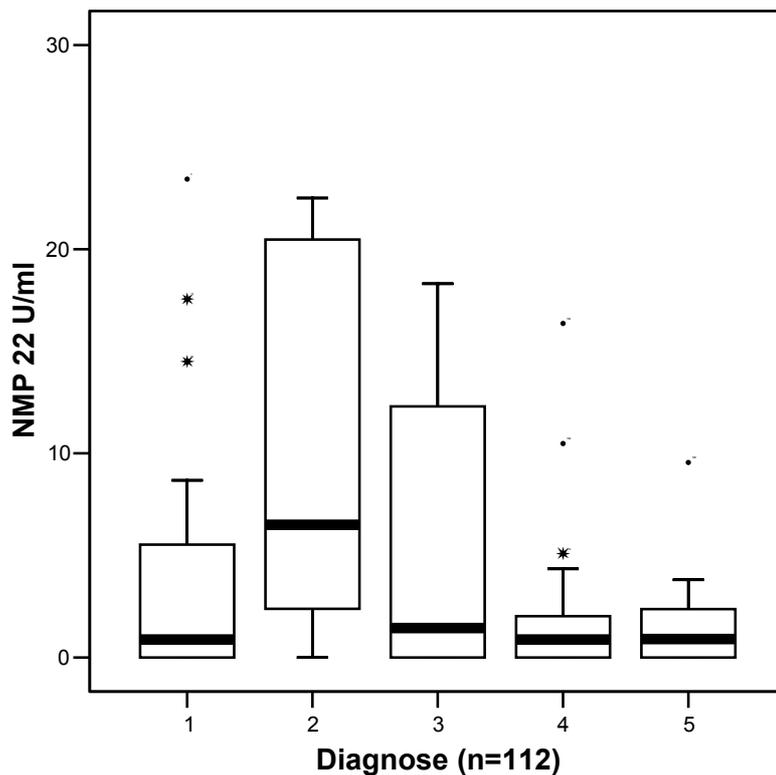


Abb. 4.3.1: Verteilung der Diagnosegruppen bezüglich der NMP 22-Konzentration

1= anamnestisch Blasen tumor, derzeit kein Malignitätsnachweis

2= Primärtumor

3= Rezidivtumor

4= andere benigne urologische Erkrankung

5= andere maligne Erkrankung

Der einfache Vergleich zwischen Blasen tumorpatienten ($n=45$) und gesunder Kontrollgruppe ($n=26$) in Abbildung 4.3.2 zeigt ebenfalls einen signifikanten Unterschied bezüglich der Blasen tumordetektion auf ($p=0,044$). Werden in die Gruppe der Blasen tumorpatienten auch andere maligne Erkrankungen einbezogen, bleibt eine Signifikanz erhalten ($n=112$, $p=0,32$) (Abbildung 4.3.3).

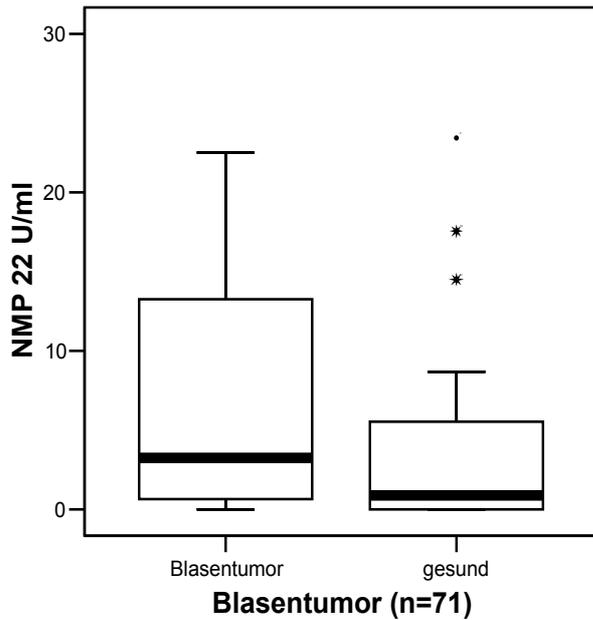


Abb. 4.3.2: Vergleich NMP 22-Konzentration Blasentumorpatienten und gesunde Kontrollgruppe

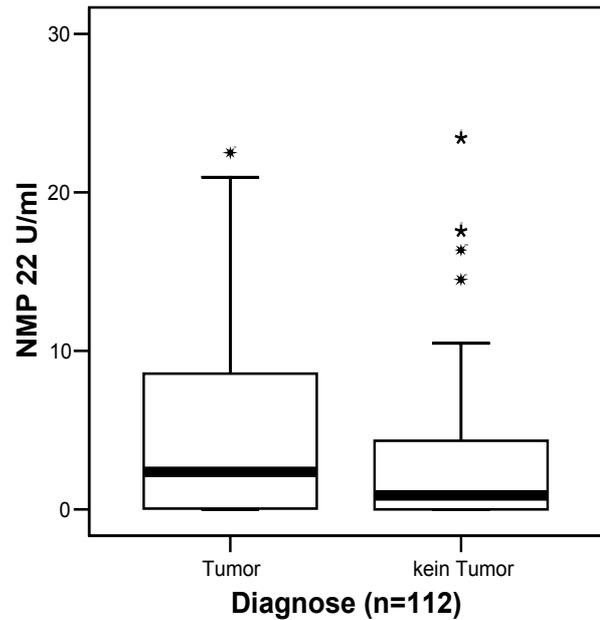


Abb. 4.3.3: Vergleich NMP 22-Konzentration Tumorpatienten und nicht-Tumorpatienten

Die differenzierte Betrachtung der Tumorpatienten in Primär- und Rezidivtumor im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (n=26) zeigt bei den Primärtumoren (n=23) einen sehr signifikanten Unterschied von $p=0,003$ in der NMP 22 Konzentration, wie in Abbildung 4.3.4 deutlich wird. Bei den Rezidivtumoren, dargestellt in Abbildung 4.3.5, (n=22) heben sich die Unterschiede bezüglich der NMP 22 Konzentration im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe auf. Hierbei ist keine Signifikanz aufzuweisen ($p=0,641$).

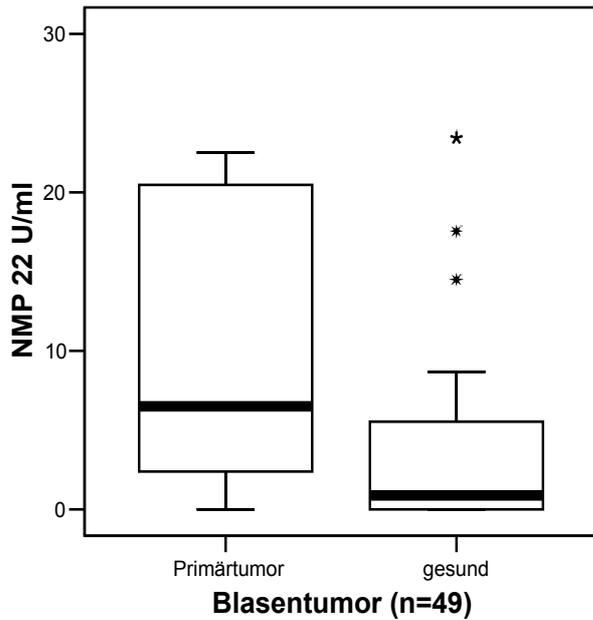


Abb. 4.3.4: Vergleich NMP 22-Konzentration Primärtumor und gesunde Kontrollgruppe

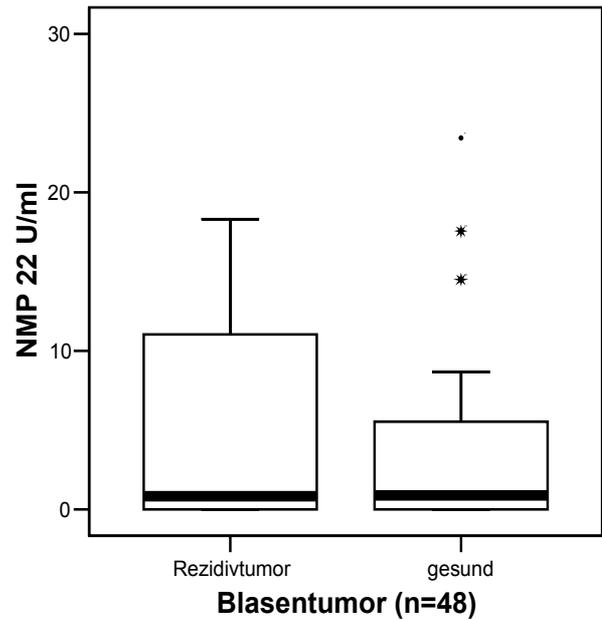


Abb. 4.3.5: Vergleich NMP 22-Konzentration Rezidivtumor und gesunde Kontrollgruppe

Der direkte Vergleich der Primär- und Rezidivtumore lässt wiederum Unterschiede in der vorhandenen Signifikanz aufzeigen. Die Primärtumore weisen eine deutliche erhöhte Konzentration des NMP 22 auf. Die Abbildung 4.3.6 zeigt dieses Ergebnis, es ergibt sich hierbei ein $p=0,040$ ($n=45$).

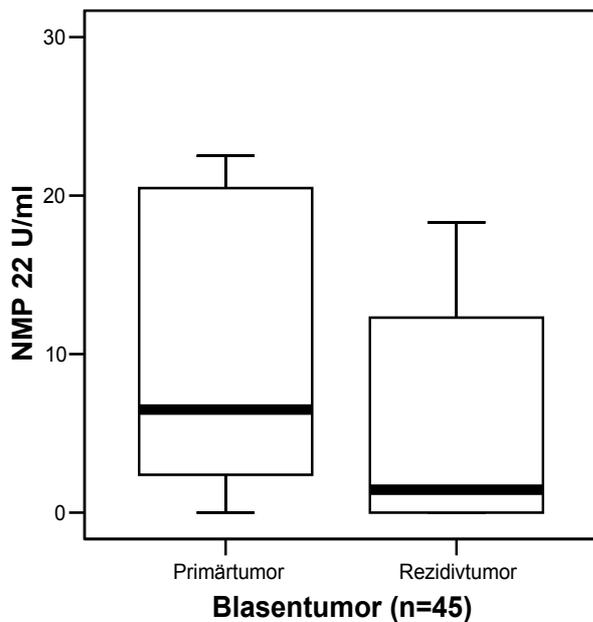


Abb. 4.3.6: Vergleich NMP 22-Konzentration Primärtumor und Rezidivtumor

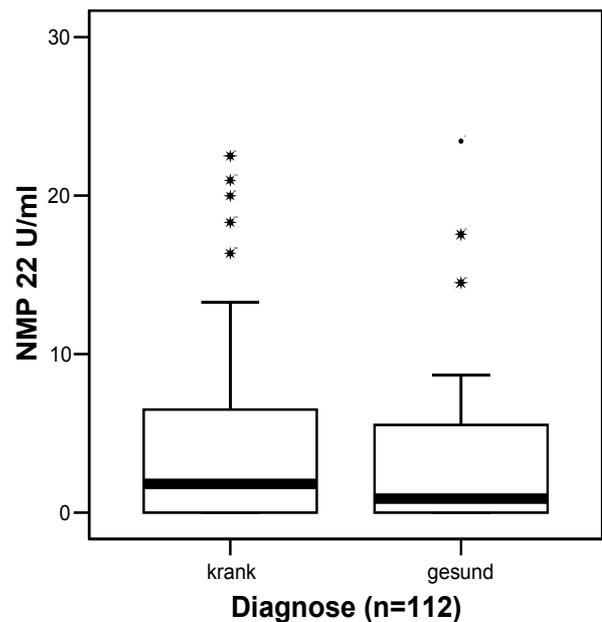


Abb. 4.3.7: Vergleich NMP 22-Konzentration kranke und gesunde Proben

Bei der Betrachtung der gesamten Untersuchungsgruppe, mit der Aufteilung in gesund (n=26) oder krank (n=86) in Abbildung 4.3.7, hebt sich dieser signifikanter Unterschied auf (n=112, p=0,432).

Im Vergleich der einzelnen Tumorstadien ergibt sich bei der Gegenüberstellung Ta und T1 zu T2 bis T4 ein signifikanter Unterschied mit p=0,047 (n=45) wie in der folgenden Abbildung 4.3.8 veranschaulicht wird. Der Vergleich Ta und T2 bis T4 in Abbildung 4.3.9 zeigt keine Unterschiede hinsichtlich der Signifikanz (n=32; p=0,058).

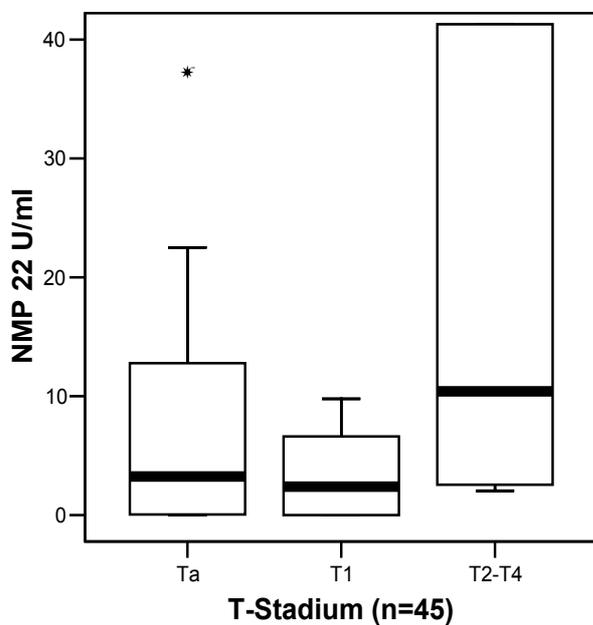


Abb. 4.3.8: Verteilung der NMP 22-Konzentration bezüglich des T-Stadiums

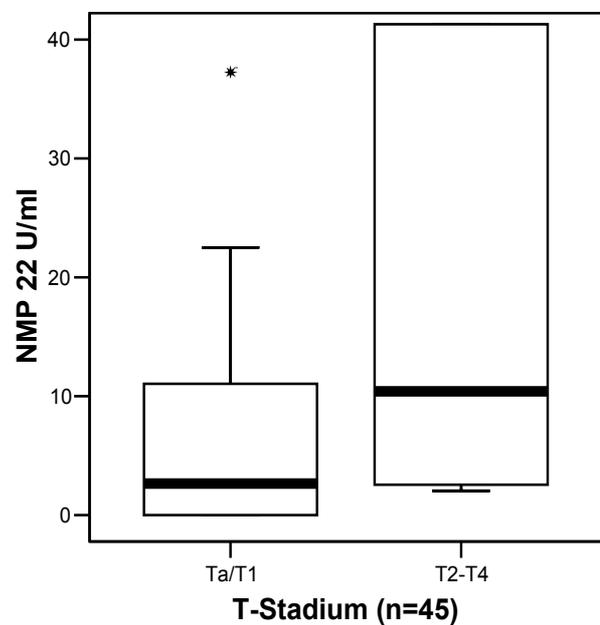


Abb. 4.3.9: Verteilung der NMP 22-Konzentration bezüglich des T-Stadiums

Die folgende Abbildung 4.3.10 verdeutlicht die nicht bestehende Signifikanz der Urin-NMP 22-Konzentrationen in Hinblick der Zelldifferenzierungen. Es zeigen sich keine signifikanten Urin-NMP22-Konzentrationen im Vergleich von G1 zu G3 (n=23; p=0,101).

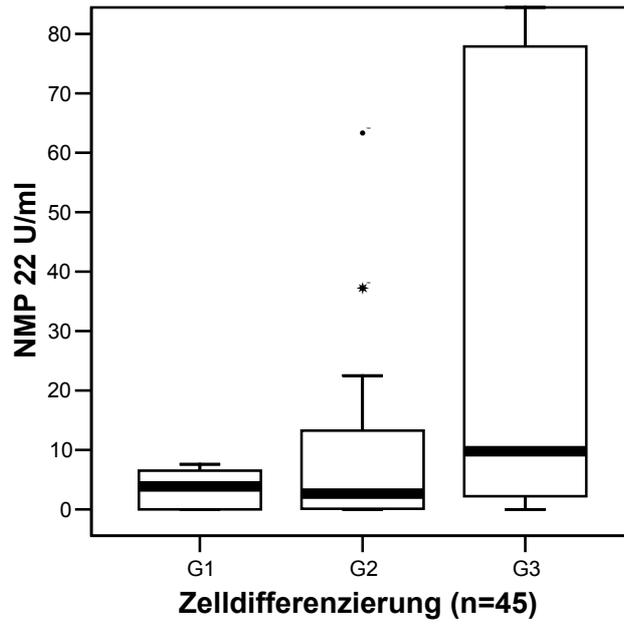


Abb. 4.3.10: Verteilung der NMP 22-Konzentration bezüglich der Zelldifferenzierung

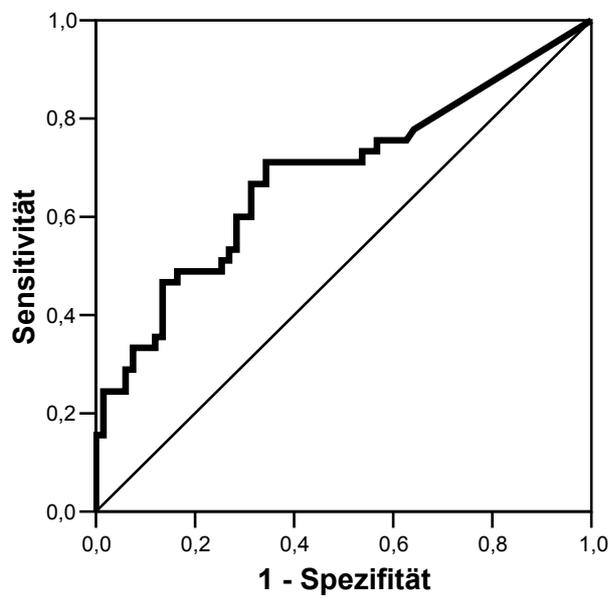


Abb. 4.3.11: ROC-Kurve NMP 22 (n=112)
AUC 0.6684

Bei einer Konzentration von größer als 4,7 U/ml ergibt sich für die NMP22-Urinkonzentration bei der untersuchten Gruppe eine Sensitivität von 45,45% und eine Spezifität von 83,58 % (95 % CI 0,581-0,762; n=112; AUC 0,684).

Bei diesem Cut-Off erweisen sich 32 der 112 Proben als tumorpositiv. Davon sind insgesamt 21 als richtig positiv einzustufen (65,63 %). Die Rate der falsch positiven Proben beträgt 34,37 % (n=11). Die gesunde Kontrollgruppe hat dabei einen Anteil von 11 Proben in dieser falsch positiven Gruppe (34,37 %).

Als tumornegativ zeigen sich hierbei 80 Proben (n=112). Dabei sind 24 dieser 80 Urinkonzentrationen falsch negativ eingestuft (30 %), wobei die Primärtumore eine Rate von 12,04% und die Rezidivtumore eine Rate von 17,5 % aufweisen. Die Kontrollgruppe ist mit 56 Proben in dieser richtig negativen Verteilung vertreten (70 %).

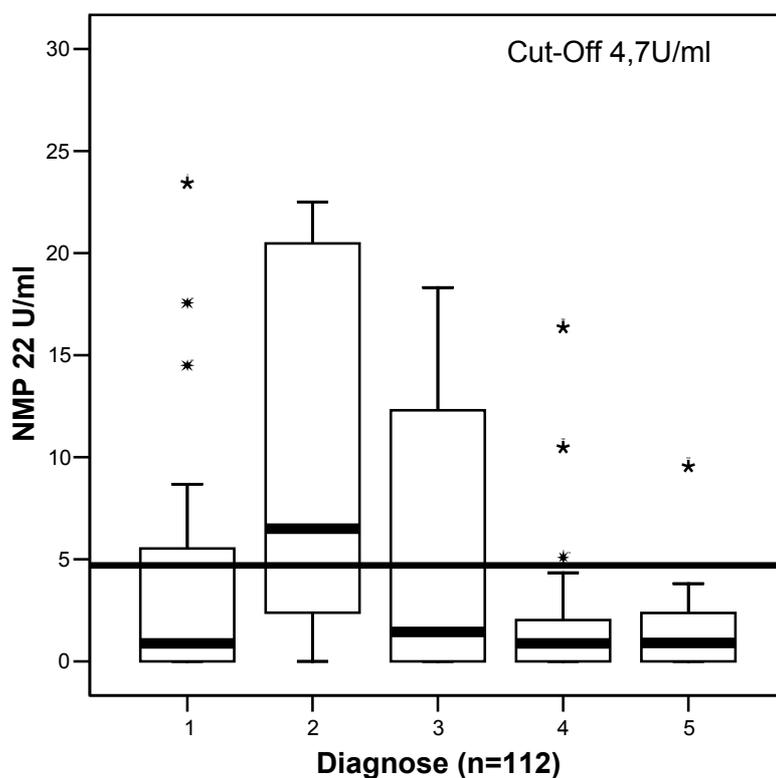


Abb. 4.3.12: Verteilung der NMP 22-Konzentration bezüglich der Diagnosegruppen mit festgelegtem Cut-Off 4,7U/ml

1= anamnestisch Blasentumor, derzeit kein Malignitätsnachweis

- 2= Primärtumor
- 3= Rezidivtumor
- 4= andere benigne urologische Erkrankung
- 5= andere maligne Erkrankung

Der Hersteller des NMP22® Test Kits (Matritech®; Newton, USA) definiert die Probe ab einer Konzentration von 10 U/ml NMP 22 im Urin der Testpersonen als tumorpositiv bezüglich des Harnblasenkarzinoms. Dieser Cut-Off weist eine Sensitivität von 29,55 % und eine Spezifität von 92,54 % auf.

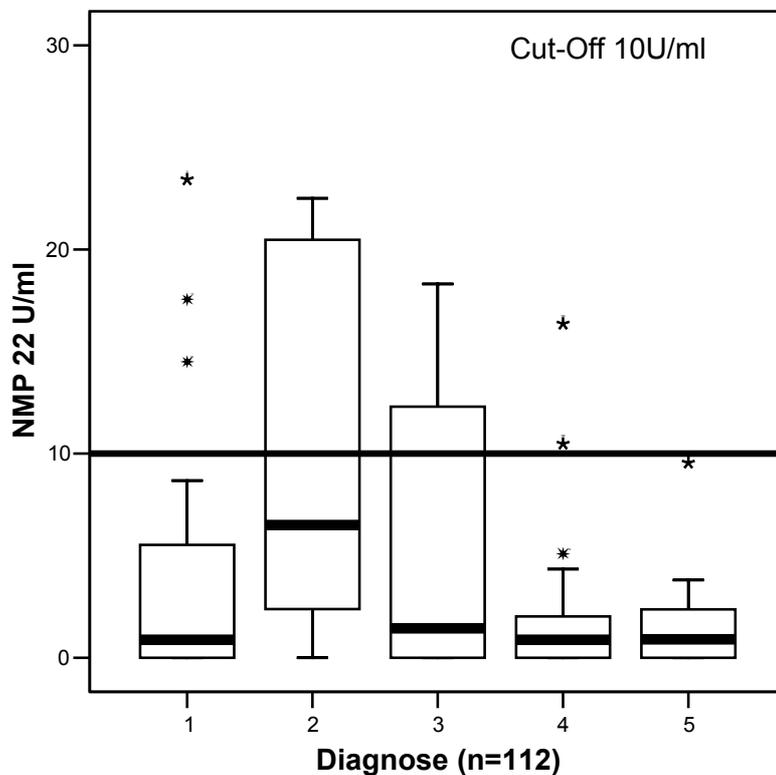


Abb. 4.3.13: Verteilung der NMP 22-Konzentration bezüglich der Diagnosegruppen mit festgelegtem Cut-Off von 10U/ml

- 1= anamnestisch Blasentumor, derzeit kein Malignitätsnachweis
- 2= Primärtumor
- 3= Rezidivtumor
- 4= andere benigne urologische Erkrankung
- 5= andere maligne Erkrankung

Ergebnisse

Bezüglich dieses Cut-Offs und den von uns ermittelten Ergebnissen zeigen sich 93 der insgesamt 112 Proben als tumorpositiv. Davon sind 31 als richtig positiv einzustufen (33,33 %). Die Rate der falsch positiven Fälle liegt bei 66,67 % (n=62).

Falsch negativ wurden 14 Proben gewertet. In dieser Gruppe sind die Primärtumore mit einer Rate von 57,14 % (n=8), die Rezidivtumore mit 42,85 % (n=6) vertreten.

Die nachfolgenden Tabellen 4.3.1 und 4.3.2 stellen die Ergebnisse noch einmal zusammengefasst dar.

Test	Probe	Vergleich	N	Statistik	p=	AUC	Cut-Off	Sensitivität	Spezifität
NMP 22	Urin	Blasentumor vs kein Blasentumor	112	ROC Mann Whitney	0,0009	0,68	4,7 U/ml	45,45 %	83,58 %

Tabelle 4.3.1: NMP 22-Konzentration Gesamtergebnisse

Test	Probe	Vergleich	N	Statistik	p=
NMP22	Urin	Tumor vs kein Tumor	112	Mann Whitney	0,032
	Urin	krank vs gesund	112	Mann Whitney	0,432
	Urin	Primärtumor vs Rezidiv	45	Mann Whitney	0,04
	Urin	Tumoranamnese vs Primärtumor	49	Mann Whitney	0,003
	Urin	Tumoranamnese vs Rezidiv	48	Mann Whitney	0,641
	Urin	Tumoranamnese vs	71	Mann Whitney	0,044

Ergebnisse

		Blasentumor			
	Urin	Ta vs T2-T4	32	Mann Whitney	0,058
	Urin	Ta/T1 vs T2- T4	45	Mann Whitney	0,047
	Urin	GI vs GIII	23	Mann Whitney	0,101

Tabelle 4.3.2: NMP 22-Konzentration Gesamtergebnisse

4.4 Zytologie der Blasentumorpatienten

Bei der Betrachtung der Zytologien, die als maligne und suspekt kategorisiert wurden im Vergleich zu gesund definierten Zellbildern, zeigt sich ein deutlicher Trend in der Untersuchungsgruppe, der in Abbildung 4.4.1 dargestellt ist.

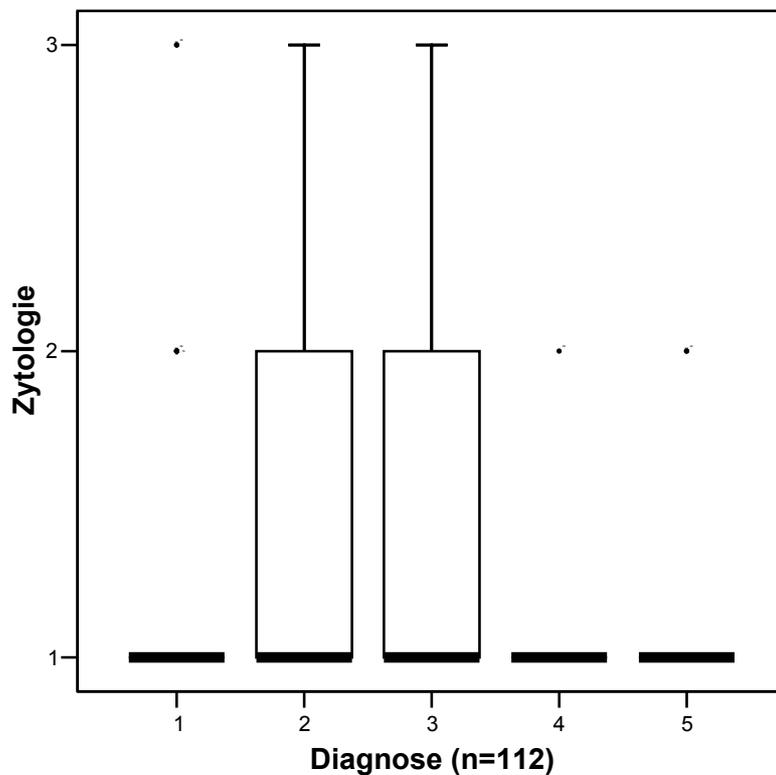


Abb. 4.4.1: Verteilung der Zytologien bezüglich der Diagnosegruppen

Diagnose: 1= anamnestisch Blasentumor, derzeit kein Malignitätsnachweis

Ergebnisse

- 2= Primärtumor
3= Rezidivtumor
4= andere benigne urologische Erkrankung
5= andere maligne Erkrankung
- Zytologie: 1= keine Malignität
2= suspekt
3= maligne Zellen

Patienten mit einer positiven Diagnose in Bezug auf das Harnblasenkarzinom zeigen einen höchstsignifikanten Unterschied ($n=112$; $p=0,0003$) im Vergleich zu der Patientengruppe ohne Blasentumor.

Bezieht man alle tumorkranken Patienten in den Vergleich mit ein, so bleibt dieser signifikante Unterschied bestehen ($n=112$; $p=0,014$). Die folgende Abbildung 4.4.2 stellt die vergleichenden Zytologieergebnisse dar.

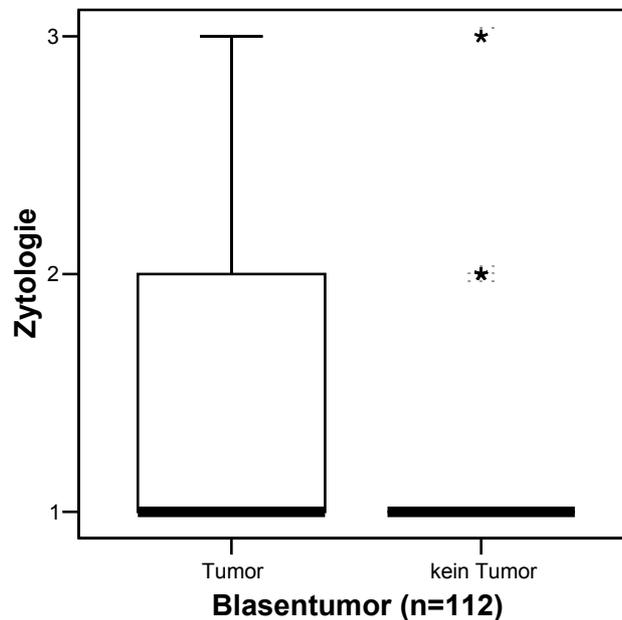


Abb. 4.4.2: Vergleich der Zytologien Tumorgruppe und kein Tumor

- Zytologie 1= keine Malignität
2= suspekt
3= maligne Zellen

Bei der detaillierten Betrachtung der Blasen tumorpatienten kann weder der Vergleich des Primär- (n=49; p=0,072) oder des Rezidivtumors (n=48; p=0,189) mit der blasen tumorfreien Kontrollgruppe, wie in den folgenden Abbildungen 4.4.3 und 4.4.4 aufgezeigt, einen Vorteil erbringen.

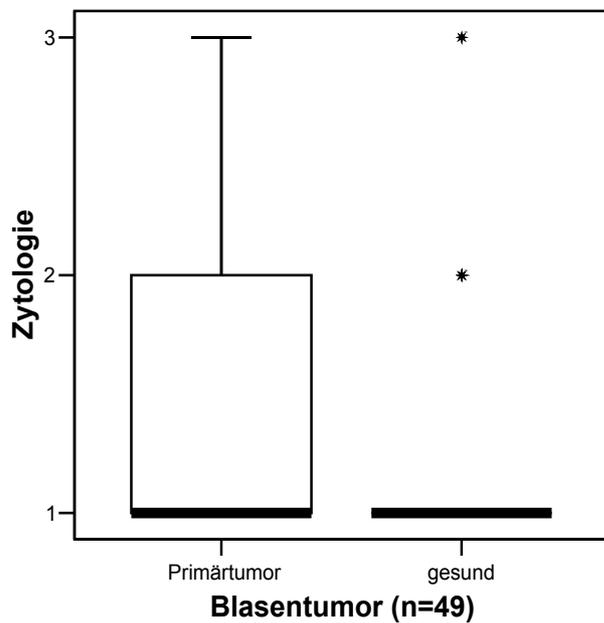


Abb. 4.4.3: Vergleich der Zytologien der Primärtumore und gesunden Kontrollgruppe

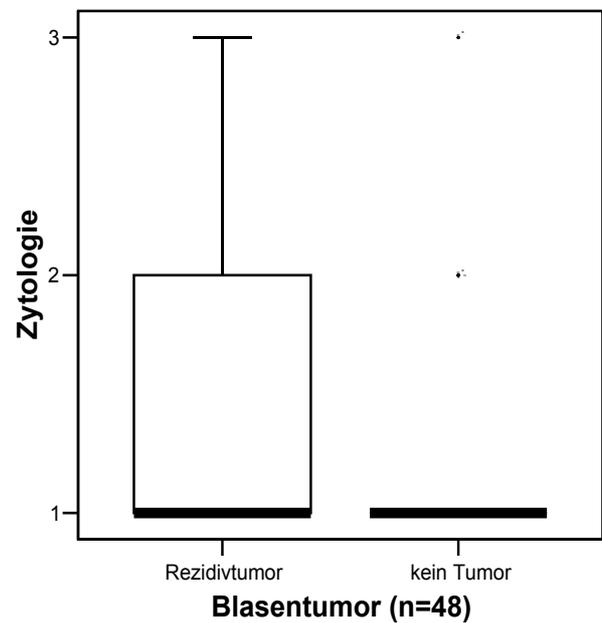


Abb. 4.4.4: Vergleich der Zytologien der Rezidivtumore und gesunden gruppe

Zytologie 1= keine Malignität
 2= suspekt
 3= maligne Zellen

Auch der direkte Vergleich zwischen Primärtumor und Rezidivtumor in Abbildung 4.4.5 (n=45; p=0,644) zeigt keine eindeutige Signifikanz in Bezug auf die untersuchten Zytologien.

Weiterhin zeigt sich kein signifikanter Unterschied in der Aufteilung der Proben in gesund und krank (Abbildung 4.4.6). Die Untersuchung der Zellbilder führt hierbei nicht zu einem Vorteil in der diagnostischen Aussagekraft (n=112; p=0,71).

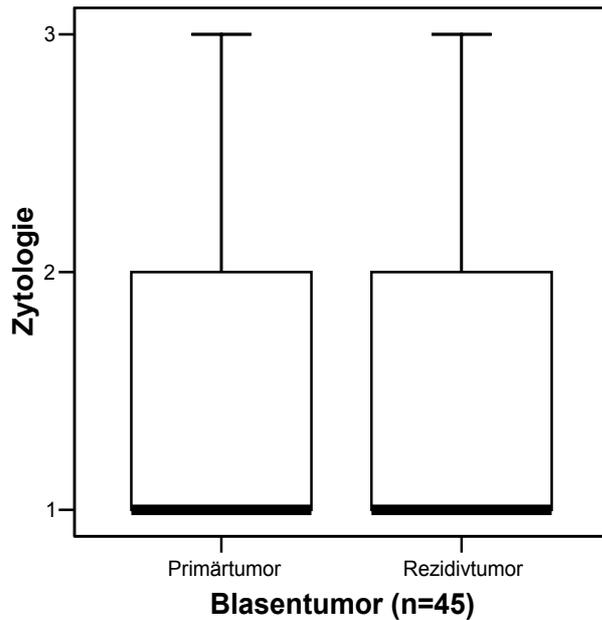


Abb. 4.4.5: Vergleich der Zytologie Primärtumore und Rezidivtumore

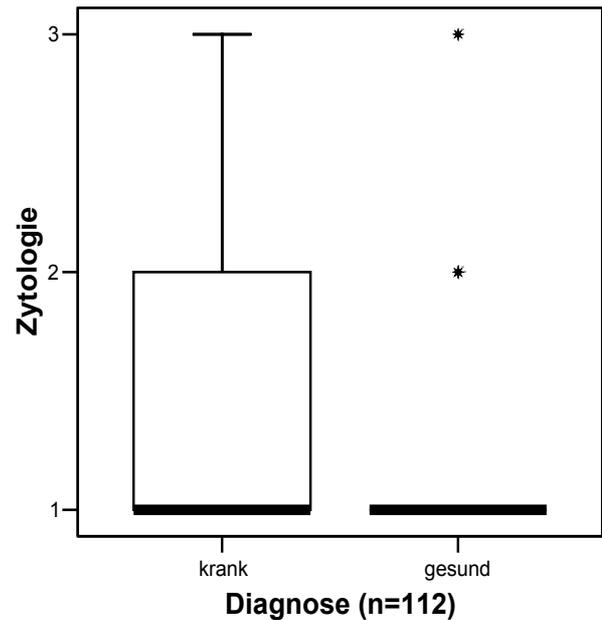


Abb. 4.4.6: Vergleich der Zytologie kranke Patientengruppe und gesunde Kontrollgruppe

Zytologie 1= keine Malignität
 2= suspekt
 3= maligne Zellen

In der Analyse der einzelnen Tumorstadien (Ta/T1 im Vergleich zu T2/T4; n=45; p=0,53) sowie der Zelldifferenzierung (G1 im Vergleich zu G3; n=23; p=0,065) kann die Betrachtung der Zytologie keinen entscheidenden Vorteil erbringen. Die folgenden Abbildungen 4.4.7 und 4.4.8 verdeutlichen diese Aussagen.

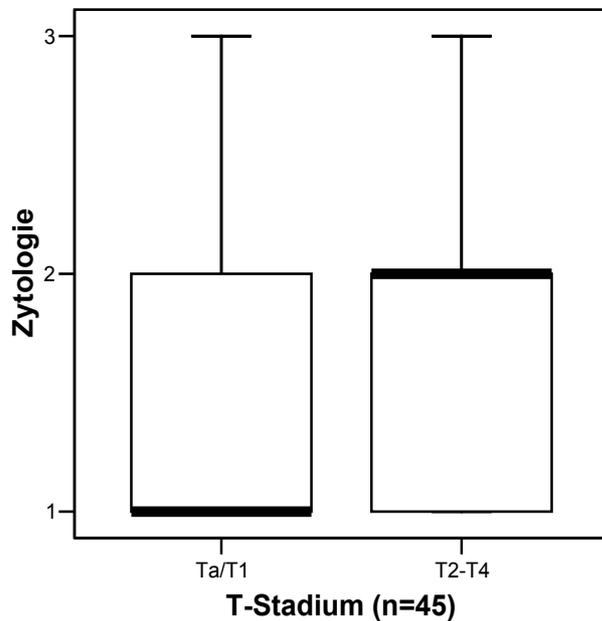


Abb. 4.4.7: Vergleich der Zytologie bezüglich der T-Stadien

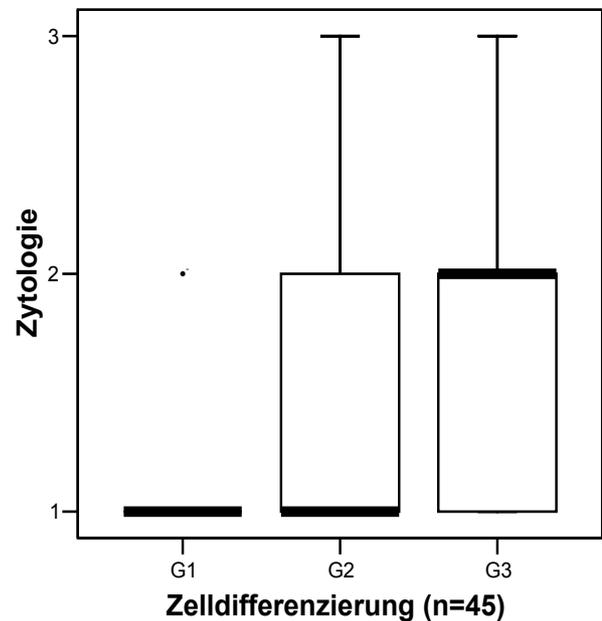


Abb. 4.4.8: Vergleich der Zytologie bezüglich der Zelldifferenzierung

Zytologie 1= keine Malignität
 2= suspekt
 3= maligne Zellen

Definiert man auch die suspekt kategorisierten Zellen als maligne und somit als tumorpositiv, ergibt sich eine Sensitivität von 44,4% sowie eine Spezifität von 86,6 % (n=112).

Folglich sind insgesamt 29 der 112 Proben als tumorpositiv definiert. Der Anteil der richtig positiven erkannten Proben beträgt 68,97 % (11 von 23 der Primärtumore; 9 von 22 der Rezidivtumore). Die Rate der falsch positiven Proben beträgt 31,03 % (n=9).

Tumornegativ sind insgesamt 83 der Proben gewertet. 58 gehören der gesunden Kontrollgruppe an und sind somit richtig negativ kategorisiert. Die falsch negative Anzahl der Primärtumore beträgt 14,46% (n=12) die Anzahl der falsch negativen Rezidivtumore 15,66% (n=13).

Ergebnisse

Test	Probe	Vergleich	n	Statistik	p=	Sensitivität	Spezifität
Zytologie	Urin	Blasentumor vs kein Blasentumor	112	ROC Mann Whitney	0,0003	44,4 %	86,6 %

Tabelle 4.4.1: Zytologie Gesamtergebnisse

Test	Probe	Vergleich	n	Statistik	p=
Zytologie	Urin	Tumor vs kein Tumor	112	MW	0,014
	Urin	krank vs gesund	112	MW	0,71
	Urin	Primärtumor vs Rezidiv	45	MW	0,644
	Urin	Tumoranam- nese vs Primärtumor	49	MW	0,072
	Urin	Tumoranam- nese vs Rezidiv	48	MW	0,189
	Urin	Tumoranam- nese vs Blasentumor	71	MW	
	Urin	Ta vs T2-T4	32	MW	0,386
	Urin	Ta/T1 vs T2- T4	45	MW	0,53
	Urin	G1 vs GIII	23	MW	0,065

Tabelle 4.4.2: Zytologie Gesamtergebnisse

4.5 Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Tumormarker

Für das NMP 22 zeigt sich kein Einfluss von Alter oder Geschlecht auf die Konzentrationen (Alter: $p=0,543$; Geschlecht: $p=0,697$).

Auch bei der durchgeführten Zytologie kann keine Abhängigkeit der Ergebnisse vom Alter oder des Geschlechts aufgezeigt werden (Alter: $p=0,509$; Geschlecht: $p=0,961$).

Allein die Untersuchungen des TATI zeigen bei den Urinproben und den Serumproben jeweils einen signifikanten Unterschied. Bei den Urinproben kann eine Abhängigkeit des Alters mit einem signifikanten Unterschied von $p=0,021$; bei der Abhängigkeit vom Geschlecht sogar ein höchstsignifikanter Unterschied mit einem p kleiner als 0,001 aufgezeigt werden.

Bei den Serumproben hingegen zeigte sich nur eine nachweisbare Abhängigkeit in Bezug auf das Alter ($p=0,025$). Geschlechtsabhängige Unterschiede zeigten sich nicht ($p=0,236$).

5. Diskussion

In der Diagnostik und Therapie von Krebserkrankungen wird immer wieder nach dem Tumormarker gesucht, der das Erkennen einer Tumorerkrankung vereinfacht, weniger invasiv gestaltet, den Verlauf präzise dokumentiert und das Wiederauftreten sowie die Prognose exakt und frühstmöglich anzeigt. Eigenschaften eines solchen Markers oder Testverfahrens sollten hierbei die einfache und schnelle Durchführbarkeit sowie die Unabhängigkeit vom Untersucher sein. Weiterhin soll das Verfahren wenig invasiv für den Patienten sein. Das Testverfahren sollte leicht erhältlich und nicht zuletzt preiswert in der Durchführung sein.

Während Diagnostik, Verlauf und Nachsorge anderer Tumorarten durch die Bestimmung von Tumormarkern erleichtert werden, fehlt ein vergleichbarer Tumormarker des Harnblasenkarzinoms mit hoher Sensitivität und Spezifität.

Derzeit stellen noch immer die Zystoskopie und die Zytologie den Goldstandard der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms dar, wobei jedoch die Zytologie von vielen Faktoren wie z. B. dem Untersucher abhängig ist und die Zystoskopie einen für den Patienten invasiven und unangenehmen Eingriff darstellt.

Nachdem eine Vielzahl von Tumormarkern des Harnblasenkarzinoms im Verlauf der letzten Jahre in Studien vorgestellt wurden, hat sich keiner dieser Marker als etablierte Nachweismethode durchsetzen können.

5.1 TATI im Serum als Tumormarker des Harnblasenkarzinoms

In der hier durchgeführten Studie konnte nachgewiesen werden, dass die TATI-Konzentrationen im Serum von Harnblasentumorpatienten deutlich höher sind als die von gesunden Probanden. Somit bestätigten sich die vielzählig getroffenen Aussagen einer Korrelation von TATI-Konzentrationserhöhung in Urin- und Serumproben bei Tumorerkrankungen (16; 17; 41).

Ebenfalls konnte aufgezeigt werden, dass in Seren von Blasentumorpatienten eine weitaus höhere Konzentration des TATI nachweisbar ist als bei anderen Tumorerkrankungen im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe.

Somit bestätigen sich nicht nur die oft getroffene Aussage der TATI-Erhöhung in Tumorerkrankungen, sondern erweitert diese noch insofern, dass anscheinend vor allem maligne Urothelerkrankungen zu einer sehr signifikant höheren TATI Produktion und folglich Nachweis führen als andere Tumorerkrankungen.

Stadienabhängig zeigte sich ein Anteil von 60,4 % an erhöhten TATI-Serumwerten bei der Blasentumorgruppe. In anderen Studien wurden Anteile von 22-70 % beschrieben (41).

Die dabei deutlich aufgezeigte große Spannweite der prozentualen Angaben entsteht vor allem aus den unterschiedlich gewählten Cut-Offs. So findet sich diese auch in der Angabe des Medianwertes wieder.

In der hier untersuchten Gruppe der Serumkonzentrationen ergab sich bei der gesunden Kontrollgruppe ein Medianwert von 12,06 $\mu\text{g/l}$ wobei in anderen Studien Werte von 11 $\mu\text{g/l}$ bis hin zu 17,7 $\mu\text{g/l}$ angegeben werden (10; 41).

In der blasentumorpositiven Gruppe finden sich Angaben von bis zu 36,6 $\mu\text{g/l}$ (10) hingegen die hier dargestellte Studie einen Median von 14,2 $\mu\text{g/l}$ ergibt.

Obwohl sich keine erheblichen Unterschiede in der Konzentration des Serum-TATI sich in der direkten Betrachtung des Primärauftretens des Harnblasenkarzinoms oder Wiederauftreten aufgewiesen werden konnten, zeigten sich bezüglich der Untersuchung von Primärtumoren und der gesunden Kontrollgruppe bzw. Rezidivtumore und der gesunden Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied. Somit wird erneut das Potential

dieses Tumormarkers bezüglich der Diagnostik und des weiteren Monitorings dargestellt.

Bei der Frage nach der Aussagekraft bezüglich des Tumorstadiums konnte kein signifikanter Unterschied zwischen oberflächlichen oder invasiven Harnblasenkarzinomen dargestellt werden. In einer Studie von Kolloniemi et al. zeigte sich die TATI-Serumkonzentration als Marker des invasiven Karzinoms. 56 % der als mindestens T2 klassifizierten Tumore (n=16) wurden als richtig positiv erkannt, wohingegen nur 40 % der oberflächlichen Karzinome (n=48) als tumorpositiv kategorisiert werden konnten (23).

In der hier durchgeführten Untersuchung bestätigte sich diese Tendenz bei höheren Fallzahlen. 66,67 % der invasiven Tumore (n=21) hatten eine erhöhte Serum TATI-Konzentration wohingegen nur 57,14 % der oberflächlichen Karzinome (n=70) als richtig positiv erkannt wurden. Hierbei wird folglich andeutungsweise deutlich, jedoch statistisch nicht bestätigt, dass mit steigender Invasivität des Tumors auch die Konzentrationen des TATI signifikant erhöht sind (41; 44). Ein klinische Anwendungsmöglichkeit lässt sich ableiten.

Bei der Betrachtung der Zelldifferenzierung zeigt sich ebenfalls eine Korrelation der TATI-Serumkonzentration. Wie auch bei der Untersuchung der Tumorstadien ergibt sich zwischen den einzelnen Zelldifferenzierungen kein signifikanter Unterschied, dennoch wurden 68,96 % der mit G3 (n=29) klassifizierten Karzinome als richtig positiv erkannt und nur 52 % der G1 (n=25) Tumore als richtig positiv eingestuft.

Bei dem hier ermittelten Cut-Off von 12,87 µg/l ergibt sich für die Diagnose eines Blasentumors anhand des Nachweises von erhöhten TATI-Serumkonzentrationen eine Sensitivität von 59,3 % und eine Spezifität von 56,3 %. Diese Ergebnisse beweisen eine nur geringe diagnostische Güte, eine klare Zuordnung der Erkrankung ist mit diesem Marker nicht möglich.

Insgesamt wurden 54 der 91 Tumorpatienten als richtig positiv erkannt (59,34 %).

Auffällig hierbei ist der hohe Anteil der Primärtumore von 41,86 % (18 von 43) an der Gruppe der als nicht positiv erkannten Tumorpatienten. Eine Screening mit diesem Marker ist nicht sinnvoll.

Weiterhin zeigte sich in der Kontrolluntersuchung eine Rate an falsch positiven von 43,7 % (52 von 119). Den größten Anteil nahm hierbei mit 53,85 % (n=28) die Gruppe der Fälle ein, die anamnestisch einen Blasentumor hatten, derzeit aber ohne Malignitätsnachweis waren.

Es stellt sich die Frage, ob dieser Marker nach erfolgter Therapie eines Urothelkarzinoms zu verwerfen ist bzw. ob die Ausschlusskriterien zusätzlich erweitert werden müssten. Resultat ist, dass sich der Serum-TATI nicht als Verlaufsparemeter eignet.

Den zweitgrößten Anteil nimmt die Gruppe der benignen urologischen Erkrankungen mit 32,69 % ein (n=17). Auch hierbei stellt sich die Frage einer Erweiterung der Ein- und Ausschlusskriterien.

Vergleichend zeigen andere Studien 44 % der Tumorproben mit erhöhten TATI-Serumkonzentrationen als richtig positiv und 29 % als falsch positiv erkannte Proben der Kontrollgruppe mit einer Sensitivität von gerade 44 % (23).

Im direkten Vergleich hierzu ergeben sich bei der hier untersuchten Gruppe und dem vom Hersteller empfohlenen Cut-Off von 18 µg/l nur eine Sensitivität von 28,5 % und eine Spezifität von 85,71 %. Unter diesen Aspekten wurden lediglich 27 der 91 tumorpositiven Proben als richtig positiv erkannt (29,67 %). Der Anteil der Primärtumore der als richtig positiv erkannt wurde liegt bei 25,58 % (11 von 43), der der Rezidivtumore bei 33,33 % (16 von 48).

Es wird abermals aufgezeigt, dass die individuell festgelegten Cut-Offs den Vergleich erschweren und somit keine allgemeingültige Aussage zur Verwendung der TATI-Serumkonzentrationen als Tumormarker des Harnblasenkarzinoms getroffen werden kann.

5.2 TATI im Urin als Tumormarker des Harnblasenkarzinoms

Die Urin-TATI Konzentrationen bei Harnblasentumorpatienten sind deutlich erhöht im Vergleich von gesunden Kontrollproben. Damit bestätigt sich die Aussage in der von Shariat et al. durchgeführten Studie, dass die Urin-TATI Konzentrationen bei

Blasentumorpatienten signifikant höher sind als bei gesunden Kontrollpatienten (38). Weiterhin konnte die Aussage bestätigt werden, dass im Vergleich von primären Urothelkarzinomen und gesunden Kontrollproben bzw. anderen benignen urologischen Erkrankungen eine signifikant höhere TATI-Urinkonzentration vorlag (12).

Wobei in der Untersuchung der TATI-Seren Konzentrationen die höchste Signifikanz zwischen Blasentumorpatienten und nicht Blasentumorpatienten aufgezeigt werden konnte, ist speziell in dieser Untersuchung jedoch nur der Vergleich zwischen aktuell an einem Blasentumor erkrankten Patient und Patienten, die anamnestisch einen Blasentumor aufwiesen, derzeit ohne Malignitätsnachweis sind, wirklich signifikant.

Sowohl die Untersuchung der Primärtumore wie auch die der Rezidivtumore zeigten eine bedeutend erhöhte Urin-TATI Konzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Nicht signifikant zeigten sich die Vergleiche der gesamten Versuchsgruppe unterteilt in blasentumorpositive Proben und blasentumornegative Proben sowie der Vergleich unterteilt in Tumorpatienten mit nicht Tumorpatienten.

Somit wird der erste erhebliche Unterschied zwischen Serumkonzentration und Urinkonzentration des TATI deutlich und die geringere Verwertbarkeit des TATI-Urinspiegels als Harnblasentumormarker, denn obwohl die Konzentrationen im Serum und Urin stark miteinander korrelieren sollten (41), weisen die hier ermittelten Ergebnisse einen deutlichen Unterschied in der Aussagekraft auf.

Erneut muss die Frage der Ausschlusskriterien diskutiert werden, die in der Rekrutierung der Proben eingehalten wurden. Ursächlich könnte hierfür die starke Schwankung der Urin-TATI-Konzentration und deren Abhängigkeit von der Diurese und der glomerulären Filtration sein (23; 41; 47).

Diese Beobachtung wird weiterhin bestätigt, wenn man die Untersuchungsgruppe in „krank“ und „gesund“ unterteilt.

In die Gruppe der „kranken“ Proben werden dabei alle benignen und andere malignen urologischen Erkrankungen als das Harnblasenkarzinom miteinbezogen. Hierbei zeigt sich ein höchstsignifikanter Unterschied der TATI-Urinkonzentrationen im Vergleich zur „gesunden“ Kontrollgruppe ($n=210$, $p=0,0003$). Scheinbar ist also auch bei anderen urologischen Erkrankungen eine Erhöhung des TATI-Urinspiegels zu erwarten.

Wie auch bei der Betrachtung der Serumkonzentrationen des TATI ergibt sich bei dem Vergleich der Urinkonzentrationen kein signifikanter Unterschied zwischen den Primär- und Rezidivtumoren der Harnblasentumorproben ($n=91$, $p=0,943$).

Die TATI-Urinbestimmung weist keine Vorteile in der Erkennung des fortgeschrittenen Harnblasenkarzinoms auf. Bei der Gegenüberstellung des oberflächlichen zu dem fortgeschrittenen Tumor zeigten sich in der Urin-TATI Konzentration keine wesentlichen Unterschiede (Ta und $\geq T2$ $n=72$, $p=0,706$; Ta/T1 und $\geq T2$ $n=89$, $p=0,588$).

Im Vergleich zu den Untersuchungen der Serumkonzentrationen, bei denen eine Tendenz höherer TATI-Konzentrationen bei höherem Tumorstadium und entdifferenzierten Zellbild zu erkennen war, bleibt diese hier aus.

Bei den als mindestens T2-klassifizierten Harnblasenkarzinomen wurden nur 57 % (12 von 21) der Proben als richtig positiv eingestuft, wohingegen 61,42 % (43 von 70) der oberflächlichen Tumore einen erhöhten TATI-Urinspiegel vorwiesen.

Ergebnisse, bei denen TATI-Urinkonzentrationen keine signifikante Erhöhung bei fortgeschrittenen Tumoren der Harnblase aufwiesen, zeigten bisher nur wenige Studien (17;10).

Diggle et al. beschrieben, dass bei einem invasiven Karzinom keine TATI-Expression nachzuweisen war (10), waren jedoch der Auffassung, dass die TATI-Konzentrationen aufgrund von größerem Tumolvolumen auch erhöht sein müssten. Andere Untersuchungsreihen hingegen wiesen nach, dass sich die TATI-Konzentration nicht signifikant mit zunehmender Invasivität erhöht (12; 17), was sich in unserer durchgeführten Untersuchung bestätigt. Somit ist nach unseren Ergebnissen die TATI-Bestimmung nicht als Monitoring des Harnblasenkarzinompatienten zu nutzen, was unter anderem den Untersuchungen von Ulf-Hakan Stenamn et al. widerspricht (41).

In vielen anderen Untersuchungen zeigt sich die signifikante Erhöhung der TATI-Urinkonzentrationen bei invasiven Harnblasentumoren (23; 38; 41). Dabei ist anzumerken, dass in mehreren Studien dabei das T1-Stadium als nicht oberflächlich klassifiziert wurde.

Auch bei der Betrachtung der unterschiedlichen Zelldifferenzierung ergab sich kein signifikanter Unterschied. Bei den G1 klassifizierten Harnblasenkarzinomen zeigten 64 % (16 von 25) eine erhöhte TATI-Urinkonzentration, bei den G3 Tumoren waren es nur wenige mehr mit 65,52 % (19 von 29). In einer Studie von Hotakainen et al. lag die Rate erhöhter TATI-Urinspiegel der G3 Tumoren bei nur 50 % (17).

Der festgelegte Cut-Off von größer als 28 µg/l ergab in der hier untersuchten Gruppe für einen Blasentumordetektionstest günstige Aussagewerte mit einer Sensitivität von 60,4 % und eine Spezifität von 59,7 %.

83 der Proben wurden als tumorpositiv erkannt, von denen aber nur 55 als richtig positiv zu werten sind (60,43 %). Die Rate der falsch negativen Ergebnisse bei den Primärtumoren lag bei 32,55 % (14 von 43). Im Vergleich hierzu lagen die Raten bei den Serumuntersuchungen weit über denen der Urinuntersuchungen. Bei den Rezidivtumoren hingegen lag die Rate der falsch negativen Proben bei den Urinuntersuchungen bei 45,83 % (22 von 48), bei den Seren bei 33,33 %.

Wiederholt zeigt sich, dass keiner der untersuchten Medien einen Vorteil gegenüber dem anderen aufweist, aber auch nicht klar im Nachteil erscheint.

In der Kontrollgruppe waren von 67 Fällen 28 als falsch positiv definiert. Dies entspricht einem Anteil von 41,79 %, wobei jedoch der Vergleich zu den Serenuntersuchungen, bei denen 50 % der falsch positiven aus der Gruppe der hier gesunden Kontrollgruppe entstammte, aufgrund der verschiedenen Zusammensetzung der Kontrollgruppen unmöglich ist.

Geht man von einem Referenzwert von größer als 34 µg/l aus, wie es der Hersteller empfiehlt, ergeben sich für die Untersuchungsgruppe eine Sensitivität von 46,15 % und eine Spezifität von 68,91 %. Richtig positiv sind bei diesem Cut-Off 42 von insgesamt 81 als positiv eingestuften Proben (51,9 %). Die Primärtumore nehmen dabei einen Anteil von 45,2 %, die Rezidivtumore einen Anteil von 54,8 % ein.

5.3 NMP 22 als Tumormarker des Harnblasenkarzinoms

Die Untersuchung des NMP 22 als Tumormarker des Harnblasenkarzinoms zeigte eindeutig erhöhte Werte bei dem Vergleich Blasentumorprobe zu gesunder Kontrollgruppe, zu benignen urologischen Erkrankungen und auch zu anderen malignen Erkrankungen. Diese Beobachtung stimmt mit der mehrfach getroffenen Aussage überein, dass das NMP22 innerhalb eines malignen urothelialen Geschehens erhöht ist (07; 09; 22; 35) und als potentieller Marker des Urothelkarzinoms zu kategorisieren ist.

In unserer Untersuchung zeigte sich insbesondere der Primärtumor mit einer signifikant erhöhten Konzentration des NMP 22 im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe.

Bei der Betrachtung der Rezidivtumore im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden. Somit ergab sich ein signifikanter Unterschied in den Konzentrationen des NMP 22 zwischen Primär- und Rezidivtumor.

Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen von Chang et al. (07), wobei das NMP 22 als Marker der Nachsorge und bei der Früherkennung von Rezidivtumoren hilfreich sein sollte.

Bei der Aufteilung der untersuchten Gruppe in gesund und krank ergibt sich keine Signifikanz. Wie in anderen Untersuchungen gezeigt, bestätigten wir, dass die Konzentration des NMP 22 mit steigender Malignität zunimmt (49).

Fasst man die oberflächlichen Tumorstadien zusammen und vergleicht diese mit den nicht-oberflächlichen, ergibt sich ein signifikanter Unterschied. Zu diesen Ergebnissen führten auch die Untersuchungen von Lekili et al. und Shariat et al. (27; 39).

NMP 22 ist somit als Marker des primären invasiven Urothelkarzinoms zu werten, für die Diagnosesicherung des oberflächlichen Urothelkarzinoms eignet sich die NMP 22 Bestimmung nicht, wie auch schon Lahme et al. festgestellt wurde (25).

Diese Aussage steht im Gegensatz zu den Erkenntnissen, die Mansoor et al. in ihren Untersuchungen erlangten, dabei ist jedoch anzumerken, dass es hierbei um die Nachsorge von Harnblasenkarzinompatienten handelte und nicht um die Primärdiagnose (30).

Die einzelne Gegenüberstellung von Ta zu T2 bis T4 zeigt keine signifikanten Unterschiede bezüglich der NMP 22-Konzentration.

Auch bei der Betrachtung der Zelldifferenzierungen konnten keine signifikanten Unterschiede der NMP 22 Konzentrationen aufgezeigt werden. Dies widerspricht den Untersuchungen von Di Carlo et al., in denen nachgewiesen wurde, dass bei schlecht differenzierten Tumoren die Konzentration des NMP 22 deutlich erhöht war im Vergleich zu den gut differenzierten Urothelkarzinomen (06).

Auch in einer anderen Veröffentlichung von Lekili et al. zeigte sich ein signifikanter Unterschied der NMP 22 Konzentrationen bezüglich der Zelldifferenzierung (27).

Bei dem selbst festgelegten Cut-Off von größer als 4,7 U/ml zeigt sich in der von uns untersuchten Gruppe eine Sensitivität von 45,45 % und eine Spezifität von 83,58 %.

Andere Untersuchungen zeigten eine große Spannweite der Sensitivität von 47 % bis 100 % und eine Spezifität zwischen 60 % und 70 % und auch in der Wahl des festgelegten Cut-Off-Wertes zwischen 3,6 bis 13,7 U/ml auf (25; 29).

Es wird deutlich, dass bei den unterschiedlich festgelegten Cut-Off-Werten der Vergleich der Ergebnisse und deren Auswertung nicht möglich sind.

In den von uns durchgeführten Untersuchungen wurden 65,63 % der Proben als richtig positiv zugeordnet (21 von 32). Mit einem Anteil von 34,7 % hat die gesunde Kontrollgruppe den größten Anteil der falsch positiv zugeordneten Proben. Hier stellt sich folgend die Frage, ob die genannten Ausschlusskriterien ausreichend definiert sind, oder die Umsetzung bzw. anamnestische Erhebung derer im klinischen Alltag durchführbar sind.

Falsch negativ zeigten sich insgesamt 30 % der Untersuchungen. Vor allem die Rezidivtumore nehmen hierbei einen hohen Anteil an (17,5 %) wobei die Primärtumore einen falsch negativen Anteil von 12,04 % einnahmen.

Der vom Hersteller empfohlene Referenzwert von 10 U/ml ergibt eine Sensitivität von 29,55 % und eine Spezifität von 92,54 %. Dabei zeigen sich Raten der falsch positiven von 66,67 %. Bei den falsch negativen Ergebnissen nehmen vor allem die Primärtumore einen großen Anteil ein (57,14 %). Die der Rezidivtumore lag bei 42,85 %.

5.4 Diagnostische Wertigkeit der Zytologie beim Harnblasenkarzinom

Der Vergleich zwischen Blasentumorgruppe und gesunder Kontrollgruppe zeigte in unseren Untersuchungen höchst signifikante Unterschiede in der Auswertung der zytologischen Untersuchung. Dennoch überzeugt dieser Wert nicht, denn weder die differenzierte Betrachtung der Primärtumore mit der gesunden Kontrollgruppe, noch die der Rezidivtumore mit der gesunden Kontrollgruppe erbrachten wesentliche Vorteile in Hinblick den Einsatz der Zytologie als Diagnosekriterium.

Auch beim Vergleich zwischen Primär- und Rezidivtumor ist Zytologie nicht geeignet zu differenzieren.

Die weiteren Untersuchungen der Diagnosesicherung mit Hilfe der Zytologie erbrachten bei der Betrachtung der Zelldifferenzierung wie auch der verschiedenen Tumorstadien keinen signifikanten Unterschied.

Die Aussage, dass mit zunehmender Malignität auch die Diagnosesicherheit mittels zytologischer Untersuchung steigt (03) kann hierbei nicht bestätigt werden.

Intravesikale Instillationen, Infektionen oder Manipulationen begrenzen die Aussagekraft der zytologischen Untersuchung erheblich.

Unsere Ergebnisse weisen eine Spezifität von 86,6% und eine Sensitivität von 44,4% für die Urinzytologie in Bezug auf die Diagnosesicherung des Urothelkarzinoms auf. Diese Werte liegen im Rahmen der in mehreren Untersuchungen erlangten Ergebnisse.

Die Rate der falsch positiven Befunde betrug hierbei 31,03 %. Vor allem die Rezidivtumore wurden mit insgesamt 15,66 % falsch negativ kategorisiert.

5.5 Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Tumormarker

Weder auf die Ergebnisse der NMP 22-Untersuchungen noch auf die der Zytologien hatten Alter oder Geschlechtszugehörigkeit einen statistisch signifikanten Einfluss (p jeweils größer als 0,5).

Auch bei anderen Untersuchungsreihen zeigte sich die NMP 22-Konzentration unabhängig vom Alter oder Geschlecht (39).

Somit erscheint das NMP 22 als ein von Geschlechtszugehörigkeit und Alter unbeeinflusster Marker, was die klinische Anwendung vereinfacht.

Mit zunehmendem Alter zeigte sich eine signifikant höhere Konzentration des TATI im Urin ($p=0,021$) und im Serum ($p=0,025$).

Weiterhin konnte der Nachweis bei der Urinuntersuchung des TATI erbracht werden, dass Männer eine statistisch bedeutungsvoll höhere Konzentration aufwiesen als Frauen ($p=0,0001$). Innerhalb der klinischen Anwendung müssten folglich diese Einflussgrößen beachtet werden und gegebenenfalls spezifische Cut-Off Werte neu definiert werden.

6. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, die Optimierungsmöglichkeiten in der Diagnostik, Verlaufskontrolle und Nachsorge des Urothelkarzinoms zu evaluieren.

Der derzeitige Goldstandard in der Diagnostik des Urothelkarzinoms setzt sich aus der Zystoskopie und ergänzenden Zytologie zusammen. Dabei ist die Zystoskopie eine invasive, aufwendige und kostenintensive Untersuchungsmethode, die zudem belastend für den Patienten ist. Die Zytologie als nicht-invasives Diagnostikmittel ist gering in der Sensitivität vor allem für low-grade Tumore und zusätzlich abhängig von dem Urteil des Untersuchers.

In der Vergangenheit wurde eine Vielzahl von Blasentumormarkern entwickelt, um jeden symptomatischen Blasentumorpatienten und auch diejenigen Patienten mit Risikofaktoren jedoch ohne spezifische Symptome zu erkennen und in der Nachsorge zu überwachen. Dabei wurde der Anspruch erhoben, einen verlässlichen, leicht verfügbaren, kostengünstigen und vom Untersucher unabhängigen Tumormarker herauszukristallisieren.

In der durchgeführten Studie wurde die Aussagekraft der potentiellen Tumormarker TATI und NMP 22 im Vergleich zu der am gleichen Patientenkollektiv durchgeführten histopathologischen Untersuchung und Zytologie untersucht.

Bei den Untersuchungen des TATI im Serum zeigte sich dieser als Marker bei der Erkennung des Blasentumors im Vergleich zur urothelgesunden Kontrollgruppe als nützlich. Aber auch bei anderen urologischen Tumoren waren die Konzentrationen deutlich erhöht.

Ebenfalls war TATI sowohl bei der Identifikation des Primärtumors als auch des Rezidivtumors im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe hilfreich.

Deutliche Unterschiede in der Konzentration des Markers zeigten sich hingegen bei der Gegenüberstellung der Primär- und Rezidivtumore nicht. Weder die Invasivität der Tumore noch der Grad der Zelldifferenzierung hatte Einfluss auf die Konzentration des Markers.

Bei einer Sensitivität von 60% und einer Spezifität von 56% wurden 42% der Primärtumore und 40% der Rezidivtumore als falsch negativ gewertet. Die diagnostische Güte ist somit gering.

Die Ergebnisse der Urinuntersuchungen bei Blasentumorpatienten bezüglich der TATI-Konzentrationen ergaben deutlich erhöhte Werte der Urothelkarzinomgruppe im Vergleich mit der Gruppe der Patienten, die anamnestisch ein Urothelkarzinom hatten, zum Untersuchungszeitpunkt jedoch tumorfrei waren. Der Gesamtvergleich zwischen der Blasentumorgruppe und blasentumorfreien Kontrollgruppe ergab keine essentiell verwertbaren Ergebnisse.

Weiterhin zeigten sich deutlich erhöhte Konzentrationen des Urin-TATI bei dem Vergleich der Primärtumore und Rezidivtumore zu der derzeit gesunden Vergleichsgruppe mit anamnestisch bekanntem Urothelkarzinom. Zwischen den Primärtumoren und den Rezidivtumoren ergaben sich ebenfalls keine erwähnenswerten Unterschiede in der Konzentration des untersuchten Markers. Bei der Betrachtung des Tumorstadiums wie auch bei der Zelldifferenzierung konnte keine statistisch relevante Aussage in der Bestimmung des TATI getroffen werden. Die Sensitivität betrug hierbei 60%, die Spezifität ebenfalls 60%. Die Rate der falsch negativen Bestimmungen liegt bei den Primärtumoren bei 32%, bei den Rezidivtumoren bei 45% und ist somit im Vergleich zu den Resultaten der TATI-Serumuntersuchungen weniger gravierend. In der vorbeschriebenen Literatur wurden jedoch im Gegensatz hierzu die Serumwerte des TATI als weniger störanfällig und somit als bevorzugt angesehen.

Zusätzlich muss betont werden, dass auch bei der Einbeziehung anderer malignen Erkrankungen des Urogenitaltraktes sowohl im Urin als auch im Serum die Konzentration des TATI erhöht waren.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass sich der TATI weder im Serum noch im Urin als Marker des Urothelkarzinoms eignet.

NMP 22 zeigte sich als hilfreich bei der Identifikation von Blasentumorpatienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe. Dabei wurde deutlich, dass vor allem die Primärtumore eine erhöhte Konzentration des untersuchten Markers aufwiesen. Die Untersuchungen der Rezidivkarzinome hingegen erbrachten keine bedeutsamen Ergebnisse. Die oberflächlichen Tumore wiesen eine deutlich höhere Konzentration des NMP 22 auf als die verglichenen invasiven Karzinome. Die Betrachtung der

Zelldifferenzierung ergab keine signifikanten Unterschiede in der NMP 22-Konzentration.

In der Anwendung des NMP 22 zur Tumordetektion zeigten sich eine Sensitivität von 46% und eine Spezifität von 84% bei der hier untersuchten Gruppe. Dabei waren 57% der Primärtumore und 42% der Rezidivtumore als falsch negativ gewertet worden.

Anhand dieser Untersuchungen muss festgestellt werden, dass sich weder TATI noch NMP 22 als alleiniges geeignetes, diagnostisches Kriterium zur Erkennung oder Nachsorge des Urothelkarzinoms herausgestellt hat. Weder die Sensitivität noch die Spezifität der untersuchten Tumormarker konnten im Sinne der diagnostischen Aussagekraft überzeugen.

Einerseits sind die hier erlangten Ergebnisse nicht eindeutig wegweisend, andererseits sind die bisher erhobenen Daten nicht konstant in ihrer Aussage.

Nicht zuletzt besteht aufgrund der vielen Ausschlusskriterien am Beispiel der NMP 22-Bestimmung eine hohe Störanfälligkeit, die oftmals nicht objektiv erfasst werden kann.

Für die Praxis erscheinen zwar beide untersuchten Marker als hilfreiches, ergänzendes Untersuchungsverfahren, aufgrund der aktuellen Datenlage kann der Goldstandard der Diagnostik des Urothelkarzinoms mittels Zystoskopie und Zytologie von NMP 22 oder TATI nicht abgelöst werden.

7. Literaturverzeichnis

01. Adshead JM, Kessler AM, Ogden CW

Genetic initiation, progression and prognostic markers in transitional cell carcinoma of the bladder: a summary of the structural and transcriptional changes, and the role of developmental genes

British Journal of Urology 82: 503-512, 1998

02. Berezney R, Coffey DS

Identification Of A Nuclear Protein Matrix

Biochemical And Biophysical Research Communications 60 (4): 1410-1417, 1974

03. Bichler KH, Becker G, Bokemeyer C, et al.

Harnblasenkarzinom: Empfehlungen zur Diagnose, Therapie und Nachsorge

Interdisziplinäres Tumorzentrum, Klinikum Eberhard-Karls-Universität Tübingen

September 2000

04. Black PC, Brown GA, Dinney CP

Molecular Markers of Urothelial Cancer and Their Use in the Monitoring of Superficial Urothelial Cancer

Journal Of Clinical Oncology 24 (35): 5528-5535, 2006

05. Brandau S, Böhle A

Bladder Cancer. I. Molecular and Genetic Basis of Carcinogenesis

European Urology 39: 491-497, 2001

06. Carlo Di A, Terracciano D, Mariano A, et al.

Role of cytokeratins, nuclear matrix proteins, Lewis antigen and epidermal growth factor receptor in human bladder tumors.

International Journal of Oncology 23 (3): 757-762, 2003

07. Chang YH, Wu CH, Lee YL, et al.

Evaluation Of Nuclear Matrix Protein-22 As A Clinical Diagnostic Marker For Bladder Cancer

Urology 64: 687-692, 2004

08. Compton DA, Cleveland DW

NuMa is required for the proper completion of mitosis

The Journal of Cell Biology 120 (4): 947-957, 1993

09. Dey P

Urinary markers of bladder carcinoma

Clinica Chimica Acta 340: 57-65, 2004

10. Diggle CP, Cruickshank S, Olsburgh JD, et al.

Identification of Genes Up-Regulated in Urothelial Tumors: The 67-kd Laminin Receptor and Tumor-Associated Trypsin Inhibitor

American Journal of Pathology 163 (2): 493-504, 2003

11. Eissa S, Kassim S, El-Ahmady O

Detection of bladder tumours: role of cytology, morphology-based assays, biochemical and molekular markers

Current Opinion in Obstetrics and Gynecology 15: 395-403, 2003

12. Gkialas I, Papadopoulos G, Iordanidou L, et al.

Evaluation of Urine Tumor-Associated Trypsin Inhibitor, Cyfra 21-1, and Urinary Bladder Cancer Antigen for Detection of High-Grade Bladder Carcinoma

Urology 72 (5): 1159-1163, 2008

13. Gordon JN, Shu WP, Schlüssel RN, Droller MJ, Liu BC

Altered extracellular matrices influence cellular processes and nuclear matrix organizations of overlying human bladder urothelial cells

Cancer Research 53 (20): 4971-4977, 1993

14. Grossmann HB, Messing E, Soloway M, et al.

Detection of Bladder Cancer Using a Point-of-Care Proteomic Assay

JAMA 293 (7): 810-816, 2005

15. Gupta NP, Sharma N, Kumar R

Nuclear Matrix Protein 22 as Adjunct to Urine Cytology and Cystoscopy in Follow-up of Superficial TCC of Urinary Bladder

Urology 73 (3): 592-597, 2009

16. Halila H, Huhtala ML, Haglund C, et al.

Tumor associated Trypsin inhibitor in ovarian cancer

British Journal Of Cancer 57: 304-307, 1988

17. Hotakainen K, Bjartell A, Sankila A, et al.

Differential expression of trypsinogen and tumor-associated trypsin inhibitor (TATI) in bladder cancer

International Journal Of Oncology 28: 95-101, 2006

18. Hutterer GC, Karakiewicz PI, Zippe C, et al.

Urinary cytology and nuclear matrix protein 22 in the detection of bladder cancer recurrence other than transitional cell carcinoma

British Journal of Urology International 101: 561-565, 2008

19. Jocham D, Miller K

Praxis der Urologie In zwei Bänden

Band II; 105-166

2. Auflage, Georg Thieme Verlag: 1994, 2003

20. Jung I, Messing E

Molecular Mechanisms and Pathways in Bladder Cancer Development and Progression

Cancer Control 7 (4): 325-333, 2000

21. Kälble T

Ätiopathologie, Risikofaktoren, Umwelteinflüsse und Epidemiologie des Harnblasenkarzinoms

Der Urologe A 40: 447-450, 2001

22. Keese SK, Briggman JV, Thill G, Wu YJ

Utilization of nuclear matrix proteins for cancer diagnosis

Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression 6 (2-3): 189-214, 1996

23. Kelloniemi E, Rintala E, Finne P, et al.

Tumor-Assoziated Trypsin Inhibitor As A Prognostic Factor During Follow-Up Of Bladder Cancer

Urology 62 (2): 249-253, 2003

24. Knowles MA

What we could do now: molecular pathology of bladder cancer

Journal of Clinical Pathology: Molecular Pathology 54: 215-221, 2001

25. Lahme S, Bichler KH, Feil G, Krause S

Comparison of Cytology and Nuclear Matrix Protein 22 for the Detection and Follow-Up of Bladder Cancer

Urologia Internationalis 66: 72-77, 2001

26. Lau P, Chin JL, Pautler S, et al.

NMP22 is predictive of recurrence in high-risk superficial bladder cancer patients.

Canadian Urology Association Journal 3 (6): 454-458, 2009

27. Lekili M, Sener E, Demir MA, Temeltas G, Muezzinoglu T, Büyüksu C

Comparison of the nuclear matrix protein 22 with voided urine cytology in the diagnosis of transitional cell carcinoma of the bladder

Urology Research 32: 124-128, 2004

28. Liedl B, Zaak D, Schwaibold H, et al.

Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge Urogenitale Tumoren
MANUAL Urogenitale Tumoren
Tumorzentrum München, 3. Auflage 2003

29. Lokeshwar VB, Selzer MG

Urinary bladder tumor markers
Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations 24: 528-537, 2006

30. Mansoor I, Calam RR, Al-Khafaji B

Role of urinary NMP-22 combined with urine cytology in follow-up surveillance of
recurring superficial bladder urothelial carcinoma
Analytical & Quantitative Cytology & Histology 30 (1): 25-32, 2008

31. Nguyen CT, Jones JS

Defining the role of NMP22 in bladder cancer surveillance
World Journal of Urology 26 (1): 51-58, 2008

32. Nielsen ME, Schaeffer EM, Veltri RW, Schoenberg MP, Getzenberg RH

Urinary markers in the detection of bladder cancer: what's new?
Current Opinion in Urology 16: 350-355, 2006

33. Otto T, Rübber H

Prävention des Harnblasenkarzinoms
Der Urologe A: Online publiziert: 4. Dezember 2003

34. Pectasides D, Bafaloucos D, Antoniou F, et al.

TPA, TATI, CEA, AFP, (beta)-HCG, PSA, SCC, and CA 19-9 for Monitoring Transitional
Cell Carcinoma of the Bladder
American Journal Of Clinical Oncology 19 (3): 271-277, 1996

35. Saad A, Hanbury TA, McNicholas GB, et al.

A study comparing various noninvasive methods of detecting bladder cancer in urine
British Journal of Urology International 89: 369-373, 2002

36. Schmitz-Dräger BJ, Goebell PJ, Heydthausen M

p53 immunohistochemistry in bladder cancer Combines analysis: a way to go?
Urologic Oncology 5: 204-210, 2000

37. Schroeder GL, Lorenzo-Gomez MF, Hautmann SH, et al.

A side by side comparison of cytology and biomarkers for bladder cancer detection
The Journal of Urology 172: 1123-1126, 2004

38. Shariat SF, Herman MP, Casella R, et al.

Urinary Levels of Tumor-Associated Trypsin Inhibitor (TATI) in the Detection of
Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder
European Urology 48: 424-431, 2005

39. Shariat SF, Casella R, Wians FH, et al.

Risk Stratification for Bladder Tumor Recurrence, Stage and Grade by Urinary Nuclear
Matrix Protein 22 and Cytology
European Urology 45: 304-313, 2004

40. Shariat SF, Marberger MJ, Lotan Y, et al.

Variability in the Performance of Nuclear Matrix Protein 22 for the Detection of Bladder
Cancer
Journal of Urology 176 (3): 919-926, 2006

41. Stenman UH

Tumor-associated Trypsin Inhibitor
Clinical Chemistry 48 (8): 1206-1209, 2002

42. Taccone W, Mazzon W, Belli M, et al.

Evaluation of TATI and other markers in solid tumors.
Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 207: 25-32, 1991

43. Talwar R, Sinha T, Karan SC, et al.

Voided Urinary Cytology in Bladder Cancer: Is It Time to Review the Indications?
Urology 70 (2): 267-271, 2007

44. Tashiro K, Torii S, Iwamuro S, et al.

Pancreatic secretory trypsin inhibitor in urothelial cancer

Hinyokika Kyo. 35 (10): 1659-1663, 1989

45. Tomera KM

NMP22® BladderChekTest®: point-of-care technology with life and money-saving potential

Expert Reviews of Molecular Diagnostics 4 (6): 783-794, 2004

46. Tramonti G, Ferdeghini M, Annichiarico, et al.

Assessment of tumor-associated trypsin inhibitor (TATI) as a marker of renal function

Journal of Nephrology 16 (5): 663-672, 2003

47. Tramonti G, Ferdeghini M, Donadio C, et al.

Serum levels of tumor associated trypsin inhibitor (TATI) and glomerular filtration rate.

Ren Fail. 20 (2): 295-302, 1998

48. Tritschler S, Zaak D, Stief CG

Urinzytologie und Urinmarker: Bedeutung für die Praxis

Der Urologe 11: 1441-1448, 2006

49. Tsui KH, Chen SM, Wang TM, et al.

Comparison of voided urine cytology, nuclear matrix protein-22 and bladder tumor

Associated antigen test for bladder cancer of geriatric male patients in Taiwan, China

Asian Journal of Andrology 9 (5): 711-715, 2007

51. Waldner M, Ubrig B, Roth S

Screening und Nachsorge des Urothelkarzinoms; Welchen Stellenwert haben

Tumormarker

Urologe (B) 39: 321-324, 1999

50. Yi S, Da-lin H, Qiang MA, et al.

Comparison of seven screening methods in the diagnosis of bladder cancer

Chinese Medical Journal 119 (21): 1763-1771, 2006

52. Leitlinien zur Diagnostik und Therapie des Harnblasenkarzinoms

Im Auftrag der Deutschen Krebsgesellschaft und ihrer wissenschaftlichen Arbeitsgemeinschaften, der Deutschen Krebshilfe und der Deutschen Gesellschaft für Urologie und in Kooperation mit nachstehend angeführten wissenschaftlichen Fachgesellschaften, der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Tumorzentren sowie dem Berufsverband Deutscher Urologen, Miller K, Weißbach L
Der Urologe A 37: 440-457, 1998

53. Interdisziplinäre Kurzgefasste Leitlinien der Deutschen Krebsgesellschaft und der Deutschen Gesellschaft für Urologie

3. Auflage 2002

54. Krebs in Deutschland Häufigkeiten und Trends

Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland
In Zusammenarbeit mit dem Robert Koch-Institut
4. Ausgabe 2004

55. Schriftenreihe des GKR

Krebsinzidenz 2000

-Jahresbericht-

Im Erfassungsbericht des Gemeinsamen Krebsregister
Berlin 1/2004

8. Erklärung

Erklärung

„Ich, Katja Stier, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „TATI und NMP 22 als Tumormarker des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 17.11.2010

Katja Stier

9. Danksagung

Mein Dank gilt zunächst Herrn PD Dr. Steffen Weikert, für die Überlassung des Dissertationsthemas und die zahlreichen Anregungen und Diskussionen bis zur Fertigstellung dieser Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Kollegen und Kolleginnen des Urologischen Forschungslabors Charité Campus Mitte und Prof. Dr. Klaus Jung für die freundliche Hilfsbereitschaft und Unterstützung in den praktischen Anwendungen bedanken.

Ebenfalls bedanke ich mich bei dem Nuklearmedizinischen Labor Charité Campus Mitte für die kollegiale Zusammenarbeit.

Besonderer Dank gilt Dr. Markus Sachs sowie Dr. Daniel Baumunk für deren Unterstützung und Betreuung.

Mein größter Dank und meine größte Anerkennung gelten meiner Familie, ohne deren ermutigende Unterstützung und ihr anhaltendes Vertrauen der lange Weg bis hierhin nicht möglich gewesen wäre.

10. Lebenslauf

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