

Aus der Universitätsklinik für Urologie Tübingen

„Einfluss des Nikotinkonsums auf die Aussagekraft urinbasierter Marker in der  
Diagnostik des Harnblasenkarzinoms“

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
Doktor, Katharina  
2019

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth  
1. Berichtserstatter: Professor Dr. med. T. Todenhöfer  
2. Berichtserstatter: Privatdozent Dr. med. A. Kirschniak  
Tag der Disputation: 03.07.2019

Für meinen Bruder

# Inhaltverzeichnis

<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Harnblasenkarzinom</b>	<b>1</b>
1.1.1 Epidemiologie	1
1.1.2 Risikofaktoren	2
1.1.3 Klassifikation	3
1.1.4 Symptome	5
1.1.5 Prävention	6
1.1.6 Diagnostik	6
1.1.7 Differenzialdiagnose	7
1.1.8 Therapie	8
1.1.9 Prognose	12
<b>1.2 Urindiagnostik und ihre potentielle Störeinflüsse</b>	<b>13</b>
1.2.1 Harnmarker in der Blasenkarzinom-Diagnostik	13
1.2.2 Diagnostik mit Urinzytologie	13
1.2.3 Diagnostik mit UroVysion/FISH™	14
1.2.4 Diagnostik mit uCyt+/ImmunoCyt™	14
1.2.5 Diagnostik mit NMP22™	15
1.2.6 Weitere Urinmarkertests	16
<b>1.3 Rauchen</b>	<b>16</b>
1.3.1 Auswirkungen auf den Körper	16
1.3.2 Inhaltsstoffe des Tabakrauches	17
<b>1.4 Rauchen und seine Auswirkungen auf molekularer Ebene</b>	<b>19</b>
1.4.1 Entzündungsreaktionen durch Rauchen	19
1.4.2 Veränderungen des Lipidstoffwechsels durch Rauchen	21
1.4.3 Genetische Veränderungen durch Rauchen	22
<b>1.5 Fragestellung</b>	<b>24</b>
<b>2. PATIENTEN UND METHODEN</b>	<b>25</b>
<b>2.1 Ethik</b>	<b>25</b>
<b>2.2 Datenschutz</b>	<b>25</b>
<b>2.3 Patientenkollektiv</b>	<b>26</b>
2.3.1 Ein- und Ausschlusskriterien	26
2.3.2 Erhebung der Datenbank anhand der Ein- und Ausschlusskriterien	27
2.3.3 Durchgeführte Urindiagnostik	27
2.3.4 Zystoskopie	33
<b>2.4 Datenerhebung</b>	<b>34</b>
2.4.1 Datenquelle	34
2.4.2 Ablauf der Datenerhebung	35
2.4.3 Parameter der Excel-Datenbank	37
<b>2.5 Erhebung des Raucherstatus</b>	<b>38</b>
2.5.1 Rauchen	38
2.5.2 Ablauf der Erhebung des Raucherstatus	39

<b>2.6</b>	<b>Statistische Auswertung der Daten .....</b>	<b>42</b>
2.6.1	Einteilung des Studienkollektivs in Subkollektive .....	42
2.6.2	Kontingenzanalyse innerhalb der Subkollektive.....	42
2.6.3	Differenzielle Darstellung der Testwertigkeiten in Abhängigkeit vom Raucherstatus .....	43
2.6.4	Trendtests .....	44
<b>3.</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>45</b>
<b>3.1</b>	<b>Eigenschaften des Patientenkollektivs.....</b>	<b>45</b>
3.1.1	Geschlechts- und Altersverteilung .....	45
3.1.2	Gemessene Harnmarker .....	45
<b>3.2</b>	<b>Raucherstatus .....</b>	<b>46</b>
<b>3.3</b>	<b>Onkologische Charakteristika des Patientenkollektivs .....</b>	<b>47</b>
3.3.1	Tumorlokalisierung .....	47
3.3.2	Tumorstadium und Grad .....	47
3.3.3	Verteilung der Tumorstadien bezogen auf das Rauchverhalten .....	48
<b>3.4</b>	<b>Einfluss des Rauchens auf das Testergebnis.....</b>	<b>49</b>
3.4.1	Urinzytologie .....	49
3.4.2	UroVysion/FISH™ .....	53
3.4.3	uCyt+/ImmunoCyt™ .....	58
3.4.4	NMP22™ .....	63
3.4.5	Urindiagnostik im Vergleich .....	68
<b>4.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>73</b>
<b>4.1</b>	<b>Diskussion und Wesen der Arbeit .....</b>	<b>73</b>
<b>4.2</b>	<b>Aktuelle und ehemalige Raucher .....</b>	<b>73</b>
4.2.1	Verbreitung des Rauchens.....	73
4.2.2	Unterschiede zwischen aktuellen und ehemaligen Rauchern .....	74
<b>4.3</b>	<b>Urinmarker und durch Rauchen assoziierte Alterationen .....</b>	<b>75</b>
4.3.1	Urinzytologie .....	75
4.3.2	UroVysion/FISH™ .....	77
4.3.3	uCyt+/ImmunoCyt™ .....	79
4.3.4	NMP22™ .....	81
<b>4.4</b>	<b>Limitationen der vorliegenden Arbeit .....</b>	<b>83</b>
<b>4.5</b>	<b>Schlussfolgerungen.....</b>	<b>85</b>
<b>5.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>86</b>
<b>6.</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>87</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>89</b>
<b>8.</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS</b>	<b>97</b>
<b>9.</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>99</b>
<b>10.</b>	<b>DIAGRAMMVERZEICHNIS</b>	<b>100</b>
<b>11.</b>	<b>ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL</b>	<b>102</b>

**12. PUBLIKATIONEN**

**103**

**13. DANKSAGUNG**

**104**

# 1. Einleitung

## 1.1 Harnblasenkarzinom

### 1.1.1 Epidemiologie

Das BC (Harnblasenkarzinom) ist nach dem Prostatakarzinom das zweithäufigste Karzinom des Urogenitalbereiches in Deutschland. Mit 4,5% bei Männern und 1,8% bei Frauen steht das BC an 4. und 14. Stelle der häufigsten Tumorlokalisationen aller Krebsneuerkrankungen in Deutschland (vgl. Abbildung 1).

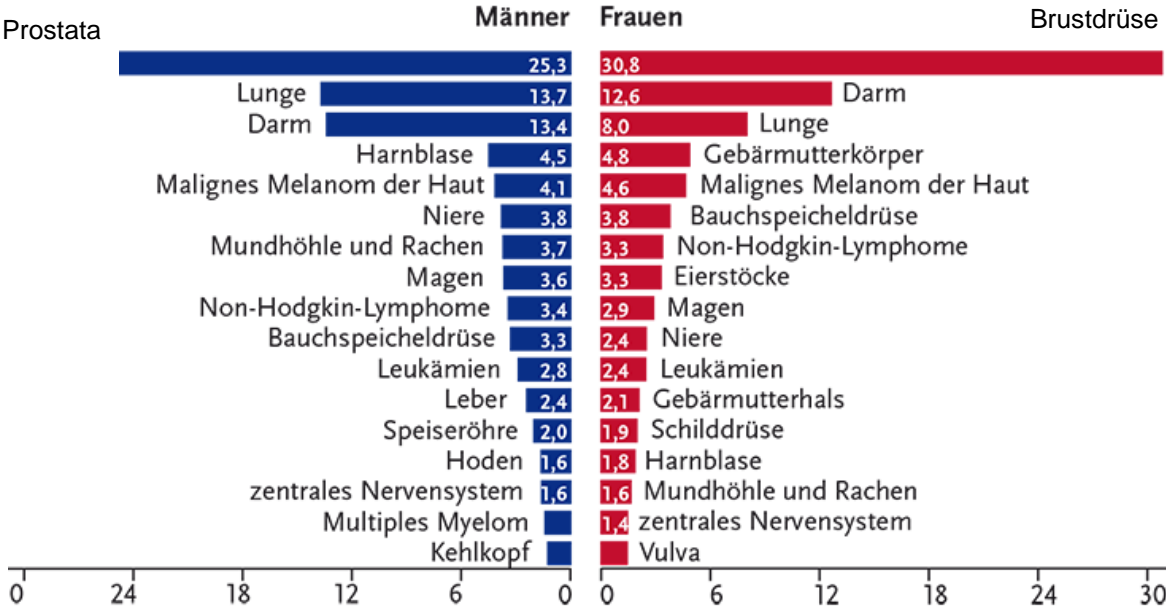


Abbildung 1 **Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2012 ohne nicht-melanotischen Hautkrebs** (RKI (Hrsg) 2015).

Seit der Einführung der ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems) im Jahr 1998 galten CIS (Carcinoma in situ) und Ta (nicht-invasive papilläre Tumore) der Harnblase nicht mehr als maligne, sodass sie einige Jahre nicht zur Inzidenzrate hinzugezählt wurden. Klinisch werden die CIS und Ta zu den nicht-muskelinvasiven BC gezählt. In Abschnitt 1.1.3 Klassifikation werden die Tumorstadien Ta und CIS erläutert. Um die Inzidenzrate besser beurteilen zu können, werden in den heutigen Krebsregistern die CIS und Ta zu den malignen BC zusammengefasst.

In Deutschland betrug im Jahr 2012 die Inzidenzrate für das BC bei Männern 55,5 je 100.000 Personen, bei Frauen 17,3 je 100.000 Personen (Krebsregisterdaten 2016). Im Jahr 2013 erkrankten in Deutschland ca. 29.500 Personen, gut ein Viertel davon Frauen, an BC (Krebsregisterdaten 2016). Die Inzidenz der invasiven Formen des BC blieb über Jahre konstant. Die NMIBC (nicht-muskelinvasiven Blasenkarzinome) Ta und CIS sind in den letzten Jahren angestiegen. Gleichzeitig sind die Tumoren mit fehlenden Stadienangaben gesunken, was eine Erklärung für den Anstieg der NMIBC sein könnte.

Laut Angaben des Zentrums für Krebsregisterdaten waren im Jahr 2013 173.000 Personen an BC erkrankt. Die Erkrankungsraten steigen mit dem Alter der Patienten an (RKI (Hrsg) 2015). Knapp die Hälfte der Patienten war über 75 Jahre alt. Die Erkrankten waren zu über 75% männlich (RKI (Hrsg) 2015).

### **1.1.2 Risikofaktoren**

Rauchen stellt einen der größten Risikofaktoren für die Entwicklung eines BC dar. Die Dauer des Rauchens und die Anzahl der Zigaretten erhöhen das Risiko an einem BC zu erkranken. Aktuelle Studien zeigen, dass eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der Anzahl an gerauchten Zigaretten und der Dauer existiert (Alvanja, Bartsch et al. 2012). Zudem zeigt sich ein Rückgang des relativen Risikos bei Menschen, die das Rauchen aufgegeben hatten, im Vergleich zu Menschen, die das nicht getan hatten (Alvanja, Bartsch et al. 2012). Aromatische Amine können BC auslösen. Neben dem Auftreten im Tabakrauch, zum Beispiel 2-Naphtylamin, treten aromatische Amine hauptsächlich berufsbedingt in der chemischen Industrie zur Synthese von Farben und Kunstfasern auf. Vier Amine werden aktuell in Deutschland als krebserzeugend für den Menschen eingestuft. Diese sind: Benzidin, 2-Naphthylamin, 4-Aminobiphenyl, 4-Chlorotoluidin (Bedemann, Beth-Hübner et al. 2009). In einer Meta-Analyse wurden epidemiologische Studien gesichtet, um den Zusammenhang zwischen Beruf und BC zu untersuchen (Reulen, Kellen et al. 2008). Diese umfassende Analyse bestätigte ein signifikant erhöhtes Risiko von BC bei Arbeitern in folgenden Berufen: Busfahrer, Kraftfahrzeugmechaniker, Schmied, Bergleute, Maschineneinrichter, Mechaniker, Arbeiter in der Gummi- und Lederbranche, Friseur, Tankwartangestellte.



Die aktuelle Datenlage lässt keine generelle Aussage zur genetischen Prädisposition für die Entwicklung eines BC zu (Leitlinienprogramm Onkologie 2016). Spezielle genetische Syndrome, wie das Lynch Syndrom, sind mit einem höheren Auftreten von BC assoziiert. Das Lynch Syndrom, auch HNPCC (hereditäres non polypöses kolorektales Karzinom) genannt, ist eine hereditäre Erkrankung, bei welcher ein deutlich erhöhtes Risiko besteht, an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken. Zudem treten vermehrt HNPCC assoziierte Karzinome, wie z.B. Ovarial-, Endometrium-, und Magenkarzinome, auf. Ätiologisch sind Mutationen in verschiedenen Genen verantwortlich, die für Proteine der DNA-Reparaturmaschinerie (Desoxyribonukleinsäure) kodieren. Dies erhöht die Mikrosatelliteninstabilität. Von HNPCC betroffene Patienten mit einer Mutation am MSH2-Gen haben ein erhöhtes Risiko, an BC zu erkranken (Skeldon, Semotiuk et al. 2013).

Auch entzündliche Erkrankungen der Harnblase können die Entstehung eines BC begünstigen. Eine Übersichtsarbeit, in welcher über 40 retrospektive Studien zusammengetragen wurden, zeigte, dass in fünf von sechs Studien eine Assoziation zwischen BC-Risiko und Harnwegsinfektionen beschrieben wurde (Abol-Enein 2008).

Im tropischen und subtropischen Afrika, aber auch in Südostasien und auf den arabischen Halbinseln ist die Bilharziose eine besondere Form der Entzündungen. Die Bilharziose, auch Schistosomiasis genannt, ist eine durch Saugwürmer der Gattung Schistosoma verursachte chronische Infektionskrankheit. Bei Befall der Harnblase, welcher sehr häufig ist, liegt ein erhöhtes Risiko zur Entwicklung eines BC vor (Abol-Enein 2008).

Zuletzt kann auch eine Strahlentherapie im kleinen Becken mit einer Latenzzeit von mehreren Jahren zur Entwicklung eines BC führen (Leitlinienprogramm Onkologie 2016).

### **1.1.3 Klassifikation**

Um eine geeignete Therapie wählen zu können, muss vor Therapiebeginn durch die unten genannte Diagnostik das Tumorstadium bestimmt werden. Durch die histologische Untersuchung erfolgt die Einteilung der Stadien anhand der Differenzierung, des Wachstumsverhaltens, des Gradings und des

Vorhandenseins von Metastasen. Mit Hilfe der WHO- (World Health Organization) und TNM- (Tumor Nodus Metastasen) Klassifikation werden die Tumoren eingeteilt.

### **1.1.3.1 WHO/ISUP-Klassifikation**

Im Jahr 2004 wurde von der WHO und der ISUP (International Society of Urologic Pathologists) anhand des Gratings die WHO/ISUP Klassifikation veröffentlicht. Das Grading beschreibt die histopathologische Differenz der Krebszellen im Vergleich zu physiologisch gesunden Zellen eines bestimmten Gewebes, hier des Urothelgewebes. Es werden drei Gruppen unterschieden: PUNLMP (papilläre urotheliale Neoplasien niedrigen malignen Potentials), gut differenzierte LG-Tumoren (low grade), und schlecht bis undifferenzierte HG-Tumoren (high grade).

### **1.1.3.2 TNM-Klassifikation**

Zwischen den Jahren 1943 und 1952 hat der Franzose Pierre Denoix die TNM-Klassifikation entwickelt (Denoix 1944). Seit dem Jahr 1950 wird diese Klassifikation von der UICC (Union internationale Contre le Cancer) weitergeführt. Die TNM-Klassifikation, welche die anatomische Ausbreitung der Krankheit beschreibt, setzt sich aus dem Akronym Tumor, Nodus und Metastasen zusammen. T (Tumor) gibt die Ausbreitung, und Größe des Primärtumors an. N (Nodus) beschreibt das Vorhandensein von lokal befallenen Lymphknoten. M (Metastasen) steht für das Auftreten von Metastasen (James D. Brierley 2017). Abbildung 2 zeigt anhand der TNM-Klassifikation die Einteilung der Stadien. Ein vorangestelltes p bedeutet, dass die Tumorklassifizierung aufgrund pathologischer Untersuchungen erfolgte. Zusätzlich können die Invasion in die Lymphgefäße mit L, der Befall der Blutgefäße mit V (Veneninvasion) und die Invasion des Perineuriums ermittelt werden.

Anhand der Infiltrationstiefe der Blase lassen sich zwei Gruppen von Tumoren unterscheiden. Die NMIBC, die auch als oberflächliche Tumoren bezeichnet, tragen die T-Stadien Ta, T1 und Tis. Die T-Stadien T2, T3, und T4 beschreiben die in tiefere Schichten eingewachsenen Tumoren, die MIBC (muskelinvasive Blasenkarzinome).

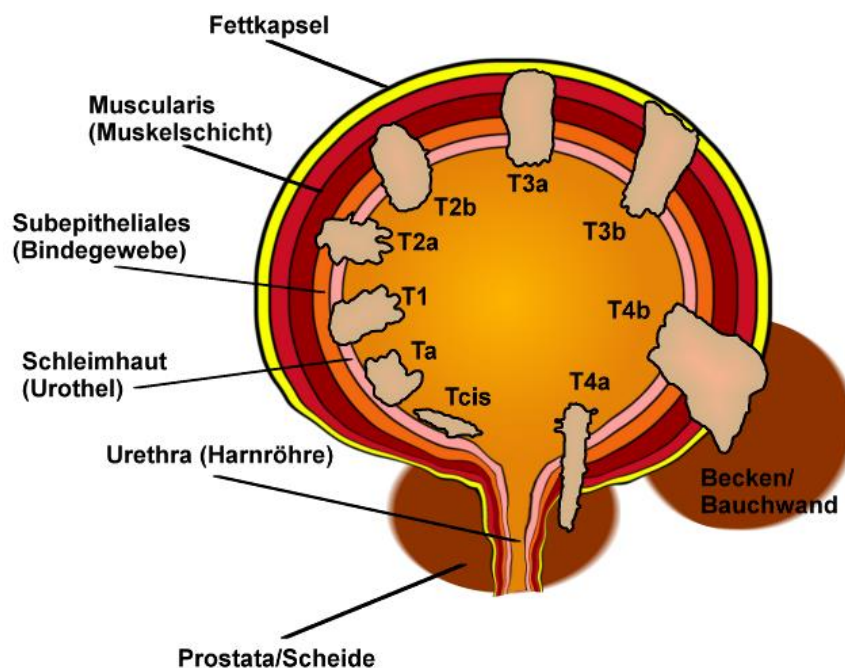


Abbildung 2 Infiltrationstiefe des Harnblasenkarzinoms in die einzelnen Schichten anhand der TNM-Klassifikation (Reisende 2005).

#### 1.1.4 Symptome

Das BC verursacht keine eindeutigen spezifischen Beschwerden. Im Frühstadium kann als Erstsymptom eine schmerzlose Hämaturie auftreten. Diese tritt bei ca. 80% der Betroffenen auf. Die Hämaturie, das pathologisch erhöhte Auftreten von Erythrozyten im Urin, stellt kein spezifisches Symptom für das BC da. Irritative Symptome wie Harndrang, Pollakisurie, das häufige, und Dysurie, das schmerzhaftes Wasserlassen, können Beschwerden sein, welche im Frühstadium eines BC auftreten können. Auch rezidivierende Harnwegsinfekte können ein Hinweis auf ein BC sein.

Im fortgeschrittenen Stadium treten aufgrund der Größenprogredienz des invasiv wachsenden Tumors und der resultierenden Verdrängung anderer Organe Beschwerden auf. Wächst der Tumor in Richtung der Harnleiter und verdrängt diese, kann sich daraus eine Abflussbehinderung ergeben. Sonographisch zeigt sich eine Harnstauungsniere, Hydronephrose genannt. Sowohl die gestaute Niere, als auch das verdrängende Wachstum in dieser Gegend kann Flankenschmerzen auslösen. Knochenschmerzen können auf bereits

vorhandene ossäre Metastasen hindeuten. Zusätzlich wird in manchen Fällen Gewichtsverlust und nächtliches Schwitzen beobachtet.

### **1.1.5 Prävention**

Die einfachste Präventionsmaßnahme stellt die Meidung der beeinflussbaren Risikofaktoren dar. Dazu zählen die Nikotinkarenz und die Vermeidung des Umgangs mit aromatischen Aminen. Die frühzeitige Behandlung von Infektionen stellt eine weitere Prävention da.

### **1.1.6 Diagnostik**

In einer ausführlichen Anamnese werden Veränderungen des Miktionsverhaltens, wie Dysurie, Hämaturie und Pollakisurie, sowie, die bereits unter Ätiologie genannten Risikofaktoren erfragt. Einer körperlichen Untersuchung folgt die Urindiagnostik durch Urin-Stix, Sedimentmikroskopie und Urinzytologie, sowie die Bestimmung der Harnmarker. Bei anhaltendem Verdacht auf ein BC, folgt eine Urethrozystoskopie. Zur weiteren apparativen Diagnostik kommen die abdominale und transrektale Sonographie, die CT (Computertomographie) und die MRT (Magnetresonanztomographie) zum Einsatz.

#### **1.1.6.1 Urin-Stix, Sedimentmikroskopie**

Der Urin-Stix detektiert eine Mikrohämaturie, welche dem Patienten durch den fehlenden rot gefärbten Urin nicht aufgefallen ist. Der Urin Stix kann bei Vorliegen einer Myoglobinurie falsch-positiv sein, sodass sich differentialdiagnostisch die Durchführung einer Sedimentmikroskopie empfiehlt.

Durch Zentrifugieren der Urinprobe werden die festen Bestandteile gewonnen, welche daraufhin mikroskopisch untersucht werden. Neben Leukozyten können auch Erythrozyten erkannt und beurteilt werden. Das Vorliegen von Erythrozyten ist beweisend für eine Hämaturie.

#### **1.1.6.2 Urethrozystoskopie**

Durch die Urethrozystoskopie, die endoskopische Spiegelung der Harnblase über die Harnröhre, können Lage, Größe und Anzahl der Tumore beurteilt werden. Der Eingriff erfolgt ohne Narkose. Mit einer Sensitivität von 92% stellt

die Zystoskopie den Goldstandard in der Diagnostik des Urothelkarzinoms dar (Schlake, Crispin et al. 2012).

Es lassen sich drei Arten von Zystoskopien unterscheiden. Die Zystoskopie mit Weißlicht, WLI (white-light imaging), wird in den meisten Häusern als Standarduntersuchung durchgeführt. Bei der PDD (Photodynamische Diagnostik) wird vor der Urethrozystoskopie ein Fluoreszenzfarbstoff, Hexyl-Aminolävulinsäure, über einen Katheter in die Harnblase eingebracht. Die rot fluoreszierenden Porphyrine akkumulieren in den malignen Urothelzellen und zeigen dadurch bei der Untersuchung mit Blaulicht einen besseren Kontrast zwischen benignem und malignem Gewebe in der Blase. Die NBI (narrow band imaging, Schmalband-Bildgebung) arbeitet mit Weißlicht zweier spezifischer Wellenlängen. Die kürzere Wellenlänge mit 415 nm durchdringt nur die oberste Schicht der Schleimhaut, und stellt vaskularisierte Tumoren bräunlich dar. Die zweite Wellenlänge mit 540 nm dringt in die tieferen Schichten der Harnblase ein und gibt dem Untersucher in bläulicher Farbe Aufschluss über die tiefe Vaskulatur des Tumors (Olympus 2016).

#### **1.1.6.3 Weitere apparative Diagnostik**

Als bildgebendes Verfahren steht die Sonographie aufgrund ihrer breiten Zugänglichkeit an erster Stelle. Hiermit können der Tumor direkt, oder die durch den Tumor entstandenen Folgen, wie eine Harnstauungsniere, nachgewiesen werden.

Zur Darstellung der Nierenausscheidung und Harnabflusswegen wird die intravenöse Urographie, auch AUG (Ausscheidungsurographie) genutzt. Nach intravenöser Verabreichung eines Kontrastmittels werden Röntgenbilder des Abdomens zu unterschiedlichen Zeitpunkten aufgenommen. Strikturen und Abflussstörungen können so gesichtet werden. Mit der Computertomographie des Abdomens können Tumore des oberen Harntraktes ausgeschlossen werden.

#### **1.1.7 Differenzialdiagnose**

Differentialdiagnostisch muss man bei einer schmerzlosen Hämaturie neben einem BC ein Nierenzellkarzinom, ein Prostatakarzinom, oder ein Sarkom in Betracht ziehen. Auch entzündliche Erkrankungen, wie eine Glomerulonephritis,

Zystitis, bestimmte Medikamente oder eine Urolithiasis können eine Hämaturie verursachen.

### **1.1.8 Therapie**

Die Therapie des BC richtet sich nach der Ausbreitung und Pathologie des Tumors, dem Tumorstadium. Es können zwei Gruppen unterschieden werden: Die Therapie des NMIBC und die des MIBC.

#### **1.1.8.1 Therapie des nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinoms**

Ziel der Therapie ist das tumorfreie Überleben und der Erhalt der Blasenfunktion.

##### **1.1.8.1.1 TUR-B**

Die TUR-B (transurethrale Resektion der Blase) bezeichnet die Entfernung des Tumors durch die Harnröhre. Anfangs wird die TUR-B zur Gewinnung der Histologie durchgeführt. Die Resektion des Tumors erfolgt mittels eines computergesteuerten Hochfrequenzstroms oder via endoskopischer Laserabtragung. Bei allen Patienten mit NMIBC ist eine TUR-B empfohlen (Brausi, Witjes et al. 2011). Therapiert werden können mittels TUR-B nur NMIBC, bei anderen Karzinomen wie pTis und ab T2 schließt sich eine weitere Therapie an.

##### **1.1.8.1.2 Adjuvante Therapie**

Mithilfe der EORTC-Risikoklassifizierung (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) kann der Therapeut das Rezidiv- und Progressionsrisiko für das NMIBC einschätzen. Anhand der Anzahl der Tumore, der Tumorgöße, der vorherrschenden Rezidivrezidiv, des T-Stadiums, des Vorhandenseins eines CIS und des Gradings wird die Risiko-Klassifizierung vorgenommen (Sylvester, van der Meijden et al. 2006).

NMIBC werden in LR (low-risk), IR (intermediate-risk) und HR (high-risk) Gruppen eingeteilt. Über die empfohlenen Therapieansätze entsprechend der LR-, IR- und HR-Einteilung gibt Tabelle 1 Auskunft.

Optionen für eine adjuvante Therapie sind:

- Frühinstillationstherapie

Nach der EORTC-Risikoklassifizierung schließt sich bei LR-Patienten eine einmalige intravesikale Chemotherapeutikagabe an. Ziel ist, das Rezidivrisiko zu senken. Als Chemotherapeutika kommen Mitomycin C, Epirubicin oder Doxorubicin zum Einsatz.

- BCG-Therapie

BCG (Bacillus Calmette-Guérin) bezeichnet einen attenuierten Lebendimpfstoff, welcher bereits seit 30 Jahren beim NMIBC zum Einsatz kommt. Indikation für eine BCG-Therapie stellen HG-Tumore und pTis nach der TUR-B dar. Die genaue Wirkung dieser Immuntherapie ist noch immer Gegenstand aktueller Forschungen. Aktuelle Studien gehen davon aus, dass die intravesikale BCG-Gabe die Sekretion von Zytokinen und Chemokinen stimuliert. Die Krebszellen werden entweder durch direkte Zytotoxizität, durch Apoptose, welche durch den TRAIL (tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) eingeleitet wird, und/oder durch den direkten Kontakt mit BCG zerstört (Redelman-Sidi, Glickman et al. 2014). Absolute Kontraindikationen für eine BCG-Instillationstherapie sind eine in den vorangegangenen zwei Wochen durchgeführte TUR-B, eine traumatische Katheterisierung der Harnblase, Patienten mit Makrohämaturie oder Patienten mit symptomatischem Harnwegsinfekt (M. Babjuk (Chair) and Guidelines Associates: O. Capoun 2016). Die Rezidivrate des NMIBC ist durch eine Therapie mit BCG geringer (Han and Pan 2006).

### **1.1.8.1.3 Radikale-Zystektomie**

Unter einer Zystektomie versteht man die komplette Entfernung der Harnblase. Indikation für eine Zystektomie beim NMIBC stellt das Frührezidiv oder die Tumorpersistenz nach einer BCG-Therapie da (Thomas, Noon et al. 2013).

Tabelle 1 **Risikoklassifizierung von nicht muskelinvasiven BC und deren empfohlene Therapieansätze** (Leitlinienprogramm Onkologie 2016) modifiziert durch Katharina Docktor. Papilläre urotheliale Neoplasien niedrigen malignen Potentials (PUNLMP), gut differenzierte „low-grade-Tumoren“ (LG), und schlecht bis undifferenzierte „high-grade-Tumoren“ (HG). TUR-B Transurethrale Resektion der Blase. BCG Bacillus-Calmette-Guérin.

Risiko-klassifizierung	Definition	empfohlene Behandlung
low-risk	Primärtumor, Ta, G1/PUNLMP, LG, < 3 cm, kein CIS	Frühinstallation Chemotherapeutikum
intermediate-risk	alle Fälle zwischen low-risk und high-risk	niedrige Rezidivrate nach TUR-B: Frühinstallation Chemotherapeutikum alle anderen Fälle: BCG-Gabe
high-risk	T1, HG/G3, CIS, rezidivierend, >3cm, Ta, G1, G2 Tumoren	BCG für 1-3 Jahre, oder Zystektomie
	Untergruppe mit höchstem Risiko	
	T1G3/HG mit aktuellen CIS, rezidivierende T1G3/HG, untypische Histologie des BC, lymphovaskulärer Befall	radikale Zystektomie, BCG-Installation für 1-3 Jahre

### 1.1.8.2 Therapie des muskelinvasiven Harnblasenkarzinoms

Therapieziel ist die vollständige Entfernung des Tumors. Der dadurch einhergehende Verlust der Blasenfunktion wird in Kauf genommen. In bestimmten Fällen ist eine neoadjuvante Chemotherapie der radikalen Zystektomie voranzustellen. Ist der Tumor inoperabel, besteht die Möglichkeit einer Radio(chemo)therapie.



#### **1.1.8.2.1 Neoadjuvante Chemotherapie**

Allen Patienten im Stadium T2 bis T4, welche klinisch keinen Lymphknoten- und Metastasenbefall haben, also cN0M0, wird eine NAC (neoadjuvante Chemotherapie) empfohlen. Die NAC erfolgt mit einer Kombination von Cis-/Carboplatin und Gemcitabin (J.A. Witjes (Chair) 2016).

#### **1.1.8.2.2 Radikale Zystektomie bei MIBC**

Die radikale Zystektomie mit pelviner Lymphadenektomie gilt als Standardtherapie bei einem MIBC (J.A. Witjes (Chair) 2016). Bei Männern schließt sich, je nach Ausbreitungsgrad, eine Prostatektomie, eine Entfernung der Samenblase und der proximalen Samenleiter, bei Frauen zusätzlich eine Hysterektomie, eine Adnexektomie und evtl. auch eine Entfernung des Vaginaldachs an.

Nach einer radikalen Zystektomie bestehen kontinente und inkontinente Möglichkeiten der Harnableitung. Die kontinente Harnableitung bezeichnet das Speichern des Urins in einer künstlichen Ersatzblase, welche dann über die Urethra oder einen künstlichen Blasenausgang entleert wird. Die inkontinente Harnableitung beschreibt die kontinuierliche Ableitung des Urins in einen Auffangbeutel, in einem Ileumconduit, einer Ureterocutaneostomie, oder in einer Nierenfistelableitung.

#### **1.1.8.2.3 Adjuvante Chemotherapie**

Die adjuvante Chemotherapie wird entweder nach der Zystektomie mit hoher Rezidivwahrscheinlichkeit oder bei Auftreten von Rezidiven durchgeführt. Als Chemotherapeutika wird die Kombination aus Methotrexat, Vinblastin, Adriamycin und Cisplatin oder die Kombination Cis-/Carboplatin-Gemcitabin verwendet. Bei metastasierten BC hängt die Wahl des Chemotherapeutikums vom gesundheitlichen Zustand des Patienten ab.

#### **1.1.8.2.4 Palliative Zystektomie**

Von der radikalen Zystektomie mit kurativer Absicht unterscheidet man die palliative Zystektomie. Ist eine kurative Therapie aufgrund des Vorliegens von Fernmetastasen oder eines T4-Tumors eher unwahrscheinlich, kann eine Entfernung der Blase zur Behandlung von lokalen Problemen, wie Harnstauungsniere, Blutungen oder Schmerzen erforderlich sein. Die

Harnableitung wird in solchen Fällen meist über eine inkontinente Form gewährleistet.

#### **1.1.8.2.5 Strahlentherapie**

Kann aufgrund des Allgemeinzustandes des Patienten keine Zystektomie durchgeführt werden, steht die Option einer alleinigen Strahlentherapie zur Verfügung. Sie kann zur Behandlung von therapierefraktären Blutungen oder lokalen Tumorschmerzen genutzt werden.

#### **1.1.8.2.6 Multimodale Therapie**

Die multimodale Therapie, auch Trimodality Therapie genannt, besteht aus einer TUR-B mit einer anschließenden kombinierten Radio(chemo)therapie. Sie stellt eine Option für Patienten da, welche eine Zystektomie verneinen. Bei einer verbliebenen Harnblase besteht ein potentiellies Rezidivrisiko.

#### **1.1.8.3 Nachsorge von NMIBC und MIBC**

Aufgrund der Rezidivneigung des NMIBC sollte eine regelmäßige zystoskopische Tumornachsorge erfolgen. Zusätzlich werden die Urinzytologie und die urinbasierten Harnmarker untersucht. Es schließt sich eine Sonographie an. Bei Auffälligkeiten können ein Ausscheidungsurogramm, eine CT- oder MRT-Untersuchung folgen. Mithilfe der EORTC-Risikoklassifizierung werden die Tumornachsorgeintervalle angesetzt. So sollte bei Patienten mit einem low-risk NMIBC nach TUR-B nach 3 und 12 Monaten eine Kontrollzystoskopie erfolgen (Brimo, Wu et al. 2013).

#### **1.1.9 Prognose**

Patienten mit einem NMIBC haben eine bessere Prognose, als die mit einem MIBC. Etwa 75 bis 85% der BC-Patienten haben zum Zeitpunkt der Diagnose ein oberflächliches BC. Die Überlebenschancen hängen von mehreren Faktoren, wie dem Tumorstadium, dem Alter und der physischen Konstitution ab. Bei einem T1-Tumor beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate 75%, bei einem T3-Tumor 25%. Eine 5-Jahres-Überlebensrate von unter 5% haben alle Patienten mit einem T4-Tumor oder mit Lymphknoten-/Fernmetastasen (J.A. Witjes (Chair) 2016).

## **1.2 Urindiagnostik und ihre potentielle Störeinflüsse**

### **1.2.1 Harnmarker in der Blasenkarzinom-Diagnostik**

Die Bestimmung der Urinzytologie und der für diese Arbeit relevanten Harnmarker UroVysion™/FISH, Immunocyt/uCyt+™ und NMP22™ (Nukleäres Matrix Protein 22) kann neben der Anamnese, der körperlichen und der apparativen Untersuchung die Diagnose, als auch die Nachsorge des BC verbessern. Zusätzlich sind sie für die klinische Anwendung geeignet. Die Literatur zu Harnmarkern ist qualitativ heterogen und in den Kriterien nicht standardisiert (Goebell, Kamat et al. 2014). Zur Früherkennung eines BC sollten sie nicht angewendet werden (Leitlinienprogramm Onkologie 2016).

### **1.2.2 Diagnostik mit Urinzytologie**

BC führen zur Abschilferung von Krebszellen, malignen Urothelzellen, welche mit dem Urin ausgeschieden und durch die Urinzytologie sichtbar gemacht werden. Die Urinzytologie stellt den Goldstandard in der Diagnostik des BC dar (Garcia Castro, Fernandez Fernandez et al. 2008).

Eine Probe Spontanurin und auch eine im Rahmen einer Zystoskopie erworbene Spülprobe können zur Durchführung der Urinzytologie verwendet werden. Sie sollte aus frischem Urin oder Morgenurin angefertigt werden (Leitlinienprogramm Onkologie 2016). Gefärbte Urinausstriche werden mikroskopisch betrachtet und beurteilt. Anhand der Erscheinungsform der Zellen wird beurteilt, ob es sich um maligne Urothelzellen handelt.

Die Erfahrung des Untersuchers ist für die Auswertung der Urinzytologie entscheidend. Das Grading des Primärtumors und die Ergebnisse der Nachsorge Zytologie sind nicht vollends reproduzierbar (Raitanen, Aine et al. 2002).

Die Qualität und Verarbeitung des Urins, das Ausmaß der Zellabschilferung bzw. die Größe und Ausdehnung des BC bedingen die Aussagekraft der Urinzytologie. Aufgrund dessen ergibt sich deren schlechte Sensitivität. In über 71 Studien wurde die Leistung von Harnmarkern und die der Zytologie erfasst (Mowatt, Zhu et al. 2010). Die Sensitivität der Urinzytologie beträgt 44%, ihre Spezifität 96%. Falsch-positive Werte können bei Urolithiasis, Harnwegsinfekten und nach intravesikaler Instillationsbehandlung auftreten. Die falsch-positiv-Rate der

Urinzytologie nimmt mit zunehmendem Alter der Patienten zu. Folglich sollte das Alter des Patienten für eine korrekte Interpretation der Urinzytologie Ergebnisse berücksichtigt werden (Horstmann, Todenhofer et al. 2013).

Ein weiterer Störfaktor der Urinzytologie ist die Hämaturie. Bei kleinen und gut differenzierten BC, sowie bei zellarmen Präparaten können falsch-negative Befunde auftreten (Busch, vom Dorp et al. 2007). Auch die Rate falsch-positiver und falsch-negativer Diagnosen ist beim Vorhandensein einer Hämaturie erhöht (Todenhofer, Hennenlotter et al. 2013).

### **1.2.3 Diagnostik mit UroVysion/FISH™**

Die im Urin enthaltenen abgeschilferten Zellen des BC weisen chromosomale Veränderungen auf, welche mittels der FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung), UroVysion/FISH™ genannt, sichtbar gemacht werden können. Mittels vier DNA-Sonden werden die Aneuploidien der Chromosomen 3, 7, 17 und der Verlust des Locus 9p21 erkennbar gemacht.

Zur Entdeckung des BC ist die FISH mit einer Sensitivität von 61,9% sensitiver als die Urinzytologie mit einer Sensitivität von 29,1% (Dimashkieh, Wolff et al. 2013). Es wird die Kombination beider Untersuchungen empfohlen. Auch bei LG-Tumoren weist die FISH eine vergleichsweise hohe Spezifität und Sensitivität auf.

Seidemann et al. untersuchten, ob eine positive FISH die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Rezidivs erhöht. FISH-positive Patienten mit einer atypischen Zytologie scheinen ein höheres Risiko für das Auftreten eines Rezidivs zu haben (Seideman, Canter et al. 2015).

### **1.2.4 Diagnostik mit uCyt+/ImmunoCyt™**

Die Antigene CEA (Carcinoembryonales Antigen) und Mucin-Glycoprotein, welche gehäuft auf malignen Urothelzellen vorkommen, werden durch Antikörper in der Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht. Die sichtbar gemachten Antigene werden daraufhin durch den Untersucher mikroskopisch ausgezählt. Mit einer Sensitivität von 68,1% und einer Spezifität von 72,3% kann der uCyt+/ImmunoCyt™ die Anzahl und Kosten der bei der Nachsorge durchgeführten Zystoskopien senken (Comploj, Mian et al. 2013). Kosten,

Zeitaufwand und die starke Untersucher-Abhängigkeit sind Nachteile des uCyt+/ImmunoCyt™.

Die Ergebnisse können durch Urolithiasis, Entzündungen, Hämaturie und benigne Prostatahyperplasie verfälscht sein (Vriesema, Atsma et al. 2001).

Wie auch bei der Urinzytologie, sind bei Vorhandensein einer Hämaturie die falsch-positiven und falsch-negativen Teste erhöht (Todenhofer, Hennenlotter et al. 2013).

### **1.2.5 Diagnostik mit NMP22™**

NMP22™ (Nukleäres Matrix Protein) ist ein urinlöslicher Tumormarker. Das Protein ist am Aufbau des Spindelapparates in der Mitose beteiligt. Aufgrund der hohen Teilungsrate maligner Tumoren, ist die Konzentration von NMP22™ in entarteten Zellen erhöht. NMP22™ wird in gelöster Form in den Urin abgegeben und bleibt dort auch ausreichend lange stabil. Die Kombination von Desquamation, dem Ablösen von malignen Zellen in den Urin, Apoptose und Nekrose maligner Zellen, erhöht die NMP22™-Konzentration im Urin.

Der Nachweis eines erhöhten NMP22™ erfolgt entweder qualitativ mittels eines Schnelltestes oder quantitativ mittels eines im Labor durchgeführten Enzym-Immunoassay. Die Firma Alere bietet einen Schnelltest, den Alere NMP22® BladderChek®, und einen quantitativen Enzym-Immunoassay-Test an.

Eine Studie, welche die Diagnostik von BC durch zusätzliches Verwenden eines NMP22™-Testes bei Patienten mit Risikofaktoren untersucht hat, kam zu folgenden Ergebnissen: Die Sensitivität liegt bei 55,7%, die Spezifität bei 85,7%, Die falsch-positiv-Rate beträgt 80% (Grossman, Messing et al. 2005). Falsch-positiv-Raten der Urinzytologie nehmen durch das zunehmende Alter der Patienten zu. Zur korrekten Interpretation der NMP22™-Testes sollte das Alter des Patienten berücksichtigt werden (Horstmann, Todenhofer et al. 2013).

Durch Urolithiasis, Hämaturie und Infektionen können falsch-positive Werte auftreten, sodass der NMP22™-Test zur alleinigen Diagnostik eines BC nicht geeignet ist (Huber, Schwentner et al. 2012). Zum Beispiel wurden bei Hämaturie Auswirkungen auf die Ergebnisse des NMP22™ festgestellt. Die falsch-positiven- und falsch-negativen-Raten steigen bei Vorhandensein einer Hämaturie signifikant an (Todenhofer, Hennenlotter et al. 2013).

Der NMP22™-Test dient zur Verlaufskontrolle und Nachsorge. Die Entscheidung über die Durchführung einer Zystoskopie kann mittels des NMP22™-Wertes erleichtert werden (Shariat, Savage et al. 2011).

### **1.2.6 Weitere Urinmarkertests**

Es gibt zahlreiche weitere Markersysteme, wie z.B. Fibrinospaltprodukte, Telomerase, CK20, CD4, Hyaluronsäure und Survivin (Leitlinienprogramm Onkologie 2016). Aktuell sind diese Marker jedoch nicht in der Klinik etabliert.

Survivin ist ein Apoptose hemmendes Protein und wird vermehrt von BC freigesetzt. Der Nachweis erfolgt mittels mRNA (messenger RNA) durch quantitative oder qualitative PCR (Polymerasekettenreaktion). Die Sensitivität beträgt 88% (Xia, Liu et al. 2010). Aufgrund der Verwendung unterschiedlicher PCR Primer sind die einzelnen Survivinstudien nicht miteinander vergleichbar. Dies hat zur Folge, dass es bisher keine klinische Bewertung von Survivin als Urinmarker gibt.

## **1.3 Rauchen**

Trotz der verschiedenen Maßnahmen zur Prävention von Tabakkonsum ist der Nikotinkonsum in Deutschland weit verbreitet. In Deutschland rauchten im Jahr 2013 29,7% der 18- bis 79-jährigen täglich oder gelegentlich, 26,9% der Frauen und 32,6% der Männer (T. Lampert 2013). Weitere 22,8% der Frauen und 33,7% der Männer haben früher geraucht. Noch nie geraucht hat nach den Daten der DEGS (Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland) die Hälfte der 18- bis 79-jährigen Frauen und ein Drittel der 18- bis 79-jährigen Männern. Am häufigsten rauchten junge Erwachsene im Alter zwischen 18-29 Jahren.

### **1.3.1 Auswirkungen auf den Körper**

Rauchen stellt einen der größten beeinflussbaren Risikofaktoren für kardiopulmonale- und Krebserkrankungen dar. An den Folgen des Rauchens starben im Jahr 2013 121.000 Menschen, damit verursachte das Rauchen in diesem Jahr 13,5% der insgesamt rund 894.000 Todesfällen (Martina Pötschke-Langer 2015).

Neben kardiovaskulären und pulmonalen Auswirkungen sind viele Krebsarten, wie Lungenkrebs, mit Nikotinkonsum assoziiert. Weltweite Beobachtungen zeigen einen direkten Zusammenhang in der Inzidenz von BC bezogen auf die Prävalenz des Nikotinkonsums (Antoni, Ferlay et al. 2017). Nikotinkonsum wird als Hauptrisikofaktor für die Entstehung eines BC angesehen (Freedman, Silverman et al. 2011).

Raucher haben ein größeres Risiko, an einem BC zu erkranken. Auch nach einer rauchfreien Phase besteht eine erhöhte Wahrscheinlichkeit, an einem BC zu erkranken (van Osch, Jochems et al. 2016).

### **1.3.2 Inhaltsstoffe des Tabakrauches**

Die Schadstoffe des Tabakrauches können in hämatotoxische, neurotoxische, reizende und karzinogene Substanzen unterteilt werden. Für diese Arbeit liegt der Schwerpunkt auf den karzinogenen Substanzen.

Die IARC (International Agency for Research on Cancer) und die DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) stufen über 90 Bestandteile des Tabakrauches als karzinogen ein. Die Wirkung der karzinogenen Substanzen kann man als pathophysiologische Kaskade betrachten. Die Schleimhäute resorbieren die Schadstoffe, was einerseits zur direkten Schädigung der Schleimhäute, und andererseits zur Verteilung in der Blutstrombahn führt. Über das Blut gelangen die Schadstoffe in die Zellen und führen dort zu Mutationen von Genen, welche das Zellwachstum regulieren. Über die Schritte Hyperplasie, Metaplasie und Dysplasie entsteht ein CIS, welches in ein invasives Wachstum übergehen kann. Zusätzlich fördern die Schadstoffe des Tabakrauches nicht nur die Karzinogenese, sondern auch deren Progression.

Aktuell bekannte karzinogene Inhaltsstoffe des Tabakrauches sind unter anderem Cadmium, aromatische Kohlenwasserstoffe und aromatische Amine.

#### **1.3.2.1 Cadmium**

Cadmium, ein auch in Lebensmitteln, in der Metall-, Kunststoff- und Farbindustrie vorkommendes Schwermetall, wird als bedeutsame krebserzeugende Komponente des Tabakrauches angesehen. Durch direkten Kontakt mit Cadmium und dessen Metaboliten entstehen reaktive Sauerstoffspezies und

oxidativer Stress, welche die DNA schädigen (Rorbach-Dolata, Marchewka et al. 2015). Der Konsum von Cadmium in Form von Rauchen fördert die Entwicklung eines BC (Mezynska and Brzoska 2017).

### **1.3.2.2 Beispiele für karzinogene aromatische Kohlenwasserstoffe aus Tabakrauch**

Benzol ist ein flüssiger aromatischer Kohlenwasserstoff, welcher zum Beispiel in der Erdölverarbeitung, im Benzin zur Trankreinigung und im Tabakrauch vorkommt. Berufliche Exposition mit Benzol findet heute in verschiedenen Industriezweigen, wie zum Beispiel in der chemischen Produktion, statt.

Benzopyrene gehören zur Gruppe der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe. Sie sind für ihre zytotoxischen, mutagenen und karzinogenen Eigenschaften bekannt. Benzopyren verursacht DNA-Schäden in Form von Doppelstrangbrüchen und induziert durch Veränderung der Genexpression die Apoptose der Zellen (Verma, Pink et al. 2013). Aus Tabakrauch inhaliertes Benzopyren induziert die Methylierung der DNA durch die DNA-Methyltransferase-1. Dadurch entstehen DNA-Schäden und ein veränderter Metabolismus beim BC (Jin, Thaiparambil et al. 2017).

### **1.3.2.3 Beispiele für karzinogene aromatische Amine aus Tabakrauch**

2-Naphtylamin gehört zur Gruppe der aromatischen Aminoverbindungen. Es wird zur Herstellung synthetischer Farben, Arzneimittel und Schädlingsbekämpfungsmittel eingesetzt. Im Tabakrauch vorkommend stellt 2-Naphtylamin ein Risikofaktor für die Entwicklung eines BC da (Letasiova, Medve'ova et al. 2012).

Aromatische Amine werden im Körper aktiviert. Diese metabolische Aktivierung, N-Hydroxylierung über das Enzym Cytochrom P450 1A2 (CYP1A2) findet hauptsächlich in der Leber statt (Plottner, Behm et al. 2012). Die aktivierten Metabolite gelangen über den Blutkreislauf in die ableitenden Harnwege. Von den Urothelzellen aufgenommen, wirken die Metabolite mutagen.



## **1.4 Rauchen und seine Auswirkungen auf molekularer Ebene**

### **1.4.1 Entzündungsreaktionen durch Rauchen**

Entzündungsparameter, wie Leukozyten, Interleukin-6 (IL-6), und Vasucular-Epithelial-Growth-Factor (VEGF), sind bei Rauchern erhöht (Ugur, Kutlu et al. 2017). Rauchen fördert die Entzündungsreaktion im menschlichen Körper, was in vielen Arbeiten anhand erhöht gemessener Entzündungsparameter gezeigt wurde. Bermudez et. al zeigten 2002, dass Rauchen die Ausschüttung von IL-6 fördert (Bermudez, Rifai et al. 2002). In einer anderen Arbeit wurde belegt, dass Rauchen Anomalien in dendritischen Zellen verursacht und dadurch deren Funktion beeinträchtigt, sodass Raucher Krebs, Infektionen und allergische Erkrankungen entwickeln. Die Ausschüttung von Entzündungsparametern, wie dem Prostaglandin E2, IL-8 und IL-10, ist bei Rauchern signifikant erhöht (Vassallo, Tamada et al. 2005).

Tibuakuu et al. untersuchten in ihrer Arbeit den Einfluss des Rauchens auf 17 verschiedene Entzündungsparameter, welche im Zusammenhang mit der Entwicklung einer kardiovaskulären Erkrankung stehen. Eingeschlossen war mitunter das C reaktive Protein (CRP), IL-6, IL-18, und Marker, welche mit oxidativem Stress in Zusammenhang stehen, wie zum Beispiel die Myeloperoxidase (MPO). Tibuakuu et al. zeigten, dass die Marker CRP, IL-6 und MPO bei Rauchern signifikant erhöht waren (Tibuakuu, Kamimura et al. 2017). Das CRP war in dieser Arbeit der sensitivste Biomarker, der einen Zusammenhang zwischen Rauchen und einer dabei entstehenden Entzündungsreaktion nahelegt. Aufgrund dessen wird das CRP als nützlicher Biomarker für Studien und zur Entwicklung neuer Tabakprodukte empfohlen (Tibuakuu, Kamimura et al. 2017).

Bakru et al. untersuchten in ihrer Arbeit die Auswirkung des Tabakkonsums, bzw. dessen Abstinenz, auf Entzündungsparameter und bekannte Risikofaktoren der Arteriosklerose. Die in der Arbeit analysierten Entzündungsparameter waren CRP, Leukozyten, Albumin, und Fibrinogen. Zu den Risikofaktoren der Arteriosklerose zählten in dieser Arbeit Cholesterin, Triglyzeride, arterieller Blutdruck und Diabetes. Die Ergebnisse der Arbeit zeigten, dass die Abstinenz des Tabakkonsums zu einem Rückgang der Entzündungsparameter führte. Fünf

Jahre nach der Raucherabstinenz sind die Entzündungsparameter wieder auf dem Niveau eines Nichtraucherers (Bakhru and Erlinger 2005).

#### **1.4.1.1 Auswirkungen der Entzündungsreaktionen auf das BC**

Einerseits verhindert das Immunsystem die Entwicklung eines Karzinoms, andererseits kann das Immunsystem die Entstehung und Progression eines Tumors fördern. Die bei einer Entzündungsreaktion aktiven Immunzellen, wie Makrophagen, regulatorische T-Zellen (TReg), dendritische Zellen, Mastzellen und verschiedene Zytokine, wie Tumornekrosefaktor (TNF) und IL, begünstigen die Entstehung und Progression eines BC (Sui, Lei et al. 2017). Dies geschieht durch unterschiedlichen Pathomechanismen.

Die tumorassoziierten Makrophagen (TAM) lassen sich in zwei Subgruppen unterteilen, M1 und M2. M1 werden durch TNF aktiviert. Sie hemmen die Tumorentstehung und deren Fortschritt (Rodriguez, Silvera et al. 2013). M2 werden durch die Interleukine IL-4, IL-10, IL-13 oder transforming growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ) aktiviert. Diese begünstigen die Tumorentstehung und Metastasenausbildung. Außerdem unterdrücken sie die M1-Makrophagen (Lima, Oliveira et al. 2014).

IL-6 ist im Urin und im Blut von Blasenkarzinom-Patientin im Vergleich zu Gesunden signifikant erhöht (Chen, Lin et al. 2013). Chen et al. konnten durch in vitro- und in vivo-Versuche zeigen, dass durch Blockierung des IL-6-Rezeptors die Progression des Blasenkarzinoms gehemmt wird.

Marsh et al. untersuchten in ihrer Arbeit den Zusammenhang zwischen des TNFs und der Entwicklung eines Harnblasenkarzinoms. Zwei Polymorphismen des TNFs, TNF<sup>+488A</sup> und TNF<sup>-859T</sup> stehen im signifikanten Zusammenhang mit der Entwicklung eines Harnblasenkarzinoms (Marsh, Haldar et al. 2003).

Entzündungsreaktionen können das Entstehen eines Tumors mit bedingen, aber auch der Tumor selbst kann Entzündungsreaktionen im Körper verursachen. CRP wird hauptsächlich in der Leber synthetisiert und dient der Opsonierung von Pathogenen, wodurch die Wirkung der Makrophagen verstärkt wird. Zhou et al. haben in einer Meta-Analyse, welche 44 unabhängige Studien beinhaltet, den Zusammenhang zwischen des CRPs und der Überlebensrate von Patienten mit urologischen Tumoren überprüft. Sie fanden heraus, dass das CRP ein

unabhängiger prognostischer Faktor für urologische Erkrankungen, speziell dem Blasenkarzinom, darstellt, und es im Alltag für die prognostische klinische Einschätzung hilfreich ist (Zhou, Cai et al. 2015). Urologische Karzinome induzieren ein erhöhtes CRP aus folgenden Gründen: Durch den Tumor werden Zytokine ausgeschüttet, welche in der Leber zur CRP-Produktion führen. Zusätzlich schüttet der Tumor selbst CRP aus. CRP steht in der Karzinogenese im Zusammenhang mit der Proliferation, der Angiogenese und der Ausbildung von Metastasen. Durch neutrophile Granulozyten wird der Wachstumsfaktor vascular endothelial growth factor (vEGF) ausgeschüttet, durch welchen Angiogenese induziert wird (Kusumanto, Dam et al. 2003).

Mbeutcha et al. untersuchten in ihrer Arbeit die prognostische und prädiktive Wertigkeit des CRPs. Erhöhte CRP-Werte gehen mit einer erhöhten Rezidivrate und einem höheren Risiko des Fortschreitens eines Harnblasenkarzinoms einher (Mbeutcha, Shariat et al. 2016).

Gunes et al. untersuchten in ihrer Arbeit den human neutrophil protein (HNP) 1-3-Spiegel bei Patienten mit bekanntem Blasenkarzinom. HNP sind Peptide, welche das Immunsystem aktivieren. Gunes et al. fanden heraus, dass der HNP 1-3-Spiegel bei Menschen mit Blasenkarzinom erhöht ist (Gunes, Gecit et al. 2013). Zusätzlich war der HNP 1-3-Spiegel signifikant erhöht, wenn ein metastasiertes Blasenkarzinom, befallene Lymphknoten oder ein Anschluss ans Lymphsystem vorlag. Das Tumorstadium korrelierte mit dem Spiegel des HNP. Auch in anderen Studien konnten erhöhte HNP 1-3-Spiegel bei Patienten mit Harnblasenkarzinom bestätigt werden (Vlahou, Schellhammer et al. 2001).

#### **1.4.2 Veränderungen des Lipidstoffwechsels durch Rauchen**

Auch der Lipidstoffwechsel wird durch Rauchen beeinflusst. 23 Lipidmetabolite wurden in einer Studie von Wang-Sattler, Yu et al. als nikotinabhängige Biomarker identifiziert. Diese Lipidmetaboliten waren bei Rauchern signifikant erhöht (Wang-Sattler, Yu et al. 2008). Die 23 entdeckten Lipide waren alle am Aufbau der Zellmembran beteiligt.

Tabakrauchen, bereits in geringer Dosis, steht im Zusammenhang mit einem erhöhten Aufkommen an Lipidperoxidation (Solak, Kabaroglu et al. 2005). Durch die Lipidperoxidation, die Abgabe von Elektronen an reaktive Radikale, entstehen

in der Zellmembran Zellschädigungen. Malondialdehyd (MDA) ist ein Metabolit, welcher bei der Lipidperoxidation entsteht. MDA wird als Marker zur Messung der Quantität des oxidativen Stresses eingesetzt (Gawel, Wardas et al. 2004).

Nunez et al. fanden in ihrer Arbeit heraus, dass Rauchen neurotoxische und degenerative Auswirkungen auf das Marklager hat. Rauchen führt zur Lipidperoxidation, Oxidation von Proteinen und zu Veränderungen der Phospholipide und Sulfatide im Marklager (Nunez, Kay et al. 2016).

### **1.4.3 Genetische Veränderungen durch Rauchen**

Tabakrauch verursacht nicht nur Veränderungen des Metabolismus, sondern auch der genetischen Ausstattung der ihm ausgesetzten Zellen.

So konnten Allelverluste bei aktuellen und ehemaligen Rauchern nachgewiesen werden. Jede menschliche Zelle enthält je zwei Chromosomensätze à 23 Chromosomen, wobei ein Satz paternaler, der andere Satz maternalen Herkunft ist. Außer für die Geschlechtschromosomen liegen in einer Zelle deshalb zwei Kopien, die sogenannten Allele, für einen genetischen Locus vor. Diese beiden Allele können sich in ihrer Sequenz unterscheiden, trifft dies zu, liegt eine Heterozygotie vor. Mao et. al zeigten in ihrer Arbeit, dass Rauchen für verschiedene untersuchte Genloci von Tumorsuppressorgenen zu Heterozygotie-Verlust (loss of heterozygosity, LOH) führt, weil eines der beiden Allele während der Zellteilung verloren geht. Sie untersuchten hierzu Epithelzellen der Lunge. Bei chronischen Rauchern konnte die LOH in folgenden Tumorsuppressorgenen festgestellt werden: 3p14, 9p21, p16, 17p13 und p53 (Mao, Lee et al. 1997). Dies bedeutet, dass durch Tabakrauch das verbleibende, aktive Allel mutiert und funktionsuntüchtig wird. Mutiert das verbleibende Allel, bzw. liegt dieses bereits in mutierter Version vor, kann dies nicht durch ein anderes Allel kompensiert werden. Mao et al. konnten zudem aufzeigen, dass selbst nach Raucherabstinenz die Allelverluste anhaltend vorhanden waren.

Wistuba et al. untersuchten bronchiale Epithelzellen auf LOH und Mikrosatelliteninstabilität. Ihr Kollektiv unterteilte sich in drei Gruppen: Aktuelle Raucher, ehemalige Raucher und Nichtraucher. LOH und Mikrosatelliteninstabilität konnten bei den ehemaligen und aktuellen Rauchern detektiert werden (Wistuba, Lam et al. 1997). Allerdings gab es zwischen diesen beiden

Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Dies bedeutet, dass ehemalige und aktuelle Raucher die gleiche Anzahl an genetischen Veränderungen hatten, im Gegensatz zu den Nichtrauchern. Bei Nichtrauchern waren die untersuchten genetischen Faktoren in den Epithelzellen in keinem Fall verändert.

Außerdem zeigten Joehanes et al., dass Tabakrauch eine Methylierung an vielen verschiedenen Genloci verursachen kann. Durch Methylierung können Gene ab- und angeschaltet werden. Diese veränderten Methylierungsmuster sind viele Jahre nach der Tabakrauchexposition noch nachweisbar (Joehanes, Just et al. 2016).

#### **1.4.3.1 Auswirkungen der genetischen Veränderungen auf das BC**

Die Karzinogenese verläuft in mehreren Schritten. Zuerst wird die DNA geschädigt (Initiation), dann manifestiert sich der Defekt in den entsprechenden Proteinen (Promotion) und abschließend proliferiert die neoplastische Zellreihe mit den erworbenen DNA-Schäden (Progression). Die Promotion betrifft Tumorsuppressorgene und Apoptose regulierende Gene.

Das p53-Protein dient der Zelle als ein Tumorsuppressor, indem es bei geschädigter DNA den Eintritt in die S-Phase der Mitose verhindert. Werden die DNA-Schäden nicht beseitigt, kann p53 die Apoptose einleiten. Das p53-Gen, welches für das p53-Protein codiert, ist in über 50% aller Krebsformen mutiert (Hollstein, Sidransky et al. 1991), so auch beim BC (Cooper, Haluschak et al. 1994). Weitere Tumorsuppressorgene, wie das Retinoblastom-Protein (Rb-Protein), welches den Übertritt von der G1- in die S-Phase hemmt, sind an der Entstehung eines BC mitbeteiligt. Chatterjee et. al fanden heraus, dass BC-Patienten mit veränderten p53- oder Rb-Proteinen, eine schlechtere Prognose und ein höheres Rezidivrisiko haben (Chatterjee, Datar et al. 2004). Das p53-Gen kann durch chemische Stoffe geschädigt werden, zum Beispiel durch das im Tabakrauch enthaltene Benzopyren (Hernandez-Boussard and Hainaut 1998).

Dong et al. fassten in ihrer Arbeit Veränderungen verschiedener Micro-RNAs (miRNA) beim BC zusammen. miRNAs sind nicht codierende RNAs, welche die Genexpression durch Beeinflussung der messenger-RNA (mRNA) regulieren können. Dong et al. konnten zeigen, dass verschiedene miRNAs bei

BC-Patienten im Tumorgewebe, im Urin und im Blut im Vergleich zu gesunden Patienten verändert sind (Dong, Xu et al. 2017).

## **1.5 Fragestellung**

In der Diagnostik und in den weiteren Kontrolluntersuchungen des BC werden neben der Urinzytologie urinbasierte Marker, wie UroVysion/FISH™, uCyt+/ImmunoCyt™ und NMP22™ eingesetzt. Diese Tests unterliegen bekannten Störeinflüssen, wie dem Vorliegen einer Hämaturie oder eines Harnwegsinfektes, dem Alter des Patienten und der Erfahrung des Untersuchers. Tabakrauch mit seinen über 90 bekannten karzinogenen Inhaltsstoffen ist Risikofaktor Nummer eins bei der Entstehung eines BC. Cadmium, aromatische Kohlenwasserstoffe und aromatische Amine sind die bekanntesten Karzinogene im Tabakrauch. Zudem ist die pathophysiologische Wirkung dieser Karzinogene und ihr Einfluss auf die Urothelzellen und deren DNA gut untersucht.

Die Störanfälligkeit der verschiedenen BC-Diagnosemethoden ist bekannt. Deshalb stellt sich die Frage, ob zusätzlich zu den bereits bekannten Faktoren auch die Karzinogene des Tabakrauchs Einfluss auf die Diagnoseergebnisse haben, zumal diese direkte Wirkung auf die Urothelzellen und deren DNA nehmen.

Die vorliegende Arbeit soll anhand retrospektiver Erhebungen an einem großen Kollektiv von Patienten, die mittels vier kommerziell erhältlicher Urinmarker (Urinzytologie, UroVysion/FISH™, uCyt+/ImmunoCyt™, NMP 22™) untersucht wurden, den Einfluss des Nikotinkonsums auf die diagnostische Leistungsmerkmale dieser Marker untersuchen.

## **2. Patienten und Methoden**

### **2.1 Ethik**

Vor Beginn der Datenerhebung und der Durchführung der Studie wurde mithilfe eines Prüfplans der Studientitel, der Inhalt der vorliegenden Arbeit, deren Finanzierung und alle daran beteiligten Mitarbeiter festgelegt. Der Prüfplan klärte die Gesamtstudiendauer, die Studienpopulation, deren Rekrutierung und Ein- und Ausschlusskriterien. Auch die Untersuchungsmethoden, die Art der Dokumentation der erhobenen Daten sowie die Einhaltung des Datenschutzes wurden in dem Prüfplan geregelt. Innerhalb des Projektes „Retrospektive Evaluation der Ergebnisse von routinemäßig durchgeführten Urinuntersuchungen zur Detektion von BC – Bestimmung der diagnostischen Wertigkeit, einer potenziellen prognostischen Bedeutung und Evaluation der Einflüsse von Störgrößen auf das Testergebnis“ vom 16.09.2009 war der Prüfplan der Ethikkommission des Universitätsklinikums unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Luft vorgelegt und nach sorgfältiger Begutachtung positiv beschieden worden. Er trägt das Ethikvotum 400/2009A.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine rein retrospektive Studie. Es erfolgte eine retrospektive Analyse von klinischen Daten, welche routinemäßig erhoben und anschließend in einer Datenbank anonymisiert wurden. Die Datenerhebung erfolgte ausschließlich via Aktenrecherche in bereits vorhandenen Patientendaten aus der Datenbank der Urologie des Universitätsklinikums Tübingen. Die Arbeit begrenzt sich auf die Basis des vorhandenen Ethikvotums 400/2009A.

### **2.2 Datenschutz**

Die ärztliche Schweigepflicht wurde im Umgang mit den in der Arbeit verwendeten Patientendaten beachtet. Nach Abschluss der Datenerhebung wurden die Patienten anonymisiert, sodass keine Rückverfolgung zu den Ergebnissen einzelner Patienten möglich ist. Die Auflagen des Datenschutzes wurden befolgt. Nur autorisierte Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen der Klinik für Urologie in Tübingen, welche an der Datenerhebung und deren Analyse beteiligt waren, hatten Zugang zu den Patientendaten. Die Erhebung und Auswertung der

Daten wurden an einem Computer durchgeführt, welcher vom internen Kliniknetz entkoppelt war.

## **2.3 Patientenkollektiv**

### **2.3.1 Ein- und Ausschlusskriterien**

Routinemäßig wurde in der Universitätsklinik für Urologie Tübingen bei allen Patienten mit Verdacht auf ein BC eine Urindiagnostik durchgeführt. Für die vorliegende Arbeit wurden all die Patienten einbezogen, bei denen eine Einverständniserklärung vorlag und eine Urindiagnostik erfolgte. In der Urindiagnostik inbegriffen waren:

- Messung der onkologische Harnmarker: uCyt+/ImmunoCyt™, NMP22™ und UroVysion/FISH™
- Bestimmung der Urinzytologie
- Durchführung eines Urinstatus und einer Urinmikroskopie

Die Patienten wurden unabhängig von dem Ergebnis der onkologischen Harnmarker und der Urinzytologie in das Kollektiv eingeschlossen. Aufgrund des Ergebnisses des Urinstatus und der darauffolgenden Urinmikroskopie konnte eine Hämaturie diagnostiziert werden. Das Vorliegen einer Hämaturie war ein weiteres Einschlusskriterium.

Auf die durchgeführte Urindiagnostik folgte eine Spiegelung der Harnblase, eine Zystoskopie. Zeigten sich Auffälligkeiten, wurde eine histologische Sicherung durchgeführt. Die Zystoskopie mit eventueller Histologie und eine weitere Untersuchung des oberen Harntraktes waren weitere Einschlusskriterien.

Abschließend wurden nur die Patienten in das Kollektiv übernommen, bei welchen der Raucherstatus ermittelt werden konnte. Das Rauchverhalten der Patienten wurde in drei Gruppen unterteilt: aktuelle Raucher, ehemalige Raucher und Nichtraucher.

Waren die Harnmarker eines Patienten zum Beispiel aufgrund einer zu geringen Harnmenge nicht oder nur eingeschränkt auswertbar, wurde der Patient dem Kollektiv nicht hinzugefügt. Konnte der Raucherstatus, aufgrund fehlender Dokumentation, nicht eruiert werden, wurde dieser Patient nicht berücksichtigt. Hatte der Zystoskopiebefund kein eindeutiges Ergebnis, wurde auch dieser



Patient dem Kollektiv nicht hinzugefügt. Patienten, welche zusätzlich an einem Prostatakarzinom erkrankt waren, wurden aus dieser Arbeit ausgeschlossen.

### **2.3.2 Erhebung der Datenbank anhand der Ein- und Ausschlusskriterien**

Alle Patienten, bei denen im Zeitraum von November 2006 bis einschließlich Dezember 2012 mindestens einer der onkologischen Harnmarker uCyt+/ImmunoCyt™, NMP22™ oder UroVysion/FISH™ sowie die Urinzytologie in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen gemessen wurden, wurden in die Datenbank übernommen. Wurde bei einem Patienten die Messung der Harnmarker und die der Urinzytologie zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt, wurde dieser Patient erneut in die Datenbank aufgenommen. Somit kann ein Patient häufiger als einmal in der Datenbank aufgeführt sein, da zu unterschiedlichen Zeitpunkten die vier Harnmarker bestimmt wurden. Bestimmte Ein- und Ausschlusskriterien, welche unter 2.3.1 beschrieben sind, legten das Patientenkollektiv fest. Es ergab sich ein endgültiges Patientenkollektiv von N=723.

### **2.3.3 Durchgeführte Urindiagnostik**

Die Mitarbeiter des urologischen Labors führten die Messungen der Harnmarker und der Urinzytologie durch und übertrugen die Ergebnisse in das Computersystem.

#### **2.3.3.1 Urinzytologie**

Bei der Urinzytologie werden gefärbte Urinausstriche mikroskopisch auf das Vorhandensein von abgeschilferten malignen Urothelzellen untersucht.

80 ml des mit EPOSTI-Fixativ fixierten Urins wurden mit einer Hettich Rotanta 96 R Zentrifuge bei 800 U/min für 12 Minuten zentrifugiert. Die zentrifugierten Urine wurden auf ca. 5 ml abgeschüttet und gut gemischt. Auf den mit einem Filter versehenen Objektträger wurde ein Trichter verspannt, das Objektträger-Filter-Trichter-Konstrukt. In diese Trichter wurden 800 µl des durchmischten Urins pipettiert und anschließend mit einer Zytozentrifuge CytoSpin2 (Shandon Labortechnik GmbH, Frankfurt) für 3 Minuten bei 1500 U/min zytozentrifugiert. Das auf den Objektträgern entstandene Zellsediment wurde mit Fixationsspray (Merck KGaA, Darmstadt) fixiert und an der Luft getrocknet.

Mittels eines Färbeautomaten (Shandon Labortechnik GmbH, Frankfurt) erfolgte die für die Urinzytologie standardmäßige Färbung nach der Färbetechnik von Papanicolaou. Die Färbung nach Papanicolaou erfolgte mittels Hämatoxylin, Orange G6 und Polychromfarbstoffs. Auf die einzelnen Färbungen folgten Spülungen mit 95% und 100% Alkohol. Abschließend wurden die Präparate mittels des Eindeckmittels - Eukitt (ORSAtec GmbH Niederlassung, Bobingen) eingedeckt.

Die Präparate wurden unter einem Zeiss Olympus Mikroskop befundet. Bei 160- und 400-facher Vergrößerung wurden die standardmäßigen Malignitätskriterien untersucht. Dabei handelt es sich nach (Rathert et al. 2007) um:

- unregelmäßige (entrundete) Zellkerne
- vermehrte und entrundete Nukleolen
- verdickte und unregelmäßige Kernmembran
- Hyperchromasie sowie
- grobkörniges und verklumptes Chromatin.

Anhand dieser Kriterien wurden die Proben in positiv, verdächtig oder negativ unterteilt. Positiv wurden alle high-grade Läsionen gewertet. Als verdächtig wurden Proben bezeichnet, welche nicht eindeutig maligne, oder eher als low-grade Läsion eingeordnet wurden. Negativ wurden Proben eingeordnet, welche keine pathologische Zelle enthielten.

In dieser Arbeit wurden alle positiven und verdächtigen Proben als positiver zytologischer Nachweis gewertet. Alle negativen Proben wurden als negativer zytologischer Nachweis beurteilt.

### **2.3.3.2 UroVysion/FISH™**

Dieser Test detektiert mittels Fluoreszenzmikroskopie sichtbar werdende chromosomale Veränderungen in BC-Zellen. Für diese Arbeit wurde das Testkit UroVysion/FISH™ verwendet (Abbott Molecular Inc., Downers Grove, IL, USA), welches mittels die Aneuploidien der Chromosomen 3, 7, 17 und den Verlust des Locus 9p21 aufzeigt.

Die Aufbereitung des Urins erfolgte nahezu identisch der Urinzytologie mit EPOSTI-Fixativ, 12-minütiger Zentrifugation und 3-minütiger Zytozentrifugation (siehe 2.3.2.1 Urinzytologie). Anders als bei der Urinzytologie wurden für die

Urovysion/FISH™ SuperFrost Objektträger (SuperFrost/Plus, Langenbrinck-Tieningen) verwendet. Das auf den Objektträgern entstandene Zellsediment wurde über Nacht getrocknet.

Mittels einer zuvor hergestellten Denaturierungslösung erfolgte die Spaltung der DNA in zwei Stränge. Anschließend wurden 3 µl der im Testkit enthaltenen UroVysion/FISH™ Sondenmischung auf die Zielbereiche des Präparats gebracht. In einer Hybridisierungskammer banden die DNA-Sonden innerhalb von 4 bis 20 Stunden bei 37° C an ihre komplementären DNA-Abschnitte der Probe. Es folgte die Reinigung mittels Waschlösungen und das Aufbringen von Färbemittel. Details sind im Handbuch des Testkits beschrieben.

Unter einem Zeiss-Axioskop (Carl Zeiss AG, Oberkochen) wurden die Zellen auf Malignität untersucht. Malignitätskriterien waren zum Beispiel das Vorhandensein von Zellclustern, großen Zellkernen oder irregulär verformte Zellkerne. Diese Zellen wurden in einer höheren Vergrößerung mit mehreren verschiedenen Lichtfeldern fluoreszenzmikroskopisch untersucht. Nach Vorgaben des Herstellers wurden folgende Ergebnisse als positiv gewertet:

- $\geq 4$  Zellkerne von 25 morphologisch auffälligen Zellen zeigten  $\geq 3$  Signale von zwei unterschiedlichen Chromosomen (3, 7 oder 17)
- mindestens 12 Kerne zeigen kein Signal von Genlocus 9p21

### **2.3.3.3 uCyt+/ImmunoCyt™**

uCyt+/ ImmunoCyt™ ist ein immunzytologischer Test, bei welchem die Antigene CEA und Mucin-Glycoprotein durch fluoreszierende Antikörper in der Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht werden. Es wurde das uCyt+/ ImmunoCyt™ Testkit der Firma Scidmex Corporation (Dover, USA) verwendet. Teil dieses Kit sind Filter, welche aus einem Filterboden mit Metallnetz und einem Filterdeckel (BD Biosciences, San Jose USA) bestehen. Dazwischen befindet sich eine Filtermembran (Nuclepore Track-Etch Membrane, Whatman). Der Urin wurde nach Angaben des Herstellers fixiert. Die auf Raumtemperatur gebrachten fixierten Urine wurden in eine 50 ml Perfusorspritze aufgezogen und auf den Luer-Verschluss des Filterdeckels geschraubt. Bei leichtem Druck wurde der Urin durch den Filter gepresst. Die Zellen wurden mit einem mit Phosphate-Buffered-Saline, PBS (Life Technologies Corporation Gibco, Grand Island), getränkten

Tuch durch Druck der Handballen auf die Objektträger übertragen. Die Zellen wurden mit Merkofix (Merck KGaA, Darmstadt) fixiert. Je ein bis zwei Tropfen Negativ- und Positivkontrolle aus dem Testkit wurden auf die entsprechend beschrifteten Objektträger getropft und mit Merkofix fixiert. Die Objektträger wurden eine Stunde an der Luft getrocknet.

Nach Anweisung des Herstellers folgten Färbungen und Waschungen der Urinproben und der Kontrollen. Danach wurden die Objektträger mit einer Stopplösung versehen und anschließend 15 Minuten inkubiert. Es folgte ein Aufbringen der aus dem Testkit stammenden Antikörper und eine 60-minütige Inkubationszeit. Mehrere Spülungen mit PBS-Lösungen (Atlas Chemical Industry) wurden durchgeführt. Zur Beurteilbarkeit wurden die Objektträger mit Permafluor (Thermo Fisher Scientific, UK), einer Deckelungslösung, versehen und eingedeckelt.

Die mikroskopische Beurteilung erfolgte mit einem Zeiss Axioskop Fluoreszenzmikroskop mit den Vergrößerungen 20x und 40x. Die beiden zu detektierenden Antigene wurden mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert. Zusätzlich wurden morphologische Kriterien beurteilt, um maligne von physiologischen Zellen, welche auch Antigene besitzen, wie zum Beispiel die Granulozyten, zu unterscheiden.

In dieser Arbeit wurde der uCyt+/ ImmunoCyt™-Test bei Nachweis einer grünen oder roten fluoreszierenden epithelialen Zelle als positiv, bei keinem Nachweis als negativ gewertet. Voraussetzung war, dass das Präparat mindestens 500 Zellen enthält.

#### **2.3.3.4 NMP22™**

Im Rahmen dieser Studie wurde ein quantitativer NMP22™-Test der Firma Alere verwendet. Die sich in dem NMP22™-Testkit befindenden monoklonalen Antikörper binden in der Probe enthaltenes NMP22 Protein. Die gebundenen Antikörper sind mit einer Färbelösung markiert und können dann photometrisch quantifiziert werden.

Die Urinproben wurden mit dem im Testkit enthaltenen Urinstabilisator gemischt, wodurch sich der Urin blau-grün färbte. Nach Angaben des Herstellers wurden Standard-, Kontroll- und diverse weitere Lösungen zubereitet. Die im Testkit

enthaltene Streifenplatte besteht aus 12 Streifen à 8 Wells. Die Wells sind mit mononuklealen-anti-NMP22 der Maus beschichtet. Zuerst wurde die Streifenplatte in einem Waschautomaten (Opsys MW, Dynex Technologies GmbH, Berlin) drei Mal mit Waschlösung gewaschen. Die Wells wurden in drei Gruppen aufgeteilt: die Standardproben zur Erstellung der Standardkurve, die Kontrollproben und die zu messenden Proben. Jedes Wells wurde jeweils mit 200 µl der dafür vorgesehen Probe, dem Standard, der Kontrolle und der Urinprobe bestückt. Nachdem die Teststreifen 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert wurden, folgte die dreimalige Waschung mit der Waschlösung. Jeder Kavität wurde 200 µl DIG-Anti-NMP22-Reagenz hinzugefügt. Der weiteren Inkubation von einer Stunde folgte eine weitere dreimalige Waschung. In jede Kavität wurde 200 µl HRP-SAD-Reagenz hinzugefügt und die Teststreifen wurden für weitere 30 min inkubiert. Es folgte eine weitere dreimalige Waschung.

Die angefertigte OPD-Lösung, von der jeder Kavität 200 µl zugeführt wurde, verursachte die für das Testergebnis entscheidende Färbung der Probe. Um die Färbereaktion nicht durch Lichteinflüsse zu verfälschen, wurden die Zuführung der OPD-Lösung und die 30-minütige Inkubation im Dunkeln durchgeführt. Die Farbentwicklungsreaktion wurde durch die Zugabe von 50 µl 2M (4N)H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pro Wells gestoppt. Im Dunkeln erfolgte eine weitere Inkubation von 10 min. Innerhalb von 30 min wurde die Absorption der Proben bei 490 nm mit einem Photometer (Anthos 2010, Anthos Mikrosysteme GmbH, Krefeld) gemessen.

Anhand einer Standardkurve wurde das quantitative Ergebnis ermittelt. Jedem Absorptionswert konnte eine Konzentration von NMP22 in U/ml zugeordnet werden. Nach Herstellerempfehlung wurden Werte <10 U/ml als negative Werte und >10U/ml als positive definiert.

#### **2.3.3.5 Urinstatus**

Der Urinstatus besteht aus der rein optischen Beurteilung des Urins nach Farbe und Trübung, dem Nachweis bestimmter Substanzen mit Teststreifen, auch semiquantitative Auswertung genannt, und der mikroskopischen Untersuchung des Urins. Die frische Urinprobe muss innerhalb von 2 Stunden analysiert werden und sollte bei der Untersuchung Raumtemperatur haben.

Zuerst wurde makroskopisch die Farbe und die Trübung des Urins beurteilt. Die Farbe des Urins kann je nach Pathologie von hellgelb bis dunkelgelb, hellrot bis dunkelrot zu schwarz reichen. Der Urin kann auch je nach Pathologie klar bis käsig getrübt sein.

Mittels eines Urinteststreifens fand die semiquantitative Bestimmung des Urins statt. In dieser Studie wurde der Combur 10 Test M cobas der Firma Roche verwendet. Hierzu wurde ein Teststreifen für ca. 1 Sekunde so in den Urin eingetaucht, dass alle Testfelder mit Urin benetzt waren. Nach 60 bis 120 Sekunden konnten die Reaktionsfarben der Testfelder mit der Farbvergleichsskala auf der Teststreifenröhre verglichen werden. Die Konzentration der Farbe, welche dem Testfeld am ähnlichsten war, wurde als Ergebnis auf dem Befundformular eingetragen. Folgende Parameter konnten anhand der Färbungen abgelesen werden: Urindichte, pH-Wert, Leukozyten, Nitrit, Protein, Glucose, Keton, Urobilinogen, Bilirubin und Erythrozyten.



Abbildung 3 Für den Urinstatus in der Klinik verwendeter Combur 10 Test M cobas der Firma Roche (Praxisdienst 2018).

Abschließend wurde der Urin mit einem Zeiss-Mikroskop bei 400-facher Vergrößerung mikroskopiert. Hierzu wurde auf eine Fuchs-Rosenthal-Zählkammer ein Haemocytometer-Deckglas aufgelegt und der Urin mit einem Rührspatel in die Zählkammer gefüllt. Es wurden acht Kleinquadrate ausgezählt und die Anzahl und Morphologie der Erythrozyten und Leukozyten wurde beurteilt. Die Suche galt auch Bakterien, abgeschilferten Zellen, Zylindern, Kristallen, Pilzen und Spermien.

### **2.3.3.6 Hämaturie**

Anhand der Ergebnisse des Combur 10 Testes M cobas, der optischen Beurteilung und der Mikroskopie wurde bestimmt, ob zum Zeitpunkt der Urinprobeentnahme eine Hämaturie, unterteilt in Mikro- und Makrohämaturie, vorlag.

Jeder Nachweis von Erythrozyten, sowohl im Combur 10 Test M cobas, als auch in der Mikroskopie, wurde als Hämaturie gewertet. Die Unterscheidung zwischen Mikro- und Makrohämaturie richtete sich nach der Farbe des Urins. Bei einer sichtbaren Rotfärbung des Urins durch Blutbeimengung, was in der Mikroskopie einer Konzentration von mehr als 50 Erythrozyten pro Gesichtsfeld bei 400-facher Vergrößerung entsprach, lag eine Makrohämaturie vor.

Ohne sichtbare Färbung des Urins oder ohne einen Nachweis von Erythrozyten mittels Teststreifen lag eine Mikrohämaturie vor. Mikroskopisch zeigte sich die Mikrohämaturie bei einem Nachweis von >3 Erythrozyten pro Gesichtsfeld bei 400-facher Vergrößerung in 5-20 Gesichtsfeldern. Fanden sich keine Erythrozyten in der Urinprobe, wurde die Hämaturie als negativ gewertet und der Patient aus der Arbeit ausgeschlossen.

### **2.3.4 Zystoskopie**

Die Zystoskopie wurde von Ärzten der Universitätsklinik für Urologie in Tübingen durchgeführt. Bei der Spiegelung der Blase, Zystoskopie, wird die Blasenschleimhaut inspiziert. Indikation stellen zum Beispiel eine Hämaturie, häufige Blasenentzündungen oder der Verdacht auf einen Blasentumor da. Ein Zystoskop ist ein bleistiftdickes, starres oder flexibles Rohr mit einem Lichtkanal, einem Arbeitskanal für Instrumente und einem größeren Kanal, der als Spül- und Absaugvorrichtung dient, um während der Zystoskopie die Blase entleeren und füllen zu können.

Sah man in der Zystoskopie auffällige Areale, wurden diese im Verlauf biopsiert und einer histologischen Untersuchung unterzogen. Aufgrund des pathologischen Ergebnisses konnten benigne Proben als negatives, und maligne Proben als positives Ergebnis gewertet werden. Letztere wurden durch den Pathologen mit dem jeweiligen Tumorstadium versehen.

## **2.4 Datenerhebung**

### **2.4.1 Datenquelle**

#### **2.4.1.1 Stammdaten**

Primär erfolgte die Datenerhebung aus dem Zytologiebuch des urologischen Labors in Tübingen. Das Zytologiebuch wurde im Urologischen Labor aufbewahrt, wo es allen Mitarbeitern zugänglich war. In dem Zytologiebuch wurden chronologisch alle Patienten erfasst, bei denen eine urologische Diagnostik in Form einer Messung der Harnmarker und einer Durchführung der Urinzytologie erfolgte. Jedem Patienten wurde eine interne Nummer zugeteilt, welche sich aus dem Jahr der Urinabnahme und der chronologischen Abnahmenummer des jeweiligen Jahres zusammensetzt. Zum Beispiel lautete die interne Nummer für den Patienten X, der im Jahr 2006 der 1506ste Patient war, bei dem die oben genannte urologische Diagnostik durchgeführt wurde, Z06/1506. Weiter gibt das Zytologiebuch Auskunft über Vor- und Nachnamen der Patienten. Zur eindeutigen Identifikation der Patienten wurde ein Aufkleber mit Vor- und Nachnamen sowie dem Geburtsdatum des Patienten in das Zytologiebuch geklebt.

#### **2.4.1.2 Ergebnisse der Urindiagnostik**

Das Datum der Urinabnahme und die Art der Uringewinnung, Katheterurin oder Spontanurin, wurden im Zytologiebuch dokumentiert. Dem Swiss Lab, einem separaten Dokumentationssystem der Urologie für urologische Marker, konnten die Ergebnisse des Urinstatus und Combur-Testes entnommen werden. Der Urinstatus wurde vom Zentrallabor des Universitätsklinikums Tübingen ausgewertet und die Ergebnisse durch deren Software automatisch in das Swiss Lab übertragen. Die Ergebnisse des Combur-Testes wurden von den Medizinisch-technischen Assistentinnen manuell in das Swiss Lab eingetragen. Folgende Parameter wurden für diese Arbeit berücksichtigt: Nitrit, Leukozyten, Proteine, Farbe/Trübung des Urins, die Art der Uringewinnung (Katheterurin, Spontanurin), Erythrozyten im Combur-Test und Erythrozyten in der Mikroskopie. Die Medizinisch-technischen Assistentinnen des Urologie Labors Tübingen führten die Harnmarkermessungen und die Urinzytologie durch. Die Ergebnisse



wurden dem entsprechenden Patienten zugeordnet und ins Zytologiebuch übernommen.

#### **2.4.1.3 Weitere Informationen**

Zusätzliche Informationen über den Patienten wurden mit Hilfe des Krankenhausinformationssystems, IS-H, erhoben. IS-H steht für Industry Solution Healthcare und wurde von der europäischen Softwarefirma SAP entwickelt. Dieses System verknüpft diverse Dokumente, wie zum Beispiel Untersuchungsergebnisse und Arztbriefe. So konnte man zum Beispiel das Ergebnis der CT mittels des IS-H einsehen.

#### **2.4.2 Ablauf der Datenerhebung**

Die Datenerhebung orientiert sich an den in Kapitel 2.3.1 genannten Ein- und Ausschlusskriterien. Die für die Arbeit relevanten Parameter wurden aus klinischen Daten zusammengestellt, welche vorab routinemäßig im Klinikalltag erhoben wurden. Zuerst wurde ein Kollektiv an Patienten erstellt, welche eine Bestimmung der onkologischen Harnmarker und eine Messung der Urinzytologie erhalten hatten, die Harnmarker- und Urinzytologie-Datenbank. Für diese Patienten wurden die folgenden Parameter in die Datenbank eingetragen. Daraufhin wurde die Datenbank anhand der Kriterien gefiltert, sodass am Schluss eine der Ein- und Ausschlusskriterien entsprechende Datenbank vorlag.

##### **2.4.2.1 Harnmarker- und Urinzytologie-Datenbank**

Aus einem von Jessica Schwarz, einer Doktorandin des Urologischen Labors Tübingen, zusammengestellten Patientenkollektiv konnten alle Patienten in die Harnmarker- und Urinzytologie-Datenbank übernommen werden. Jessica Schwarz hatte alle Patienten in ihr Kollektiv aufgenommen, welche im Zeitraum von September 2006 bis November 2009 eine Untersuchung der onkologischen Harnmarker und der Urinzytologie erhalten hatten. Bei der Zusammenstellung der Patienten orientierte sie sich am Zytologiebuch des Urologischen Labors. Sie übernahm in ihre Datenbank alle Informationen aus dem Zytologiebuch: Geburtsdatum des Patienten, Abnahmedatum, Art der Uringewinnung, Ergebnisse der onkologischen Harnmarkermessung sowie Ergebnis der Urinzytologie.

Die Patienten, die im Zeitraum von November 2009 bis Juli 2011 eine Messung der onkologischen Harnmarker und eine Bestimmung der Urinzytologie erhielten, wurden aus einer sogenannten 4400-Datenbank extrahiert. Diese Datenbank wurde im Verbund erarbeitet. Die Grundlage dieser Datenbank lieferte ebenfalls das Zytologiebuch der Universitätsklinik für Urologie Tübingen. Ein Bias kann hier ausgeschlossen werden, da Patienten mit positiven Harnmarkern anschließend auf jeden Fall eine Zystoskopie erhalten hatten. In die 4400-Datenbank wurden alle Patienten aufgenommen, welche im Zeitraum von November 2009 bis Juli 2011 eine Zystoskopie erhalten hatten. Zusammenfassend beinhaltet die 4400-Datenbank für jeden einzelnen Patienten alle dem Zytologiebuch entnommenen Informationen, und das Ergebnis der Zystoskopie. Aus dieser Datenbank konnten alle Patienten in die Harnmarker- und Urinzytologie-Datenbank übernommen werden.

Zur Erhebung der Patienten, welche im Zeitraum von August 2011 bis Dezember 2012 eine Untersuchung der onkologischen Harnmarker und der Zytologie erhielten, wurde das Zytologiebuch verwendet. In das Kollektiv wurden alle Parameter des Zytologiebuches übernommen. Die einzelnen Ergebnisse des U-Status und des Combur-Testes konnten mit Hilfe des Swiss Lab ergänzt werden. Das Swiss Lab ist nicht mit dem I-SH gekoppelt. Anhand des Aufklebers des einzelnen Patienten im Zytologiebuch war das Geburtsdatum des Patienten bekannt. Mit diesem konnte der Patient im Swiss Lab aufgerufen werden. Dort konnte das Ergebnis des Combur-Testes und des Urinstatus eingesehen werden. So konnten die fehlenden Ergebnisse von jedem Patienten eingesehen und in die Datenbank übernommen werden.

#### **2.4.2.2 Erhebung der Zystoskopie**

Aus der Harnmarker- und Urinzytologie-Datenbank mussten nun alle Patienten extrahiert werden, bei denen eine Zystoskopie durchgeführt wurde. Die Dokumentation der Zystoskopie wurde als Datei im IS-H gespeichert. Mithilfe des im Zytologiebuch dokumentierten Namens und Geburtsdatums des Patienten konnte der Patient im IS-H aufgerufen werden. Dort waren neben dem Patientenstammblatt alle im Krankenhaus durchgeführten Untersuchungen, Arztbriefe und Befunde des entsprechenden Patienten gespeichert. Das

Ergebnis der Zystoskopie nach pathologischer Analyse wurde dem Befund des Pathologen entnommen. Die Patienten aus der 4400-Datenbank hatten alle eine Zystoskopie. Bei diesen musste noch das pathologische Ergebnis ergänzt werden. Bei den restlichen Patienten wurde wie beschrieben vorgegangen.

#### **2.4.2.3 Erhebung weiterer durchgeführter Untersuchungen des oberen Harntraktes**

Mit Hilfe der Dokumentation im IS-H konnten die Ergebnisse weiterer durchgeführter Untersuchungen des oberen Harntraktes eingesehen werden. Hier waren die Befunde der durchgeführten Diagnostik, wie zum Beispiel der Sonographiebefund, gespeichert. Ablauf und Ergebnis der Untersuchung konnten mittels dieses Dokumentes eingesehen werden. Es wurde nicht nur die Art der Untersuchung in die Datenbank übernommen, sondern auch das Ergebnis. Fiel die Sonographie unauffällig aus, wurde dies entsprechend dokumentiert. Bei Auffälligkeiten wurden die Ergebnisse kurz zusammengefasst mit in die Datenbank übernommen.

#### **2.4.3 Parameter der Excel-Datenbank**

Die genannten Daten sowie einige personenbezogene Daten wurden schließlich in einer Gesamtdatenbank zusammengefasst. Diese enthielt:

- Zuordnungsnummer, bestehend aus Jahresdatum und der chronologischen Urinabnahmenummer aus dem Zytologiebuch
- Nachname, Vorname, die Initialen des Vor- und Nachnamens
- Geburtsdatum
- Geschlecht
- Abnahmedatum des Urins
- Alter des Patienten zum Zeitpunkt des Abnahmedatums errechnet aus der Differenz des Geburtsdatums und des Abnahmedatums.
- Datum, Art und Ergebnis von einer weiteren Untersuchung des oberen Harntraktes
- Raucherstatus in Form von: Nichtraucher, aktueller Raucher mit Mengenangabe des Rauchens in pack years, Ex-Raucher mit Angabe der zeitlichen Differenz zwischen letzter Zigarette und Urinabnahmedatum

- Ergebnis der onkologischen Harnmarker: uCyt+/ImmunoCyt™, NMP22™ und UroVysion/FISH™
- Ergebnis der Zytologie
- Ergebnisse des Swiss Labors:
  - Nitrit im Urin
  - Leukozyten im Urin
  - Proteine im Urin
  - Material bezogen auf die Art der Uringewinnung
  - Nachweis von Erythrozyten im Urin mittels Combur-Tests,
  - Nachweis von Erythrozyten im Urin anhand der Mikroskopie, unterteilt in Mikro- und Makrohämaturie
  - Farbe des Urins
  - Trübheit des Urins
  - Vorliegen eines Harnwegsinfekts anhand der Leukozyten-, und Erythrozytenzahl, sowie des Nachweises von Nitrit
- Ergebnis der Zystoskopie, Histologie, Tumor im oberen Harntrakt oder der Harnblase
- Applizierte Therapie

## **2.5 Erhebung des Raucherstatus**

### **2.5.1 Rauchen**

Das Rauchverhalten der Patienten wurde in drei Gruppen unterteilt: aktuelle Raucher, ehemalige Raucher und Patienten, die noch nie geraucht haben. Die Dauer und Menge des Zigarettenkonsums wurde, soweit bekannt, in pack years angegeben. Die pack years berechnen sich durch Multiplikation der täglich konsumierten Päckchen mit der Anzahl der Raucherjahre (national cancer institute 2018). Aktuell geht man von 20 Zigaretten pro Päckchen aus. Ein Beispiel: Raucht eine Patientin seit 20 Jahren ein Päckchen Zigaretten täglich, hat diese 20 pack years angesammelt. Bei den ehemaligen Rauchern wurde, falls eruiert, zusätzlich zu den pack years die aus dem Datum des letzten Zigarettenkonsums und dem Datum der Urinabgabe errechnete Zeitspanne als Nichtraucher. Beispiel: 20 pack years, letzte Zigarette vor 15 Jahren.

### **2.5.2 Ablauf der Erhebung des Raucherstatus**

Jeder stationäre Patient in der Urologie des Universitätsklinikum Tübingens erhielt seitens der Pflegekräfte eine pflegerische Anamnese. Dort wurde neben den alltäglichen Aktivitäten des Lebens, durch welche der aktuelle Pflegebedarf des Patienten ermittelt wurde, auch der Raucherstatus des Patienten erfragt. Die Anamnese wurde meist bei der prästationären Aufnahme im Aufnahmezimmer auf der urologischen Station durch die Pflegekräfte durchgeführt. Die Anamnese des Patienten wurde direkt in das O-Care-System, einem Dokument im IS-H übernommen. Erfolgte die Aufnahme nicht über die Station, wurde die pflegerische Anamnese am Patientenbett direkt mittels eines pflegerischen Dokumentationsbogens durchgeführt. Die Anamnese wurde dann in das O-Care-System übertragen. Mithilfe des Geburtsdatums im Zytologiebuch konnte der Patient im IS-H und darüber im O-Care-System aufgerufen werden.

<p>Universitätsklinikum Tübingen                  Klinik für Urologie 28 Station A 07 Ost UR                  72076 Tübingen Hoppe-Seyley-Straße 3                  Tel 07071/29-86651 Fax 07071/29-5432</p> <p><b>CARE-O Anamnese/Status</b></p>	 <p>Universitätsklinikum Tübingen                  Eberhard-Karls-Universität  <b>UKT</b>                  Universitätsklinikum Tübingen</p>
---	---

<b>Rolle und Beziehung</b>
<p><b>Familienstand:</b> verheiratet  <b>Anzahl Kinder:</b> 10  <b>Ausbildung/Beruf/Rente:</b> selbständig  <b>erlernter/ausgeübter Beruf:</b> Unternehmer  <b>persönliche Situation:</b> Dolmetscher  <b>soziales Netz:</b> (Verwandter, spricht Englisch)</p>
<b>Medizinisches Konzept</b>
<p><b>Diagnose:</b> Diagnosen: ?#Karpaltunnelsyndrom rechts mehr als links ?#Leichtes Sulcus-ulnaris-Syndrom (nur elektrophysiologisch gesichert) ?#Diabetische Polyneuropathie ?#Schwerer Diabetes mellitus ?#Herzinsuffizienz ?#Parkinson Diagnose: #LUTS, BPH Operation: #Diagnostische Urethrozystoskopie am 01.12.2009  <b>Grund der Aufnahme/Therapie:</b> Tur-P am 03.12.2009  <b>Nebendiagnosen:</b> Diab. mellitus 2 insulinpfl.  <b>keine Allergien bekannt</b></p>
<b>Wahrnehmung, Umgang mit der eigenen Gesundheit</b>
<p><b>Tabakkonsum:</b> Raucher  <b>Tabakkonsum Freitext:</b> 3-4/d  <b>Alkohol, Drogen, sonstige Noxen:</b> gelegentlich</p>
<b>Entlass-Management</b>
<p>von <b>Zuzahlungspflicht</b> befreit.</p>
<b>Ernährung und Stoffwechsel</b>
<p><b>Kostform/Trinkmenge</b> ohne Schweinefleisch ohne Zucker  <b>Körpergewicht (in kg):</b> 94.0  <b>Körpergröße (in cm):</b> 164.00  <b>BMI (Body Mass Index):</b> 34.9  <b>Körperoberfläche (KOF):</b> 2.00  <b>Zahnprothesen:</b> Teilprothese o/u  <b>Selbstversorgung Ernährung:</b> selbständig  <b>Haut/Schleimhaut:</b> o.B.  <b>Risiko für Gewebsschädigung:</b> 20 = kein Risiko ( über 18 Pkt.)</p>
<b>Aktivität und Bewegung I</b>
<p><b>Lagewechsel:</b> selbständig  <b>Positionswechsel:</b> selbständig  <b>Fortbewegen:</b> eingeschr. selbständig  <b>Fortbewegen Freitext:</b> sehr langsam  <b>Sturz in den letzten 6 Monaten:</b> ja  <b>Betroffene/r</b> schätzt sich selbst als sturzgefährdet ein.  <b>verantwortl. Pflegekraft</b> schätzt Betroffene/n als nicht sturzgefährdet ein.</p>
<b>Aktivität und Bewegung II</b>
<p><b>Atemnot:</b> Belastungsdyspnoe  <b>Selbstversorgung Körperpflege:</b> eingeschr. selbständig  <b>Ankleiden:</b> eingeschr. selbständig</p>
<b>Ausscheidung</b>
<p><b>Urin:</b> Inkontinenz - Nykturie  <b>Urin Freitext:</b> 3-4mal  <b>Stuhl:</b> Obstipation</p>

Abbildung 4 Ausschnitt aus dem Anamnesedokument. Unter Wahrnehmung, Umgang mit der eigenen Gesundheit konnte der Raucherstatus erhoben werden.

Wurde die pflegerische Anamnese gar nicht oder unvollständig erhoben, gaben die Prämedikationsbögen der Anästhesie Auskunft über den Raucherstatus. Jeder Patient mit bevorstehendem operativem Eingriff erhielt präoperativ ein Narkosegespräch durch den Anästhesisten. Dieser dokumentierte seine Anamnese in einem Prämedikationsbogen. Aufgrund der bevorstehenden Beatmung während der Narkose ist der Raucherstatus für den Anästhesisten von Bedeutung. Auf dem Bogen erfolgte zusätzlich die intra- und postoperative Dokumentation.

Abbildung 5 Prämedikationsbogen, welcher Auskunft über den Nikotinkonsum gab.

Nach Beendigung des stationären Aufenthaltes wurde das Dokument eingescannt und im IS-H gespeichert.

Zur Einsicht der Anästhesieprotokolle wurde der Patient im IS-H aufgerufen. Über den Button Dokumente waren die Anästhesieprotokolle mit dem Prämedikationsbogen einsehbar. Durch den Prämedikationsbogen konnte bei einigen ehemaligen und aktuellen Rauchern der Konsum der Zigaretten durch die pack years quantifiziert werden. Fehlte die pflegerische Dokumentation vollends, waren die Narkoseprotokolle die einzige Möglichkeit, Auskunft über den Raucherstatus zu erhalten. Aufgrund der durchgeführten Zystoskopie hatten die meisten Patienten eine Narkoseaufklärung mit folgendem Prämedikationsbogen (vgl. Abb. 5). Lag der Raucherstatus des Patienten nicht vor, wurde der Patient aus dieser Arbeit ausgeschlossen.

## **2.6 Statistische Auswertung der Daten**

Die statistische Analyse der Daten wurde mit der Software JMP (JMP, Version 10.0 SAS Institute Inc., Cary NC, USA) durchgeführt. Die Darstellung der verschiedenen Patientenkollektive erfolgte mittels deskriptiver Statistik. Die Prüfung der Fragestellung erfolgte durch Substantiierung des Studienkollektivs.

### **2.6.1 Einteilung des Studienkollektivs in Subkollektive**

Das Patientenkollektiv wurde in zwei Subkollektive unterteilt. Anhand der Zystoskopie und der davon ausgehenden Histologie wurden die Patienten in ein Patientenkollektiv ohne Nachweis eines BC und in ein Patientenkollektiv mit Nachweis eines BC unterteilt.

### **2.6.2 Kontingenzanalyse innerhalb der Subkollektive**

In beiden Subkollektiven wurden die Patienten in drei Gruppen unterteilt: die Nichtraucher, die ehemaligen Raucher und die aktuellen Raucher. Es wurde jeweils eine Kontingenzanalyse für die jeweilige stattgefundene Urindiagnostik, Urinzytologie, UroVysion/FISH™, uCyt+/ImmunoCyt™ und NMP22™ durchgeführt. Die Kontingenzanalyse wurde einerseits gegenüber dem Subkollektiv Nachweis eines BC und andererseits gegenüber dem Subkollektiv kein Nachweis eines BC durchgeführt. Es ergaben sich für jedes Subkollektiv 4



Kontingenztabelle. Die Kontingenztabelle zeigte die absoluten und prozentualen Ergebnisse der negativ und positiv ausgefallenen Teste unterteilt in die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher.

Ein Korrelationskoeffizient beschreibt, wie deutlich ein Zusammenhang zwischen zwei Größen ist. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson ist ein normiertes Maß zur Quantifizierung eines linearen Zusammenhangs (Weiß and Rzany 2013). Die Werte können zwischen -1 und 1 liegen. Der Likelihood-Quotient beschreibt die Güte eines diagnostischen Testes. Für jede einzelne Urindiagnostik wurden die Werte des Likelihood-Verhältnisses und der Pearson Variable bestimmt und dokumentiert.

### **2.6.3 Differenzielle Darstellung der Testwertigkeiten in Abhängigkeit vom Raucherstatus**

Insgesamt hatte jede Urindiagnostik zwei Kontingenztabelle, eine für das Subkollektiv ohne Tumornachweis und eine für das Subkollektiv mit Tumornachweis. Aus den beiden Kontingenztabelle konnten für jede Urindiagnostik drei Vierfeldertafeln erstellt werden: für Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher.

Zur Bestimmung der diagnostischen Wertigkeiten konnte dann mittels der Vierfeldertafel für jeden der vier Urinparameter die Sensitivität, die Spezifität sowie der positive und der negative prädiktive Wert berechnet werden. Zur Berechnung der Sensitivität wurden die Werte des tumorfreien Subkollektives, zur Berechnung der Spezifität die Werte des tumornachgewiesenen Subkollektives verwendet. Die Formeln für die Berechnung dieser Werte können in Tabelle 2 eingesehen werden.

Tabelle 2 Vierfeldertafel mit den Formeln zur Berechnung der Sensitivität, der Spezifität, des positiven prädiktiven Werts und des negativen prädiktiven Werts.

Quelle: miamed.amboss

[https://amboss.miamed.de/library#xid=Xj09\\_f&anker=Z086ad6e195d8a771fd98805a6f68cff](https://amboss.miamed.de/library#xid=Xj09_f&anker=Z086ad6e195d8a771fd98805a6f68cff),

modifiziert durch Katharina Docktor.

	erkrankt	gesund	
Test positiv	a (richtig-positiv)	b (falsch-positiv)	positiver prädiktiver Wert = $a / (a + b)$
Test negativ	c (falsch-negativ)	d (richtig-negativ)	negativer prädiktiver Wert = $d / (c + d)$
alle Kranken, Gesunden	a + c	b + d	
	Sensitivität = $a / (a + c)$	Spezifität = $d / (b + d)$	

#### 2.6.4 Trendtests

Weiterhin wurden innerhalb der beiden Subkollektive die drei Untergruppen Raucher, ehemalige Raucher und Nichtraucher mittels Cochran-Armitage Trendtest auf jedwede ansteigende oder abfallende Unterschiedlichkeiten geprüft. Der Cochran-Armitage Test wurde von den amerikanischen Statistikern William Cochran und Peter Armitage entwickelt. Hierbei werden die ordinal skalierten Merkmale zweier Gruppen verglichen (Weiß and Rzany 2013).

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Eigenschaften des Patientenkollektivs

Im Zeitraum von November 2006 bis einschließlich Dezember 2012 wurden 8.000 Patienten, die die Einverständniserklärung der Studie unterschrieben hatten, gesichtet. Anhand der bereits genannten Ein- und Ausschlusskriterien entstand ein Patientenkollektiv von N=764. Nachträglich wurden von diesem Kollektiv alle Patienten mit einem Prostatakarzinom ausgeschlossen, sodass sich ein endgültiges Datenset von N=723 ergab.

##### 3.1.1 Geschlechts- und Altersverteilung

Das Datenset, bestehend aus 723 Patienten, unterteilte sich in 636 (88%) männliche und 87 (12%) weibliche Patienten. Das Altersspektrum reichte vom 19. Lebensjahr bis zum 92. Lebensjahr. Der Mittelwert für das Alter lag bei 67 Jahren, die Standardabweichung 14,5 Jahre. Der Median lag bei 68 Jahren. Das dritte Quartil entsprach 76 Jahre, sodass 75% des Patientenkollektivs jünger als 76 Jahre alt war.

##### 3.1.2 Gemessene Harnmarker

Einschlusskriterien für das Patientenkollektiv waren die Urinzytologie und die Messung der drei Harnmarker. Die Urinzytologie war am häufigsten negativ getestet worden. Die Ergebnisse der einzelnen Tests sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3 Ergebnisse der einzelnen Urindiagnostik, absolute Anzahl, in Klammer entsprechend prozentualer Anteil.

	negatives Ergebnis	positives Ergebnis
Urinzytologie	516 (71,4%)	207 (25,6%)
UroVysion/FISH™	503 (69,4%)	220 (30,4%)
uCyt+/ImmunoCyt™	388 (53,7%)	335 (46,3%)
NMP22™	190 (26,3%)	533 (73,7%)

### 3.2 Raucherstatus

Unter den 723 Patienten gab es 431 (59,6%) Patienten und Patientinnen, die noch nie Nikotin konsumiert hatten. Die restlichen 292 Patienten (40,4%) unterteilten sich in 215 ehemalige Raucher (73,6%), und 77 aktuelle Raucher (26,4%).

Prozentual teilte sich das gesamte Patientenkollektiv in 59,6% Nichtraucherinnen und Nichtraucher, 29,7% ehemalige Raucherinnen und Raucher, und 10,7% aktuelle Raucherinnen und Raucher. Unter den Rauchern überwogen die männlichen Patienten. Ehemalige Raucher waren zu 94,4% männlich und zu 5,6% weiblich. Da es sich bei dieser Arbeit um eine retrospektive Studie handelt, waren die Angaben bzgl. des Raucherstatus nicht ausreichend, sodass keine Information über den Zeitraum des letzten Nikotinkonsums eruiert werden konnte. Von den aktuellen Rauchern waren 83,1% männlich und 16,9% weiblich. Das Altersspektrum der ehemaligen und aktuellen Raucher reichte vom 31. bis zum 90. Lebensjahr. Der Mittelwert für das Alter der Raucher lag bei 68 Lebensjahren. Der Median betrug 68 Lebensjahre. 75% der Patienten waren älter als 76 Lebensjahre, das 3. Quartil lag dementsprechend bei 76 Lebensjahren.

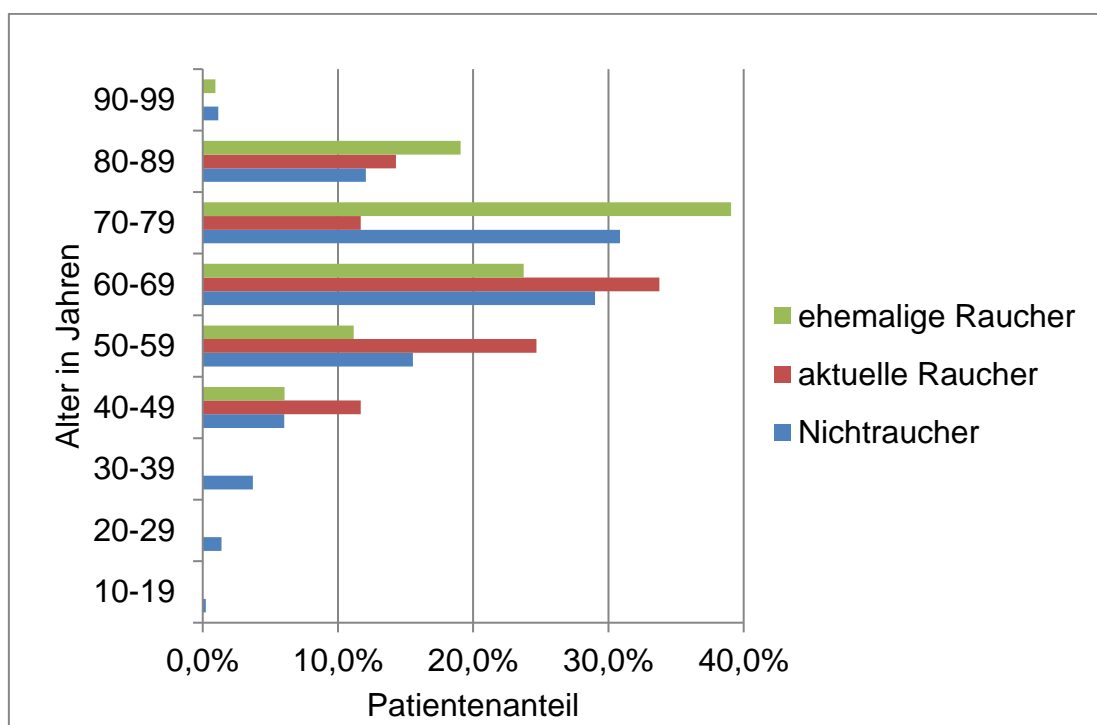


Diagramm 1 Altersverteilung der drei Gruppen: ehemalige Raucher, aktuelle Raucher und Nichtraucher.

### 3.3 Onkologische Charakteristika des Patientenkollektives

#### 3.3.1 Tumorlokalisation

Zum Zeitpunkt der Testdurchführung wurde bei 148 Patienten durch eine Zystoskopie und der daraus folgenden histologischen Sicherung ein BC festgestellt. Folglich hatten 20,5% des Patientenkollektivs nachweislich einen Tumor. Von den 148 Tumorpatienten hatten 140 Patienten einen Tumor der Harnblase, 7 Patienten einen Tumor des oberen Harntraktes und ein Patient hatte sowohl einen Tumor der Harnblase, als auch einen Tumor des oberen Harntraktes.

#### 3.3.2 Tumorstadium und Grad

Die 148 Tumoren differenzierten sich histologisch in 121 NMIBC (81,8%), und 27 MIBC (18,2%). Diagramm 2 gibt Aufschluss über die histologische Verteilung der BC.

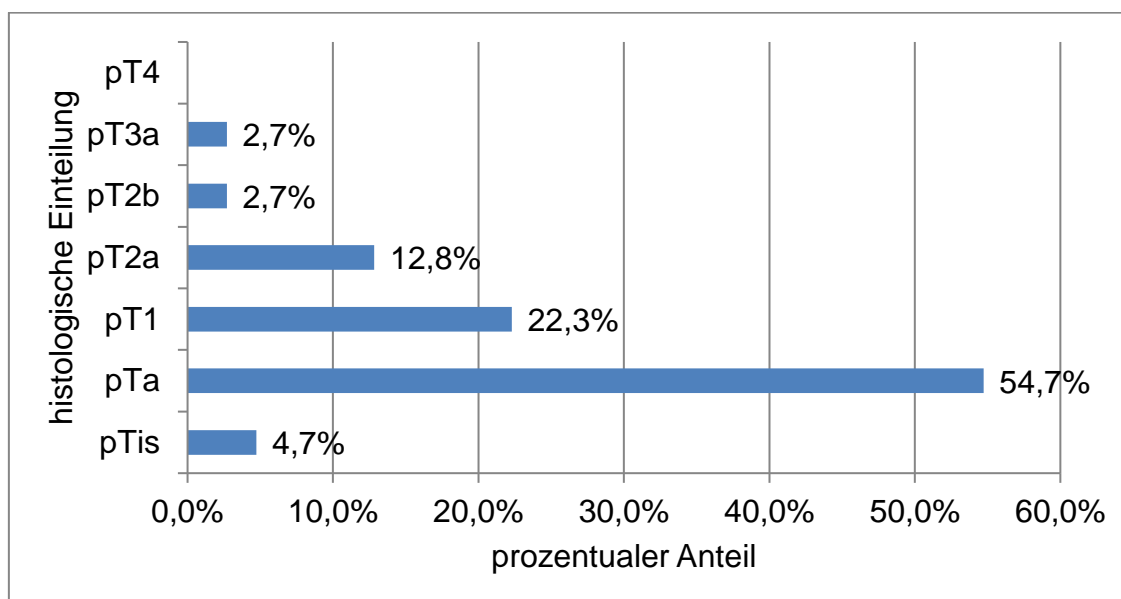


Diagramm 2 **Histologische Verteilung der 148 BC-Patienten, Angaben in Prozent.**

Bei 68,9% der 148 Tumoren lagen LG Tumoren vor (53 G1 und 49 G2 Tumoren), 27% waren HG Tumoren (40 G3 Tumoren). Bei 6 Tumoren (4,1%) gab es keine Informationen bzgl. des Gradings.

### 3.3.3 Verteilung der Tumorstadien bezogen auf das Rauchverhalten

20,5% des Patientenkollektives hatten ein BC. Diese 148 Patienten unterteilten sich in 70 Nichtraucher (47,3%), 25 aktuelle Raucher (16,9%), und 53 ehemalige Raucher (35,8%). Diagramm 3 zeigt die histologische Verteilung der BC im Vergleich Nichtraucher, aktuelle und ehemalige Raucher.

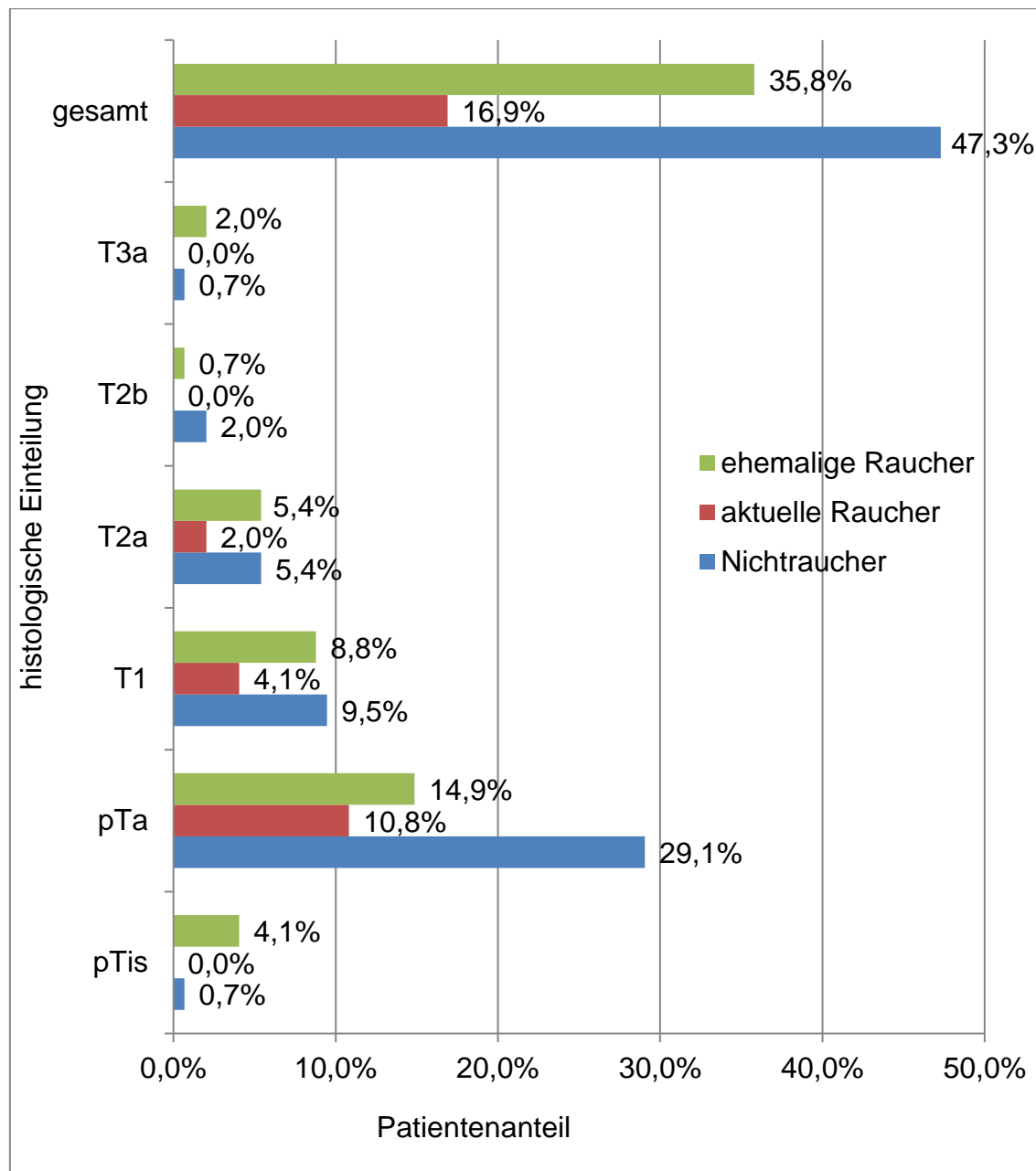


Diagramm 3 Histologische Verteilung der 148 BC-Patienten, im Vergleich ehemalige Raucher, aktuelle Raucher, und Nichtraucher, Angaben in Prozent.

### 3.4 Einfluss des Rauchens auf das Testergebnis

#### 3.4.1 Urinzytologie

##### 3.4.1.1 Falsch-positive-Rate

Zur Evaluation der falsch-positiven Ergebnisse wurde das Subkollektiv ohne Nachweis eines BC herangezogen. 575 von den insgesamt 723 Patienten hatten keinen Tumor (79,5%). Von den 575 tumorfreien Patienten hatten 83,7% eine negative und 16,3% eine positive Urinzytologie.

Tabelle 4 Kontingenztabelle Urinzytologie des Subkollektives ohne Nachweis eines BC.

N Patienten Gesamt % Spalte % Zeile %	Urinzytologie negativ	Urinzytologie positiv	Gesamt
Nichtraucher	302 52,5 63,1 83,7	59 10,3 61,5 16,3	361 62,8
ehemaliger Raucher	131 22,8 27,4 80,9	31 5,4 32,3 19,1	162 28,2
aktuelle Raucher	46 8,0 9,6 88,5	6 1,0 6,3 11,5	52 9,0
Gesamt	479 83,3	96 16,7	575

Im Gesamten war die Urinzytologie des Subkollektives ohne Nachweis eines BC zu 16,7% positiv. Dies entspricht der gesamten falsch-positiven-Rate. Die

Nichtraucher hatten eine falsch-positive-Rate von 16,3%, ehemalige Raucher von 19,1% und aktuelle Raucher von 11,5%.

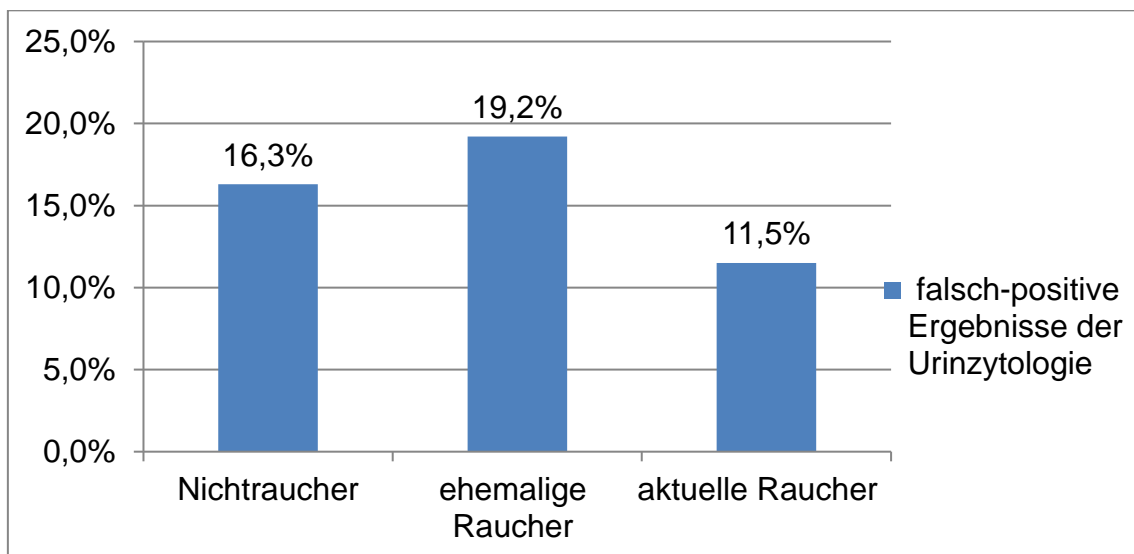


Diagramm 4 **Falsch-positive Ergebnisse der Urinzytologie in Prozent, unterteilt in drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.**

Die statistische Berechnung ergab einen p-Wert von  $p=0.41$  (likelihood-Verhältnis) und  $p=0.42$  (Pearson).

#### 3.4.1.2 Falsch-negative-Rate

Zur Evaluation der falsch-negativen-Rate wurde das Subkollektiv mit Nachweis eines BC herangezogen. 148 von den insgesamt 723 Patienten hatten ein histologisch gesichertes BC (20,5%). Von den 148 histologisch gesicherten BC-Patienten hatten 75% ein positives und 25% ein negatives Ergebnis im Urinzytologie-Test. Die falsch-negative-Rate gesamt lag folglich bei 25%.



Tabelle 5 **Kontingenztabelle Urinzytologie des Subkollektives mit Nachweis eines Urothelkarzinoms.**

N Patienten Gesamt % Spalte % Zeile %	Urinzytologie negativ	Urinzytologie positiv	Gesamt
Nichtraucher	22 14,9 59,5 31,4	48 32,4 43,2 68,6	70 47,3
ehemaliger Raucher	8 5,4 21,6 15,09	45 30,4 40,5 84,91	53 35,8
aktuelle Raucher	7 4,7 18,9 28,0	18 12,2 16,2 72,0	25 16,9
Gesamt	37 25,0	111 75,0	148

Die insgesamt 25,0% falsch-negativen Testergebnisse der Urinzytologie verteilten sich auf die drei Raucherkollektive wie folgt: Die falsch-negative-Rate lag bei den Nichtrauchern bei 31,4%, bei den ehemaligen Rauchern bei 15,1% und bei den aktuellen Rauchern bei 28%. Diagramm 5 fasst die falsch-negativen Ergebnisse der Urinzytologie zusammen.

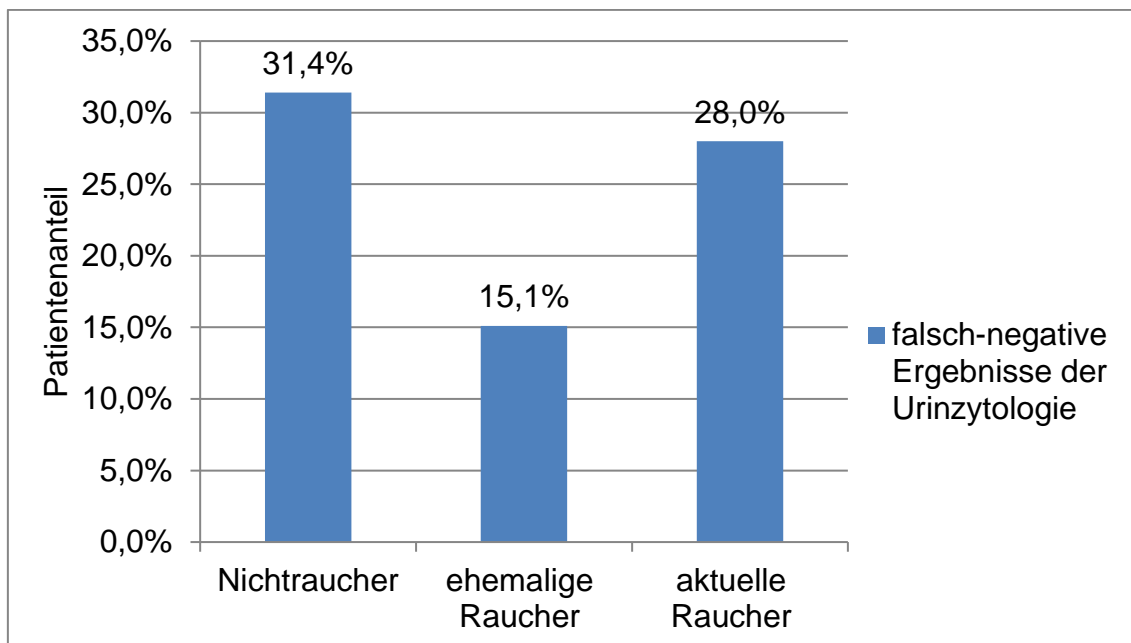


Diagramm 5 Falsch-negative Ergebnisse der Urinzytologie in Prozent, unterteilt in die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.

Die statistische Berechnung ergab einen p-Wert von  $p=0,10$  (likelihood-Verhältnis) und  $p=0,11$  (Pearson).

### 3.4.1.3 Differenzielle Darstellung der Testwertigkeiten in Abhängigkeit vom Raucherstatus

Aus den Kontingenztabellen 4 und 5 errechneten sich die in Tabelle 6 dargestellten Testwertigkeiten Sensitivität, Spezifität, PPW (positiver prädiktiver Wert) und NPW (negativer prädiktiver Wert), gesondert für die Rauchergewohnheiten Nichtraucher, ehemalige und aktuelle Raucher.

Tabelle 6 Sensitivität, Spezifität, PPW, NPW der Urinzytologie bezogen auf die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.

	Sensitivität	Spezifität	PPW	NPW
Nichtraucher	68,6%	83,7%	44,9%	93,2%
ehemalige Raucher	84,9%	80,9%	59,2%	94,2%
aktuelle Raucher	72,0%	88,5%	75,0%	86,8%
Gesamt	75,0%	83,3%	53,6%	92,8%

Die Sensitivität der Urinzytologie lag insgesamt bei 75,0%. Innerhalb der drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher war die Sensitivität bei den ehemaligen Rauchern mit 84,9% am besten. Die Spezifität, die richtig-negativ-Rate, lag im Ganzen bei 83,0%. Am höchsten fiel die Spezifität mit 88,5% bei den aktuellen Rauchern aus.

Die Wahrscheinlichkeit, bei einer positiven Urinzytologie auch tatsächlich erkrankt zu sein, lag insgesamt bei 53,6% (PPW). Als aktueller Raucher ist die Wahrscheinlichkeit bei einer positiven Urinzytologie auch tatsächlich erkrankt zu sein am höchsten mit einem PPW von 75,0%.

Mit einer 92,8%igen Wahrscheinlichkeit war man bei einer negativen Urinzytologie nicht von einem BC betroffen. Der NPW ist bei den aktuellen Rauchern mit 86,8% am niedrigsten.

#### **3.4.1.4 Verwendung des Trendtest nach Cochran-Armitage für die Daten der Urinzytologie**

Der Trendtest zeigte in beiden Subkollektiven keine ansteigenden oder abfallenden Unterschiedlichkeiten. Das Ergebnis des Trendtestes beim Subkollektiv ohne Nachweis eines BC ergab eine Wahrscheinlichkeit von  $p=0,81$  ( $n=575$ ). Das Ergebnis des Trendtestes beim Subkollektiv mit Nachweis eines BC ergab eine Wahrscheinlichkeit von  $p=0,34$  ( $n=148$ ).

#### **3.4.2 UroVysion/FISH™**

##### **3.4.2.1 Falsch-positive-Rate der UroVysion/FISH™ Diagnostik**

Zur Evaluation der falsch-positiven Ergebnisse wurde das Subkollektiv ohne Nachweis eines BC herangezogen. 575 Patienten von den insgesamt 723 Patienten hatten keinen Tumor (79,5%). Von den 575 BC-freien Patienten hatten 82,1% ein negatives und 17,9% ein positives Ergebnis der UroVysion/FISH™.

Tabelle 7 Kontingenztabelle UroVysion/FISH™ des Subkollektives ohne Nachweis eines BC.

N Patienten Gesamt % Spalte % Zeile %	UroVysion/ FISH™ negativ	UroVysion/ FISH™ positiv	Gesamt
Nichtraucher	296 51,5 62,7 82,0	65 11,3 63,1 18,0	361 62,78
ehemalige Raucher	131 22,8 27,8 80,9	31 5,4 30,1 19,1	162 28,17
aktuelle Raucher	45 7,8 9,5 86,5	7 1,2 6,8 13,5	52 9,04
Gesamt	472 82,1	103 17,9	575

Die insgesamt mit 17,9% falsch-positiv getesteten UroVysion/FISH™-Ergebnisse verteilten sich auf die drei Kollektive, die sich im Raucherstatus unterscheiden, wie folgt: Die falsch-positive-Rate lag bei den Nichtrauchern bei 18,0%, bei den ehemaligen Rauchern bei 19,1% und bei den aktuellen Rauchern bei 28,0%. Diagramm 6 zeigt die Werte für die falsch-positive-Rate der UroVysion/FISH™.

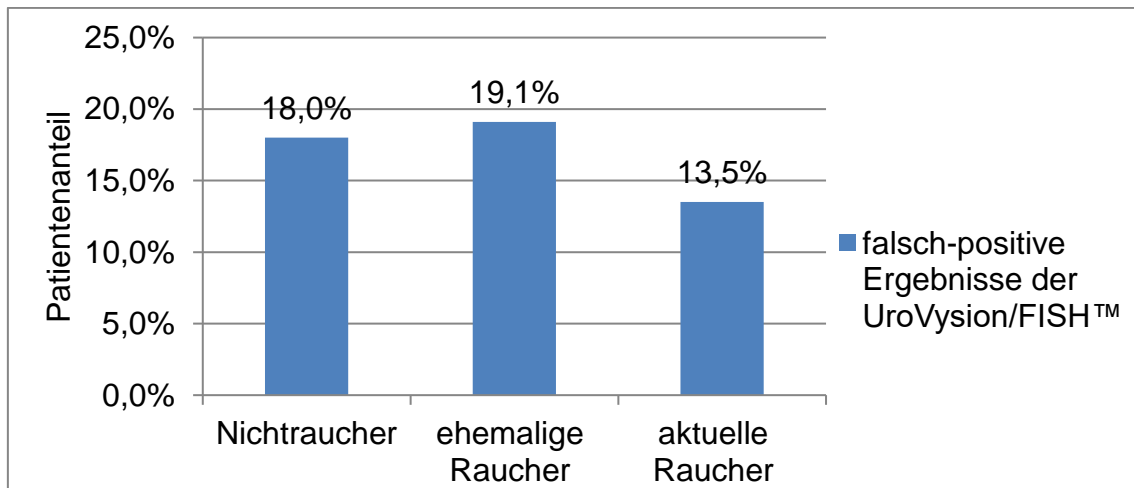


Diagramm 6 **Falsch-positive Ergebnisse der UroVysion/FISH™ in Prozent unterteilt in die 3 Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.**

Die statistische Berechnung ergab einen p-Wert von  $p=0,63$  (likelihood-Verhältnis) und  $p=0,65$  (Pearson).

#### 3.4.2.2 Falsch-negative-Rate der UroVysion/FISH™-Diagnostik

Zur Evaluation der falsch-negative-Rate wurde das Subkollektiv mit Nachweis eines BC herangezogen. Von den 148 histologisch gesicherten BC Patienten hatten 79,1% ein positives und 20,9% ein negatives FISH-Testergebnis. Die falsch-negative-Rate aller Gruppen lag folglich bei 20,9%.

Tabelle 8 Kontingenztabelle UroVysion/FISH™ des Subkollektives mit Nachweis eines BC.

N Patienten Gesamt % Spalte % Zeile %	FISH negativ	FISH positiv	Gesamt
Nichtraucher	17 11,5 54,8 24,3	53 35,8 45,3 75,7	70 47,3
ehemalige Raucher	7 4,7 22,6 13,2	46 31,1 39,3 86,8	53 35,8
aktuelle Raucher	7 4,7 22,6 28,0	18 12,2 15,4 72,0	25 16,9
Gesamt	31 20,9	117 79,1	148

Die insgesamt mit 20,9% falsch-negativ getesteten UroVysion/FISH™-Ergebnisse verteilten sich auf die drei Raucherkollektive wie folgt: Die falsch-negative-Rate lag bei den Nichtrauchern bei 24,3%, bei den ehemaligen Rauchern bei 13,2% und bei den aktuellen Rauchern bei 28,0%. Diagramm 7 zeigt die Werte für die falsch-negative-Rate der UroVysion/FISH™.

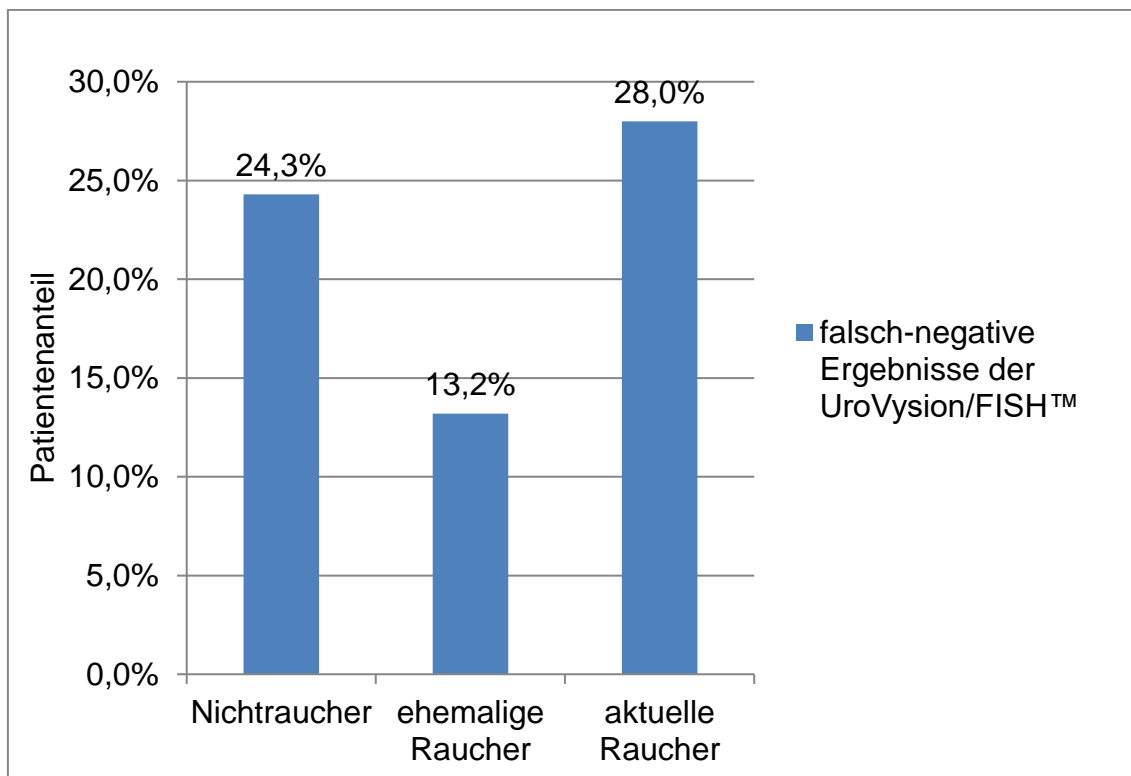


Diagramm 7 Falsch-negative Ergebnisse der UroVysion/FISH™ in Prozent, unterteilt in die 3 Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.

Die statistische Berechnung ergab einen p-Wert von  $p=0,19$  (likelihood-Verhältnis) und  $p=0,21$  (Pearson).

### 3.4.2.3 Differenzielle Darstellung der Testwertigkeiten in Abhängigkeit vom Raucherstatus

Aus den Kontingenztabellen 7 und 8 errechneten sich die in der Tabelle 9 dargestellten Testwertigkeiten Sensitivität, Spezifität, PPW und NPW, gesondert für die Rauchergewohnheiten der Nichtraucher, ehemaligen und aktuellen Raucher.

Tabelle 9 Sensitivität, Spezifität, PPW, NPW der UroVysion/FISH™ bezogen auf die 3 Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.

	Sensitivität	Spezifität	PPW	NPW
Nichtraucher	75,7%	82,0%	44,9%	94,6%
ehemalige Raucher	86,8%	80,9%	59,7%	94,9%
aktuelle Raucher	72,0%	86,5%	72,0%	86,5%
Gesamt	79,1%	82,1%	53,2%	93,8%

Die Sensitivität der FISH lag insgesamt bei 79,1%. Innerhalb der drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher war die Sensitivität bei den ehemaligen Rauchern mit 86,8% am besten. Die Spezifität, die richtig negative Rate, lag im Ganzen bei 82,1%. Am höchsten fiel die Spezifität mit 86,5% bei den aktuellen Rauchern aus.

Die Wahrscheinlichkeit, bei einer positiven FISH auch tatsächlich erkrankt zu sein, lag insgesamt bei 53,2% (PPW). Als aktueller Raucher ist die Wahrscheinlichkeit, bei einer positiven FISH auch tatsächlich erkrankt zu sein, am höchsten (positiver prädiktiver Wert 72,0%).

Mit einer 93,8%igen Wahrscheinlichkeit war man bei einem negativen FISH-Testergebnis tatsächlich gesund. Der negative prädiktive Wert lag bei den ehemaligen Rauchern mit 94,9% am höchsten.

#### **3.4.2.4 Trendtest**

Das Ergebnis des Trendtestes zeigte in beiden Subkollektiven keine ansteigenden oder abfallenden Unterschiedlichkeiten. Das Ergebnis des Trendtestes beim Subkollektiv ohne Nachweis eines BC ergab eine Wahrscheinlichkeit von  $p=0,66$  ( $n=575$ ). Das Ergebnis des Trendtestes beim Subkollektiv mit Nachweis eines BC ergab eine Wahrscheinlichkeit von  $p=0,88$  ( $n=148$ ).

#### **3.4.3 uCyt+/ImmunoCyt™**

##### **3.4.3.1 Falsch-positive-Rate der uCyt+/ImmunoCyt™-Diagnostik**

Zur Evaluation der falsch-positiven Ergebnisse wurde das Subkollektiv ohne Nachweis eines BC herangezogen. Von den 575 BC-freien Patienten hatten 62,1% ein negatives und 37,9% ein positives Ergebnis der uCyt+/ImmunoCyt™.



Tabelle 10 Kontingenztabelle uCyt+/ImmunoCyt™ des Subkollektives ohne Nachweis eines BC.

N Patienten Gesamt % Spalte % Zeile %	uCyt+/ ImmunoCyt™ negativ	uCyt+/ ImmunoCyt™ positiv	Gesamt
Nichtraucher	228 39,7 63,9 63,2	133 23,1 61,0 36,8	361 62,78
ehemalige Raucher	94 16,4 26,3 58,0	68 11,8 31,2 42,0	162 28,17
aktuelle Raucher	35 6,1 9,8 67,3	17 3,0 7,8 32,7	52 9,04
Gesamt	357 62,1	218 37,9	575

Die insgesamt mit 37,9% falsch-positiv getesteten uCyt+/ImmunoCyt™-Ergebnisse verteilten sich auf die drei Raucherkollektive wie folgt: Die falsch-positive-Rate lag bei den Nichtrauchern bei 36,8%, bei den ehemaligen Rauchern bei 42,0%, und bei den aktuellen Rauchern bei 32,7%. Diagramm 8 zeigt die Werte für die falsch-positive-Rate der uCyt+/ImmunoCyt™.

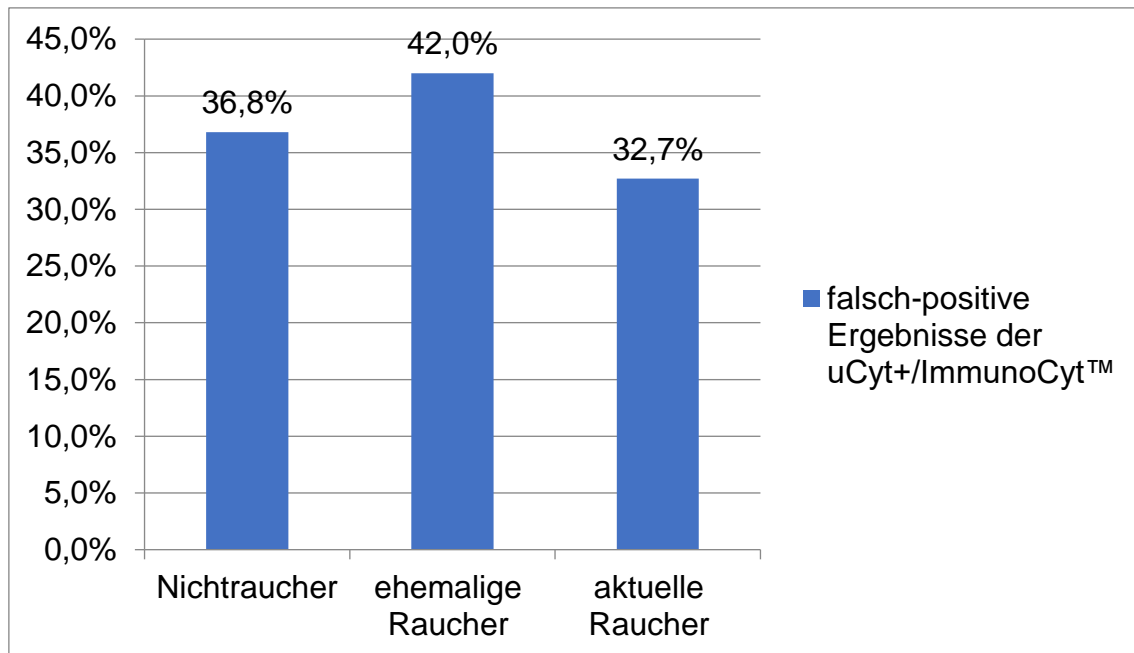


Diagramm 8 **Falsch-positive Ergebnisse der uCyt+/ImmunoCyt™ in Prozent, unterteilt in drei Gruppen: Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.**

Die statistische Berechnung ergab einen p-Wert von  $p=0,38$  (likelihood-Verhältnis) und  $p=0,38$  (Pearson).

#### **3.4.3.2 Falsch-negative-Rate der uCyt+/ImmunoCyt™-Diagnostik**

Zur Evaluation der falsch-negativen-Rate wurde das Subkollektiv mit Nachweis eines BC herangezogen. Von den 148 histologisch gesicherten BC-Patienten hatten 79,1% ein positives und 21,0% ein negatives uCyt+/ImmunoCyt™-Testergebnis. Die falsch-negative-Rate gesamt lag folglich bei 21,0%.

Tabelle 11 Kontingenztabelle uCyt+/ImmunoCyt™ des Subkollektives mit Nachweis eines BC.

N Patienten Gesamt % Spalte % Zeile %	uCyt+/ ImmunoCyt™ negativ	uCyt+/ ImmunoCyt™ positiv	Gesamt
Nichtraucher	15 10,1 48,4 21,4	55 37,2 47,0 78,6	70 47,3
Ehemalige Raucher	12 8,1 38,7 22,6	41 27,7 35,0 77,4	53 35,8
aktuelle Raucher	4 2,7 12,9 16,0	21 14,2 18,0 84,0	25 16,9
Gesamt	31 20,9	117 79,1	148

Die insgesamt mit 20,9% falsch-negativ getesteten uCyt+/ImmunoCyt™-Ergebnisse verteilten sich auf die drei Raucherkollektive wie folgt: Die falsch-negative-Rate lag bei den Nichtrauchern bei 21,4%, bei den ehemaligen Rauchern bei 22,6% und bei den aktuellen Rauchern bei 16,0%. Diagramm 9 zeigt die Werte für die falsch-negative-Rate der uCyt+/ImmunoCyt™.

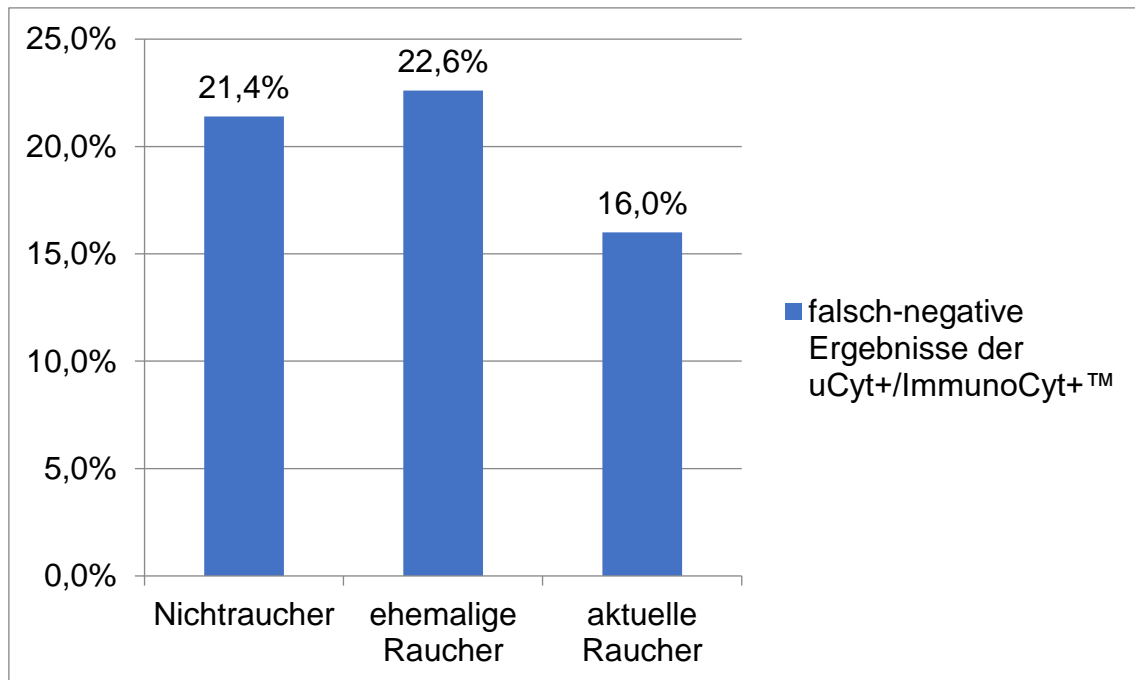


Diagramm 9 Falsch-negative Ergebnisse der uCyt+/ImmunoCyt™ in Prozent, unterteilt in die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.

Die statistische Berechnung ergab einen p-Wert von  $p=0,49$  (Likelihood-Verhältnis) und  $p=0,47$  (Pearson).

### 3.4.3.3 Differenzielle Darstellung der Testwertigkeiten in Abhängigkeit vom Raucherstatus

Aus den Kontingenztabellen 10 und 11 errechneten sich die in der Tabelle 12 dargestellten Testwertigkeiten Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver (PPW) und negativ prädiktiver Wert (NPW), gesondert für die Rauchergewohnheiten Nichtraucher, ehemalige und aktuelle Raucher.

Tabelle 12 Sensitivität, Spezifität, PPW, NPW der uCyt+/ImmunoCyt™ bezogen auf die 3 Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.

	Sensitivität	Spezifität	PPW	NPW
Nichtraucher	78,6%	63,2%	29,3%	93,8%
ehemalige Raucher	77,4%	58,0%	37,6%	88,7%
aktuelle Raucher	84,0%	67,3%	55,3%	89,7%
Gesamt	79,1%	62,1%	34,9%	92,0%

Die Sensitivität der uCyt+/ImmunoCyt™ lag insgesamt bei 79,1%. Innerhalb der drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher war die Sensitivität bei den aktuellen Rauchern mit 84,0% am besten. Die Spezifität, die richtig negative Rate, lag im Ganzen bei 62,1%. Am höchsten fiel die Spezifität mit 67,3% bei den aktuellen Rauchern aus.

Die Wahrscheinlichkeit, bei einer positiven uCyt+/ImmunoCyt™ auch tatsächlich erkrankt zu sein, lag insgesamt bei 34,9% (PPW). Als aktueller Raucher ist die Wahrscheinlichkeit, bei einer positiven uCyt+/ImmunoCyt™ auch tatsächlich erkrankt zu sein, am höchsten (PPW 55,3%).

Mit einer 92,0%igen Wahrscheinlichkeit war man bei einer negativen uCyt+/ImmunoCyt™ tatsächlich gesund. Der NPW war bei den Nichtrauchern mit 93,8% am höchsten.

#### **3.4.3.4 Trend Test**

Das Ergebnis des Trendtestes zeigte in beiden Subkollektiven keine ansteigenden oder abfallenden Unterschiedlichkeiten. Das Ergebnis des Trendtestes beim Subkollektiv ohne Nachweis eines BC ergab eine Wahrscheinlichkeit von  $p=0,88$  ( $n=575$ ). Das Ergebnis des Trendtestes beim Subkollektiv mit Nachweis eines BC ergab eine Wahrscheinlichkeit von  $p=0,67$  ( $n=148$ ).

#### **3.4.4 NMP22™**

##### **3.4.4.1 Falsch-positive-Rate der NMP22™-Diagnostik**

Zur Evaluation der falsch-positiven Ergebnisse wurde das Subkollektiv ohne Nachweis eines BC herangezogen. Von den 575 BC-freien Patienten hatten 70,3% ein negatives und 29,7% ein positives Ergebnis bei der NMP22™-Diagnostik.

Tabelle 13 Kontingenztabelle NMP22™ des Subkollektives ohne Nachweis eines BC.

N Anzahl Gesamt % Spalte % Zeile %	NMP22™ negativ	NMP22™ positiv	Gesamt
Nichtraucher	110 19,1 64,3 30,5	251 43,7 62,1 69,5	361 62,8
ehemalige Raucher	46 8,0 26,9 28,4	116 20,2 28,7 71,6	162 28,2
Aktuelle Raucher	15 2,6 8,8 28,9	37 6,4 9,2 71,2	52 9,0
Gesamt	171 29,7	404 70,3	575

Die insgesamt zu 70,3% falsch-positiv-getesteten NMP22™-Ergebnisse verteilten sich auf die drei Raucherkollektive wie folgt: Die falsch-positive-Rate lag bei den Nichtrauchern bei 69,5%, bei den ehemaligen Rauchern bei 71,6% und bei den aktuellen Rauchern bei 71,2%. Diagramm 10 zeigt die Werte für die falsch-positive-Rate des NMP22™.

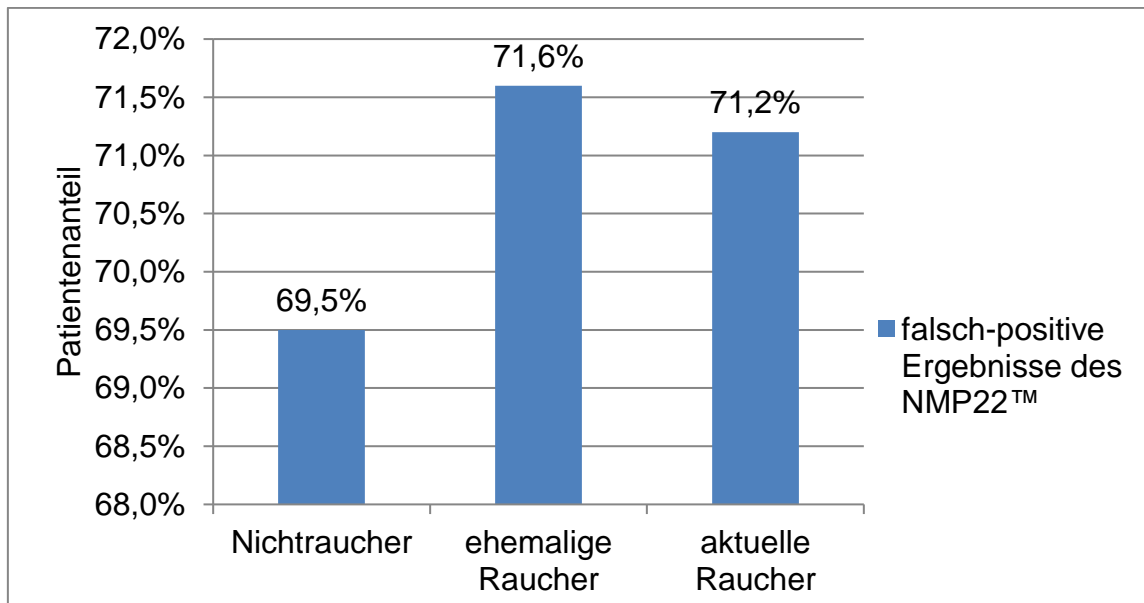


Diagramm 10 **Falsch-positive Ergebnisse des NMP22™ in Prozent, unterteilt in die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher.**

Die statistische Berechnung ergab einen p-Wert von  $p=0,88$  (Likelihood-Verhältnis) und  $p=0,88$  (Pearson).

#### 3.4.4.2 Falsch-negative-Rate der NMP22™-Diagnostik

Zur Evaluation der falsch-negativen-Rate wurde das Subkollektiv mit Nachweis eines BC herangezogen. Von den 148 histologisch gesicherten BC Patienten hatten 87,2% ein positives und 12,8% ein negatives NMP22™-Testergebnis. Die falsch-negative-Rate gesamt lag folglich bei 12,8%.

Tabelle 14 **Kontingenztafel NMP22™ des Subkollektives mit Nachweis eines Urothelkarzinoms.**

N Anzahl Gesamt % Spalte % Zeile %	NMP22™ negativ	NMP22™ positiv	Gesamt
Nichtraucher	7 4,7 36,8 10,0	63 42,6 48,8 90,0	70 47,3
Ehemalige Raucher	10 6,8 52,6 18,9	43 29,1 33,3 81,1	53 35,8
Aktuelle Raucher	2 1,4 10,5 8,0	23 15,5 17,8 92,0	25 16,9
Gesamt	19 12,8	129 87,2	148

Die insgesamt mit 12,8% falsch-negativ getesteten NMP22™-Ergebnisse verteilten sich auf die drei Raucherkollektive wie folgt: Die falsch-positive Rate lag bei den Nichtrauchern bei 10,0%, bei den ehemaligen Rauchern bei 18,9% und bei den aktuellen Rauchern bei 8,0%.



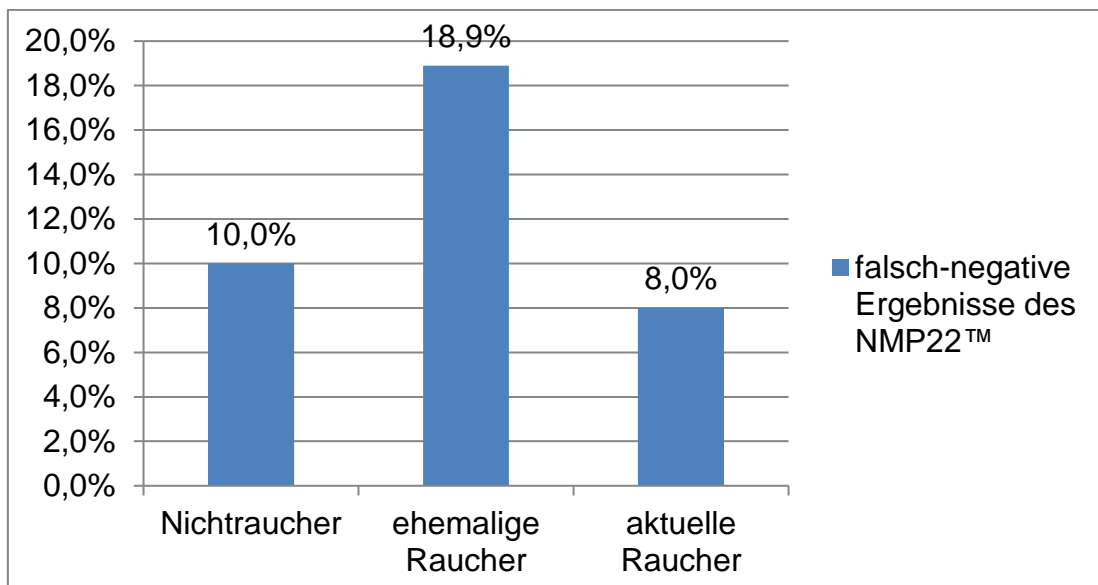


Diagramm 11 **Falsch-negative Ergebnisse des NMP22™ in Prozent, unterteilt in Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher.**

Die statistische Berechnung ergab einen p-Wert von  $p=0,26$  (Likelihood-Verhältnis) und  $p=0,25$  (Pearson).

### 3.4.4.3 Differenzielle Darstellung der Testwertigkeiten in Abhängigkeit vom Raucherstatus

Aus den Kontingenztabelle 13 und 14 errechneten sich die in der Tabelle 15 dargestellten Testwertigkeiten Sensitivität, Spezifität, PPW und NPW, gesondert für die Rauchergewohnheiten Nichtraucher, ehemalige und aktuelle Raucher.

Tabelle 15 **Sensitivität, Spezifität, PPW, NPW des NMP22™ bezogen auf drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher.**

	Sensitivität	Spezifität	PPW	NPW
Nichtraucher	90,0%	30,5%	20,1%	94,0%
ehemalige Raucher	81,1%	28,4%	27,0%	82,1%
aktuelle Raucher	92,0%	28,8%	38,3%	88,2%
Gesamt	87,2%	29,7%	24,2%	90,0%

Die Sensitivität des NMP22™ lag insgesamt bei 87,2%. Innerhalb der drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher war die Sensitivität bei den aktuellen Rauchern mit 92,0% am besten. Die Spezifität, die

richtig negative Rate, lag im Ganzen bei 29,7%. Am höchsten fiel die Spezifität mit 30,5% bei den aktuellen Rauchern aus.

Die Wahrscheinlichkeit, bei einem positiven NMP22™-Testergebnis auch tatsächlich erkrankt zu sein, lag insgesamt bei 24,2% (PPW). Als aktueller Raucher ist die Wahrscheinlichkeit, bei einem positiven NMP22™-Testergebnis auch tatsächlich erkrankt zu sein, am höchsten (PPW 38,3%).

Mit einer 90,0%igen Wahrscheinlichkeit war man bei einem negativen NMP22™-Ergebnis tatsächlich gesund. Der NPW lag bei den Nichtrauchern mit 94,0% am höchsten.

#### **3.4.4.4 Trend Test**

Der Trendtest zeigte in beiden Subkollektiven keine ansteigenden oder abfallenden Unterschiedlichkeiten. Das Ergebnis des Trendtestes beim Subkollektiv ohne Nachweis eines BC ergab eine Wahrscheinlichkeit von  $p=0,67$  ( $n=575$ ). Das Ergebnis des Trendtestes beim Subkollektiv mit Nachweis eines BC ergab eine Wahrscheinlichkeit von  $p=0,80$  ( $n=148$ ).

#### **3.4.5 Urindiagnostik im Vergleich**

##### **3.4.5.1 Falsch-positive Testergebnisse**

Zusammenfassend zeigt Diagramm 12 die falsch-positiven Testergebnisse der jeweiligen Urindiagnostik, unterteilt in die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher. Zudem sind die Ergebnisse des jeweiligen Trendtestes ( $p$ -Wert) hinzugefügt. Es fällt auf, dass in der jeweiligen Urindiagnostik zwischen den drei Gruppen Nichtraucher, aktuelle Raucher und ehemalige Raucher kein signifikanter Unterschied besteht, da hierfür ein  $p$ -Wert unter dem Signifikanzniveau von 0,05 vorliegen müsste.

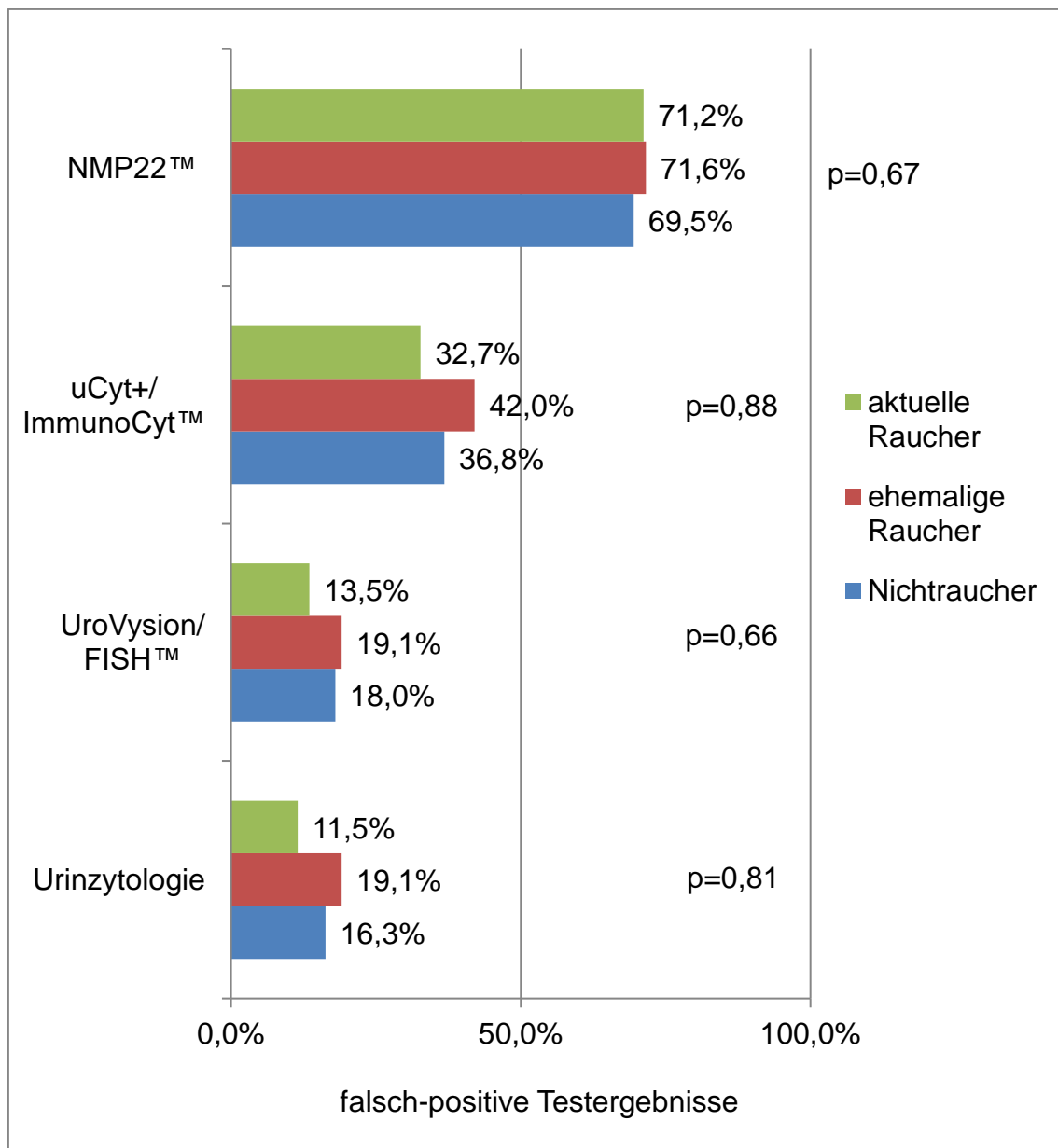


Diagramm 12 **Falsch-positive Testergebnisse der vier verschiedenen Urindiagnostiken im Vergleich der Gruppen Nichtraucher, aktuelle Raucher und ehemalige Raucher.**

### 3.4.5.2 Falsch-negative Testergebnisse

Diagramm 13 zeigt zusammenfassend die falsch-negativen Ergebnisse der drei Harnmarkertests und der Urinzytologie. Zusätzlich sind die p-Werte durch den Trendtest mit angegeben. Keiner der p-Werte liegt unter dem Signifikanzniveau von 0,05.

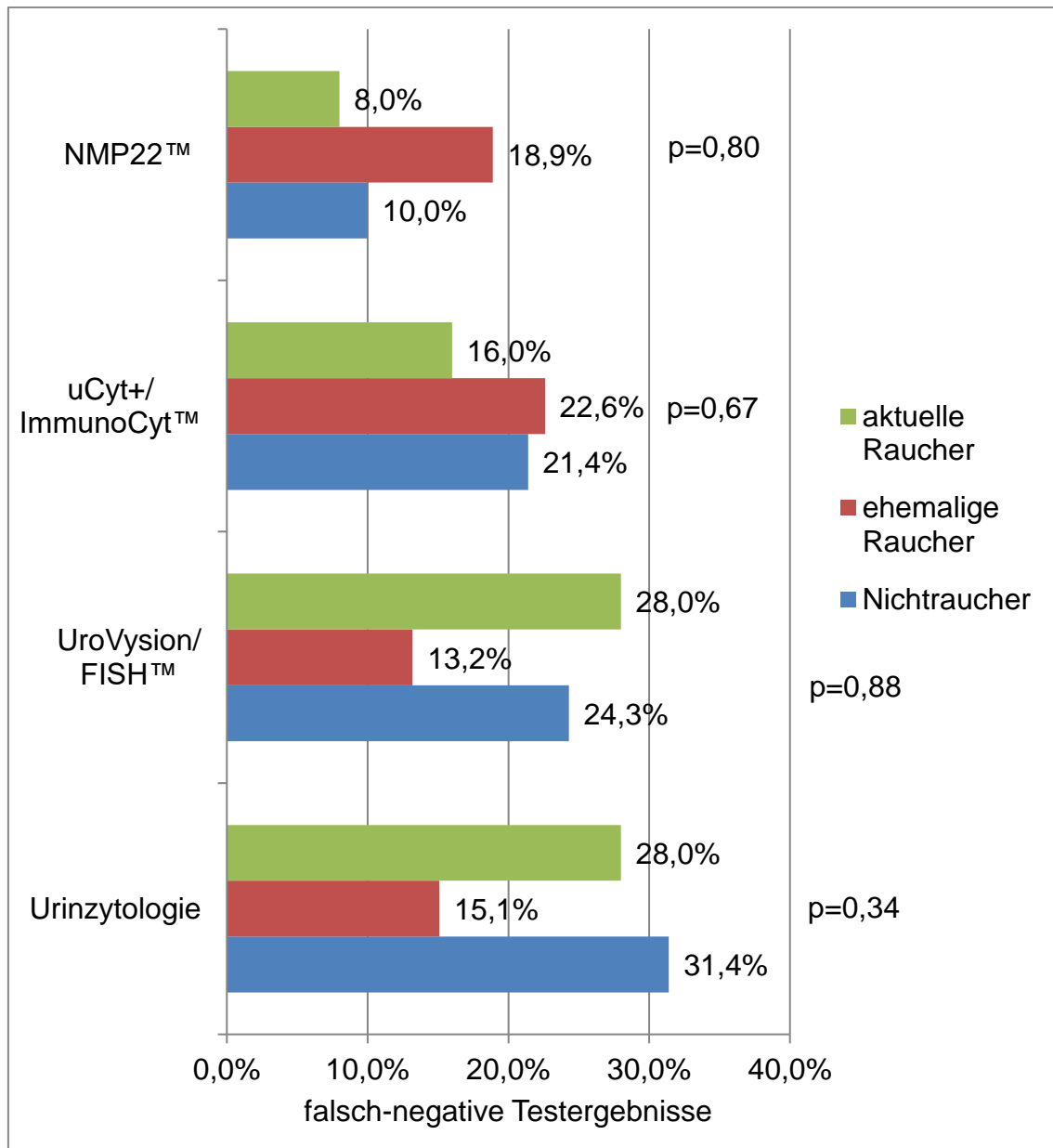


Diagramm 13 Falsch-negative Testergebnisse der vier verschiedenen Urindiagnostiken im Vergleich der Gruppen Nichtraucher, aktuelle Raucher und ehemalige Raucher.

### 3.4.5.3 Testwertigkeiten

Tabelle 16 zeigt die Testwertigkeiten Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert und negativer prädiktiver Wert der jeweiligen Urindiagnostik abhängig vom Raucherstatus. Die Ergebnisse der einzelnen Urindiagnostik im Gesamten vergleichend hatte NMP22™ mit 87,2% die größte Sensitivität. Die Urinzytologie hatte im Gesamten mit 83,3% die größte Spezifität. Der positive prädiktive Wert

war bei der Urinzytologie am höchsten. Der negative prädiktive Wert war im Gesamten bei der FISH am größten.

Tabelle 16 **Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert (PPW), negativer prädiktiver Wert (NPW) der einzelnen Urindiagnostiken unterteilt in drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher sowie Gesamt.**

Urindiagnostik	Raucherstatus	Sensitivität	Spezifität	PPW	NPW
Urinzytologie	Nicht-raucher	68,6%	83,7%	44,9%	93,2%
	ehemalige Raucher	84,9%	80,9%	59,2%	94,2%
	aktuelle Raucher	72,0%	88,5%	75,0%	86,8%
	Gesamt	75,0%	83,3%	53,6%	92,8%
UroVysion/ FISH™	Nicht-raucher	75,7%	82,0%	44,9%	94,6%
	ehemalige Raucher	86,8%	80,9%	59,7%	94,9%
	aktuelle Raucher	72,0%	86,5%	72,0%	86,5%
	Gesamt	79,1%	82,1%	53,2%	93,8%
uCyt+/ ImmunoCyt™	Nicht-raucher	78,6%	63,2%	29,3%	93,8%
	ehemalige Raucher	77,4%	58,0%	37,6%	88,7%
	aktuelle Raucher	84,0%	67,3%	55,3%	89,7%
	Gesamt	79,1%	62,1%	34,9%	92,0%
NMP22™	Nicht-raucher	90,0%	30,5%	20,1%	94,0%
	ehemalige Raucher	81,1%	28,4%	27,0%	82,1%
	aktuelle Raucher	92,0%	28,8%	38,3%	88,2%
	Gesamt	87,2%	29,7%	24,2%	90,0%

## **4. Diskussion**

### **4.1 Diskussion und Wesen der Arbeit**

Tabakrauch mit seinen verschiedenen Inhaltsstoffen induziert messbare Veränderungen im menschlichen Körper, wie z.B. beeinträchtigte Lungenvolumina und den Anstieg verschiedener Laborwerte. Dass einige dieser Inhaltsstoffe kanzerogen sind, ist bekannt. Mehrere Krebsarten können durch diese Inhaltsstoffe hervorgerufen werden, darunter auch das BC.

Zur Detektion und Kontrolle des Harnblasenkarzinoms stehen verschiedene Optionen zur Verfügung. Unter anderem die Urindiagnostik mit der Urinzytologie und mit den Harnmarkern uCyt+/ImmunoCyt™, UroVysion/FISH™ und NMP22™. Durch diese häufig eingesetzten urindiagnostischen Methoden kann ein Karzinom erkannt und der Progress der Erkrankung kontrolliert werden, sodass ein Rezidiv frühzeitig erkannt werden kann.

Tabakrauch ist der größte beeinflussbare Risikofaktor des BC. Zu welchen Veränderungen der Tabakrauch in der Harnblase führt, ist im Detail noch nicht geklärt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen Einfluss des Rauchens auf die Urindiagnostik zu untersuchen.

### **4.2 Aktuelle und ehemalige Raucher**

#### **4.2.1 Verbreitung des Rauchens**

Von 723 Patientinnen und Patienten waren 29,7% ehemalige Raucher und 10,7% aktuelle Raucher. Nach einer Studie des Robert Koch-Instituts (Lampert, von der Lippe et al. 2013), bei welcher in den Jahren 2008 bis 2011 das Rauchverhalten in Deutschland analysiert wurde, rauchten 29,0% der 18- bis 79-jährigen Erwachsenen täglich.

Der Anteil aktueller Raucher liegt in dieser Arbeit zu Grunde liegenden Kollektiv mit 10,7% unter dem aktuellen Raucheranteil von Lampert und von der Lippe et al. Außerdem liegt das Durchschnittsalter der für diese Arbeit untersuchten Patienten über dem Durchschnittsalter in der genannten Studie des Robert Koch-Instituts. Dieses höhere Durchschnittsalter könnte eine Erklärung für den geringeren Raucheranteil sei, da mit zunehmenden Alter die Aufhörbereitschaft

und auch die Aussteigerquote ansteigt (Lampert and Burger 2004). Die Bereitschaft, das Tabakrauchen aufzugeben, steigt im Alter aufgrund veränderter Lebenssituationen. Junge und Nagel zeigten, dass eine geringere Stressbelastung durch das Ausscheiden aus dem Berufsleben und der Wunsch, seine Sucht zu überwinden, Menschen ab dem mittleren Lebensalter motiviert, ihre Rauchergewohnheiten aufzugeben (Junge and Nagel 1999). Zudem treten Gesundheitsstörungen und durch den Tabak assoziierte Erkrankungen vermehrt bei älteren Patienten auf, was Auswirkungen auf die Aufhöbereitschaft hat (Lampert and Burger 2004).

Weitere Begründungen für den geringeren Raucheranteil in dieser Arbeit könnte die Zusammensetzung des Studienkollektives sein. Gesundheitsbewusste Menschen, deren BC bei Routinekontrollen entdeckt wurde, sind Teil der Datenbank. Für diese ist zu erwarten, dass sie noch nie geraucht haben oder ihren Nikotinkonsum zu Gunsten ihrer Gesundheit aufgegeben haben. Wie bereits eingangs erwähnt, können Patienten mehrfach in der Datenbank auftauchen, wenn sie zu verschiedenen Zeitpunkten die Einschlusskriterien erfüllten. Die Diagnose des BC könnte hier zum Aufhören geführt haben. Eine weitere Erklärung für den geringeren Raucheranteil in dieser Arbeit könnte der Standort der Uniklinik Tübingen in Baden-Württemberg sein. Es bestehen zwischen den Bundesländern sowohl bei Männern und Frauen Unterschiede in den Raucheranteilen (Martina Pötschke-Langer 2015). Tendenziell zeigt sich in den nördlichen Bundesländern ein höherer Raucheranteil als in den südlichen Bundesländern (Martina Pötschke-Langer 2015). So liegt zum Beispiel der männliche Anteil der Raucher in Berlin mit 35,1% über dem Anteil der Raucher in Baden-Württemberg mit 26,9% (Martina Pötschke-Langer 2015).

#### **4.2.2 Unterschiede zwischen aktuellen und ehemaligen Rauchern**

Spira et al. erforschten in ihrer Arbeit, inwieweit Tabakrauch zu Veränderungen in der Genexpression des Transkriptoms führt. Zudem wurde untersucht, ob und, wenn ja, welche Genveränderungen durch Abstinenz des Tabakrauches reversibel sind (Spira, Beane et al. 2004). Hierzu wurden während einer Bronchoskopie Zellen gewonnen und deren Transkriptom untersucht. Bei den Rauchern konnten im Vergleich zu den Nichtrauchern vermehrt mRNAs



nachgewiesen werden, welche für Proteine kodieren, die Entzündungsreaktionen regulieren. Zusätzlich konnte bei den Rauchern ein Abfall der mRNAs von Tumorsuppressorgenen nachgewiesen werden. Auch konnte in der Arbeit von Spira et al. nachgewiesen werden, dass Gene, die vor allem den Stoffwechsel und antioxidative Funktionen kontrollierten, bei Rauchern veränderte Expressionslevel aufweisen. Nach zwei Jahren Raucherentwöhnung entsprachen die mRNA-Level dieser Gene wieder dem Zustand eines Nichtrauchers. Andere Gene, speziell Tumorsuppressorgene waren selbst nach zwei Jahren Raucherabstinenz anhaltend verändert.

### **4.3 Urinmarker und durch Rauchen assoziierte Alterationen**

Aktuell kann kein Urinmarker eine durch Tabakrauch verursachte Alteration detektieren. Zudem ist nicht bekannt, ob Tabakrauch einen Einfluss auf die Urinmarker hat. Diese Studie hatte sich zum Ziel gesetzt den Einfluss von Tabakrauch auf vier durchgeführten Urinmarker zu untersuchen. Die Studie zeigte, dass Tabakrauch keinen Einfluss auf die Urinzytologie und den uCyt+/ImmunoCyt™ hat. Auch werden das NMP22™ und die UroVysion/FISH™-Untersuchung nicht durch den Tabakrauch beeinflusst.

#### **4.3.1 Urinzytologie**

Yafi et. al konnten in ihrer Arbeit für die Urinzytologie im Gesamten eine Sensitivität von 48,0%, bei HG-Tumoren von 84,0% und bei LG Tumoren von 16,0% aufzeigen. (Yafi, Brimo et al. 2015). Die Sensitivität der Urinzytologie lag in dieser Arbeit im Gesamten bei 75,0% und in der Subgruppe der ehemaligen Raucher bei 84,9%.

Yafi et. al bewerteten in ihrer Arbeit die Leistungsfähigkeit nicht invasiver Tests, die zur Detektion und Überwachung eines BC eingesetzt werden. Einschlusskriterium des Studienkollektives von Yafi et al. war das Vorliegen eines histologisch gesicherten BC oder der sich durch eine vorliegende Hämaturie ergebende Verdacht auf ein BC. Dies entspricht den Einschlusskriterien dieser Arbeit, sodass sich die unterschiedlichen Ergebnisse der Sensitivität vergleichen lassen.

In dieser Arbeit hatten 20,5% ein gesichertes BC, in der Yafi et al.-Arbeit waren es 76,0%. In beiden Arbeiten wurde das Auswerten der Urinzytologie durch erfahrene Pathologen durchgeführt. Für HG Tumore ist eine höhere Sensitivität bekannt (Koss, Deitch et al. 1985), sodass eine Begründung für die höhere Sensitivität der Urinzytologie in dieser Arbeit das Vorliegen eines höheren Anteils an HG Tumoren sein könnte. Der Anteil der HG Tumore ist jedoch in beiden Arbeiten gleich (27,0%).

Die Sensitivität der Urinzytologie von den ehemaligen Rauchern lag in dieser Arbeit bei 84,9%. Dies könnte am hohen Anteil der G3 Tumore (33,9%), im Vergleich zu dem Anteil an G3 Tumoren der aktuellen Raucher (20,0%) und der Nichtraucher (24,3%) liegen. Der Anteil der Raucher ist bei Yafi et al. (89,0%) größer als in der vorliegenden Arbeit (40,4%). Mowatt et al. haben in einer Metaanalyse über 71 Studien die Sensitivität der Urinzytologie verglichen. Die Ergebnisse lagen zwischen 38,0% und 51,0% (Mowatt, Zhu et al. 2010).

Wodurch die in dieser Arbeit im Vergleich zu den Studien von Yafi et al. und Mowatt et al. höhere Sensitivität resultiert, lässt sich nicht eindeutig klären. Eventuell vorliegende Unterschiede im Färbeprotokoll oder in der Durchführung der Färbung (manuelle Färbung gegenüber Färbeautomaten), konnten nicht eindeutig aufgezeigt werden.

Die Spezifität der Urinzytologie liegt nach Kehinde, Al-Mulla et al. bei 95,0% (Kehinde, Al-Mulla et al. 2011), in dieser Arbeit lag sie bei 83,0%.

Blessing et al. konnten in einer deskriptiven Studie zeigen, dass Tabakrauchen das Risiko, ein BC zu entwickeln, erhöht. Hierzu wurde bei 250 Probanden, davon 200 Raucher und 50 Nichtraucher, eine Urinzytologie durchgeführt. Die Studie wurde in Nigeria durchgeführt. Die Urinzytologie der Rauchergruppe zeigte im Vergleich zu den Nichtrauchern folgende mikroskopische Veränderungen: Vergrößerung der Zellkern-Zytoplasma-Relation, Nekrosen, dysplastische Zellveränderungen, Auftreten großer Infiltrate durch inflammatorische Zellen, Hyperchromasie, Pleomorphismus und neoplastische Veränderungen (Blessing, Ikechi et al. 2016). Alle diese Effekte sind Hinweise auf das Vorliegen eines BC. Da der Urin von Tabakrauchern vermehrte Veränderungen zeigt, ergab sich die Hypothese, dass Rauchen einen Einfluss

auf das Ergebnis der Urinzytologie hat, sodass postuliert wurde, dass die falsch-positive-Rate bei aktuellen und ehemaligen Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern erhöht sein könnte. In dieser Arbeit konnte diese Hypothese nicht bestätigt werden. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied der falsch-positiven-Rate zwischen den aktuellen und ehemaligen Rauchern und den Nichtrauchern.

Das Nichtbestätigen dieser Hypothese könnte sich aus den Unterschieden der Studienkollektive erklären, die durch die unterschiedlichen Einschlusskriterien für die Probanden der beiden Arbeiten entstanden. Außerdem könnten sich verschiedene Faktoren, die Einfluss auf die Ergebnisse der Urinzytologie für die BC-Diagnostik haben könnten, bei den Probanden der beiden Arbeiten unterscheiden. So kann z.B. nicht nachvollzogen werden, ob die untersuchten Probandengruppen der beiden Arbeiten bei ihrer ethnischen Zugehörigkeit, ihrem Alter, ihrem Sozialstatus und einem beruflich bedingten Kontakt zu BC verursachten Noxen eine ähnliche Zusammensetzung hatten.

In dieser Arbeit konnte auf die Quantität des Zigarettenkonsums in Form von Anzahl der Jahre des Rauchens nicht im Detail eingegangen werden. Bei Blessing et al. wurden nur Patienten mit mindestens 5-jährigem Tabakkonsum eingeschlossen, sodass die Schadstoffe des Tabakkonsums in dieser Studie höher konzentriert im Blut vorgelegen haben könnten. Hingegen beträgt das Durchschnittsalter in dieser Arbeit 67 Jahre, sodass in diesem Alter davon auszugehen ist, dass der Tabakkonsum über einen längeren Zeitraum als 5 Jahre bestand. Es ist nicht eruierbar, welche Art von Zigaretten die Probanden von Blessing et al. geraucht haben.

#### **4.3.2 UroVysion/FISH™**

In der als Urinmarker verwendeten UroVysion/FISH™ werden die Aneuploidien der Chromosomen 3, 7, 17 und der Verlust des Locus 9p21 sichtbar gemacht (Sokolova, Halling et al. 2000). In der Literatur wird eine Sensitivität von 69-84% und eine Spezifität von 84-91% beschrieben (Sokolova, Halling et al. 2000, Zeng and Zhou 2010). In dieser Arbeit wurden ähnliche Ergebnisse für die Sensitivität (79,1% im Gesamten) und die Spezifität (82,1% im Gesamten) aufgezeigt.

In der vorliegenden Arbeit konnte bei den Ergebnissen der UroVysion/FISH™ kein signifikanter Unterschied bzgl. der drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige- und aktuelle Raucher festgestellt werden. Dies steht im Kontrast zu anderen Arbeiten, in denen signifikant unterschiedliche Aneuploidie-Raten für diese Gruppen detektiert wurden. So zeigten Mao et al. in ihrer Arbeit, dass chronisches Rauchen zu genetischen Veränderungen auf verschiedenen für Tumorsuppressorgene kodierenden chromosomalen Abschnitten bei Lungenkrebszellen führt (Mao, Lee et al. 1997). Auch in der Arbeit von Zhang et al. konnte ein Zusammenhang zwischen Rauchen und chromosomalen Veränderungen, speziell auf Chromosom 9, aufgezeigt werden (Zhang, Shu et al. 1997). Die Arbeit von Souto et al. konnte beweisen, dass Tabakkonsum Auswirkungen auf die Chromosomen in Form von Aneuploidien hat (Souto, Caliarì et al. 2010). Einzelne Chromosomen fehlen oder sind vervielfacht. Hierzu wurden orale Abstriche entnommen und auf Veränderungen wie Leukoplakie oder Plattenepithelkarzinom untersucht. Die folgenden Subgruppen wurden untersucht: Nichtraucher ohne eine orale Veränderung, Raucher ohne orale Veränderungen, Raucher mit einer Leukoplakie und Raucher mit Vorliegen eines oralen Plattenepithelkarzinoms. Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern aufgezeigt werden. Einen höheren Anteil an Aneuploidien hatten Raucher (79,7%) im Vergleich zu Nichtrauchern (39,3%). Kein Zusammenhang konnte zwischen der Dauer des Tabakkonsums und einer daraus eventuell folgenden höheren Anzahl an Aneuploidien gezeigt werden. Sowohl die Hypothese, dass durch den direkten oralen Kontakt mit dem Tabakrauch vermehrt Aneuploidien entstehen könnten, als durch den indirekten Kontakt mittels dem Urin in der Harnblase, als auch die Hypothese, dass die karzinogenen Stoffe des Tabakrauches durch den Körper soweit verstoffwechselt werden, dass deren Wirkung auf die Harnblase in Form von Aneuploidien nicht nachweisbar ist, können anhand der Arbeit von Pereira et al. widerlegt werden. Hier konnte gezeigt werden, dass Rauchen in Spermien chromosomale Aberrationen hervorrufen kann. Diesen beiden Hypothesen entgegensetzen ist, dass Pereira et al. in ihrer Arbeit herausfanden, dass Rauchen chromosomale Veränderungen der

Spermien verursacht (Pereira, Juchniuk de Vozi et al. 2014). Somit haben die Inhaltsstoffe des Rauchens Einfluss auf Chromosomen, auch wenn sie in den Körper aufgenommen wurden. Pereira et al. konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass Raucher in der Spermiogenese im Vergleich zu Nichtrauchern strukturelle Veränderungen des Chromosoms 3 hatten.

#### **4.3.3 uCyt+/ImmunoCyt™**

Durch die Fluoreszenzmikroskopie werden die Antigene CEA und Mucin-Glycoprotein sichtbar gemacht, welche gehäuft in malignen Urothelzellen vorkommen. Die gefärbten Zellen werden mikroskopisch gezählt und ausgewertet.

In der Arbeit von Comploj et al. konnte für den uCyt+/ImmunoCyt™ eine Sensitivität von 68,1% und eine Spezifität von 72,3% aufgezeigt werden. Die Sensitivität des uCyt+/ImmunoCyt™ war in der vorliegenden Arbeit mit 79,1% höher, die Spezifität mit 62,1% geringer.

Allard et al. beschreiben in ihrer Arbeit, dass in T2 Tumoren das Antigen CEA nicht erhöht ist und daher die Sensitivität bei T2 Tumoren geringer ausfällt (Allard, Fradet et al. 1995). Daraus ergibt sich die Hypothese, dass bei einem Studienkollektiv mit einer höheren Anzahl an T2 Tumoren, die Gesamtsensitivität für uCyt+/ImmunoCyt™ geringer ausfallen müsste. In der vorliegenden Arbeit lag der T2 Tumoranteil bei 15,5%, in der Comploj et al. bei 5,6%. Trotzdem ist die Sensitivität in dieser Arbeit höher als in der Comploj et al.

Zusätzlich könnte die geringere Sensitivität von Comploj et al. durch das unterschiedliche Studienkollektiv bedingt sein. Vermutlich war bei Comploj et al. die Anzahl von Patienten, welche sich in Nachbehandlung befanden, höher als in der vorliegenden Arbeit. Da die Sensitivität sich aus dem Anteil der Patienten, bei denen das Testergebnis richtigerweise positiv war, im Verhältnis zur Zahl aller Erkrankten ergibt. Die sich in Nachbehandlung befindenden Patienten zählen weiter zu den Erkrankten. Aufgrund der therapeutischen Maßnahme in der Nachbehandlung, wie zum Beispiel des Einsatzes von Zytostatika, ist die Zahl der malignen Zellen reduziert (Cooper 1991), sodass die Zahl der uCyt+/ImmunoCyt™-positiven Ergebnisse und somit auch die Sensitivität sinkt.

Die Spezifität wird in der Literatur zwischen 31% (Vergara-Lluri, Hu et al. 2014) und 62% (Tetu, Tiguert et al. 2005) beschrieben. In dieser Arbeit lag die Spezifität bei 62,1%.

Sajid et al. konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass CEA im Blut von Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern erhöht ist (Sajid, Chaouachi et al. 2008). Für das Studienkollektiv wurden Pakistani rekrutiert, welche Tabakrauch durch Rauchen einer Wasserpfeife konsumierten. Das Rauchverhalten wurde anhand der Intensität des Rauchens in drei Gruppen unterteilt: schwache, mittlere und starke Raucher. Nur in der Gruppe der starken Raucher zeigte sich ein signifikanter Unterschied bzgl. des CEA-Anstieges. In der vorliegenden Arbeit konnte kein Einfluss des Rauchens auf das Ergebnis des uCyt+/ImmunoCyt™ bewiesen werden.

Signifikante Unterschiede im Ergebnis des uCyt+/ImmunoCyt™ konnten in der Sajid et al.-Arbeit nur in der Gruppe der starken Raucher festgestellt werden. Die Gruppe der starken Raucher ist definiert durch das Rauchen einer Wasserpfeife von insgesamt zwei bis sechs Stunden täglich oder 3-8 Sitzungen am Tag. In der vorliegenden Arbeit konnte das Rauchverhalten nur in die drei Gruppen Nichtraucher, aktuelle und ehemalige Raucher unterteilt werden. Zusätzliche Informationen, wie die quantitative Angabe des Konsums, fehlen. So könnte es sein, dass in der vorliegenden Arbeit kein signifikanter Unterschied detektiert wurde, da der Konsum des Tabakrauchens in der Gruppe der Raucher zu gering war. Ein weiterer Grund könnte die unterschiedliche Zusammensetzung der Studienkollektive sein. Es ist davon auszugehen, dass bei den von Sajid et al. rekrutierten pakistanischen Probanden andere Polymorphismen gehäuft vorkamen, als bei der vorzugsweise kaukasischen Population, die dieser Arbeit zugrunde lag. Des Weiteren lässt sich das Rauchverhalten dieser beiden Gruppen nicht vergleichen. Zusätzlich könnte die schädliche Zusammensetzung, insbesondere die karzinogenen Substanzen des in Pakistan für die Wasserpfeifen verwendeten Tabaks, erhöht sein. Als Folge entstünden vermehrt maligne Veränderungen in den Urothelzellen, welche ein erhöhtes CEA bedingen, welches dann mit der uCyt+/ImmunoCyt™-Methode nachgewiesen werden würde.

#### 4.3.4 NMP22™

Der NMP22™-Test ist ein Enzym-Immunoassay, mit dem das NMP22 Protein im Urin nachgewiesen wird.

Grossman et al. prüften in ihrer Arbeit, ob die NMP22-Bestimmung die Detektion des BC bei Risikopatienten verbessern kann. Zu den Risikopatienten zählten Patienten mit Risikofaktoren, wie Rauchen, oder dem Vorliegen einer Hämaturie oder Dysurie. Die von den 1331 Patienten gewonnenen Urinproben wurden mittels Urinzytologie und einem NMP22™-Immunoassay untersucht. Dabei ergab sich eine Sensitivität von 55,7% und eine Spezifität von 85,7% (Grossman, Messing et al. 2005).

In der vorliegenden Arbeit konnte eine Sensitivität von 87,2% aufgezeigt werden. Dieser Wert ist im Vergleich zur Arbeit von Grossman et al. deutlich erhöht. Die größte Sensitivität lag mit 92,0% in der Subgruppe der aktuellen Raucher. Die vorliegende Arbeit lässt sich gut mit der Arbeit von Grossman et al. vergleichen. Die Einschlusskriterien der beiden Arbeiten waren teils identisch: das Vorliegen einer Hämaturie und eine zur Diagnosesicherung durchgeführte Zystoskopie mit anschließender Histologie. Die höhere Sensitivität könnte aufgrund der unterschiedlichen Patientenkollektive zustande kommen. Das Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit schloss im Gegensatz zur Arbeit von Grossmann et al. Patienten mit einem bereits diagnostizierten BC ein. Zudem wurden für einige Personen zu unterschiedlichen Zeitpunkten Harnmarkerbestimmungen durchgeführt und diese Datensets in das Kollektiv eingeschlossen. Dies war in der Regel für Personen der Fall, welche an einem BC erkrankt waren. Dadurch erhöht sich die Anzahl der richtig positiv getesteten, der Erkrankten, sodass die Sensitivität ansteigt. Dies bestätigt auch die unterschiedliche Anzahl an Patienten mit Nachweis eines BC: In der Studie von Grossman et al. wurde bei 6,0% des Patientenkollektives ein BC festgestellt, in der vorliegenden Arbeit bei 20,5%. Die in dieser Arbeit mit 29,7% gemessene Spezifität liegt unter dem Ergebnis der Grossman et al. Arbeit (85,7%). Die Anzahl der falsch-positiv-Raten ist in dieser Arbeit sehr hoch, für mehr als 2/3 der Gesunden lag eine vor, sodass die Spezifität niedrig ausfällt. Auch könnte der unterschiedliche Altersdurchschnitt der Patientenkollektive der beiden Arbeiten eine Begründung sein. Mit 67 Jahren

liegt das Durchschnittsalter in der vorliegenden Arbeit über dem der Grossmann et al. Arbeit (58,7 Jahre). Eventuell tritt mit dem Alter vermehrt Apoptose auf, sodass die Ergebnisse der Tests positiv ausfallen, obwohl kein BC vorliegt. Im Alter entsteht vermehrt oxidativer Stress (Stadtman 2006). Dieser führt über Schädigung der mitochondrialen Membran zur einer Verschiebung des Gleichgewichts zwischen pro- und antiapoptotischen Faktoren, sodass die Apoptose eingeleitet wird (Rensing and Rippe 2014). Somit ist durch das vermehrte Auftreten der Apoptose die falsch-positive-Rate erhöht und die Spezifität erniedrigt.

Lotan et. al untersuchten in ihrer Arbeit den Einfluss von diversen klinischen Faktoren auf die Aussagekraft des NMP22™-Testes. Zu den klinischen Faktoren zählten Alter, Geschlecht, Hämaturie und Raucherstatus. Rauchen war mit einem Anstieg des PPV verbunden. Das Ergebnis des PPV bei männlichen Rauchern lag bei 35,4% (Lotan and Shariat 2008). In der vorliegenden Arbeit lag der PPV für den NMP22™-Test bei Nichtrauchern bei 20,1%, bei Rauchern bei 38,3%. Der PPV des NMP22™-Testes ähnelt dem der Lotan et. al Arbeit. Der PPV berechnet sich aus dem Verhältnis von richtig getesteten Erkrankten zu allen Patienten mit positivem Testergebnis. Je höher die Prävalenz der Erkrankung, desto eher resultieren richtig positive Ergebnisse, sodass der PPV ansteigt. Da die Prävalenz der Erkrankten bei Rauchern am höchsten ist, entspricht ein hoher PPV diesen Erwartungen.

Imirzalioglu et al. konnten in den Speichelproben zeigen, dass NMP22 als Marker für die Apoptose der Epithelzellen dienen kann (Imirzalioglu, Uckan et al. 2005). Sie zeigten in ihrer Arbeit einen statistischen Unterschied in den Ergebnissen des NMP22™ Testes zwischen Rauchern und Nichtrauchern. Rauchen beeinflusst die Ergebnisse des NMP22™ Testes, sodass es vermehrt positive Testergebnisse gibt. Man detektiert mit einer erhöhten NMP22 Konzentration nicht den Tumor, sondern die Apoptose, welche durch den Kontakt mit Tabak erhöht vorlag. Aus der Imirzalioglu et al. Arbeit entsteht die Annahme, dass die NMP22 Exkretion bei Rauchern auch zu einem Anstieg der NMP22 Konzentration im Urin führen könnte. Dieser würde sich dann in einem Anstieg der falsch-positiven-Rate beim NMP22™ Test widerspiegeln. In der vorliegenden



Arbeit konnte diese Vermutung nicht bestätigt werden. Es konnte kein signifikanter Unterschied der falsch-positiven-Raten in den einzelnen Subgruppen aufgezeigt werden.

#### **4.4 Limitationen der vorliegenden Arbeit**

Die Arbeit ist ein Teil eines Verbundprojektes der Urologischen Klinik Tübingens. Zu Beginn der Arbeit wurde anhand der Ein- und Ausschlusskriterien die bereits durch das Verbundprojekt entstandene Datenbank gefiltert. Diese Datenbank wurde von Doktoranden der Urologischen Klinik Tübingen manuell anhand des Zytologiebuches generiert.

Jede Art von manueller Datenerhebung kann zu falsch erfassten Daten führen. So wurde der Raucherstatus anhand von Anästhesieprotokollen und Anamnesebögen im O-Care System eruiert. Tippfehler oder Dokumentationsfehler könnten so zum falschen Raucherstatus geführt haben.

Sowohl die Fremderhebung als auch die Eigenerhebung der Daten wurde manuell durchgeführt, sodass sich hierdurch potentielle Fehlerquellen ergeben. Zum Beispiel könnte das Geburtsdatum falsch abgeschrieben, das Urinzytologieergebnis oder die Histologie falsch übertragen worden sein. Summieren sich diese Fehler, könnten durch veränderte statistische Werte die Ergebnisse falsch interpretiert worden sein. Übertragungsfehler könnten sich bereits bei der Erhebung der Harnmarker, der Urinzytologie und des Urinstatus durch die MTAs ergeben haben. Je häufiger Daten übertragen werden müssen, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein Übertragungsfehler auftreten kann.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Datenanalyse, d.h. es wurde auf bereits erhobene klinische Daten zurückgegriffen. Dies hatte zur Folge, dass durch fehlende Parameter, wie beispielsweise der aktuelle Raucherstatus, eine hohe Anzahl an Patienten aus dem Kollektiv ausgeschlossen wurde. Genauere Informationen bzgl. des Rauchens, wie zum Beispiel die Quantität in pack years oder der Zeitraum der Abstinenz, konnten aufgrund der retrospektiven Verwendung der Daten für die Arbeit nicht beachtet werden. Es wurde die Unterteilung in aktuelle, ehemalige und Nichtraucher

vorgenommen, um einen eventuellen Unterschied im Einfluss des Rauchens auf die Urindiagnostik aufzuzeigen.

Eventuell zeigen sich ab einer bestimmten Quantität des Rauchens Auswirkungen auf die Urinmarker. So könnte das Testergebnis der Harnmarker und der Urinzytologie bei aktuellen Rauchern ab einem bestimmten Schwellenwert öfters falsch-positiv ausfallen, da die Noxen des Tabakrauches aktuell im Blut vorliegen und im Urin in höherer Konzentration ausgeschieden werden. Die erhöhte Konzentration der Noxen oder derer Metaboliten im Urin könnte somit einen positiven Test verursachen. Zur Beurteilung dieser Hypothese wäre die zusätzliche Information über die Quantität des Rauchens interessant gewesen.

Unter Umständen waren die einzelnen Gruppen in ihren Eigenschaften zu inhomogen. Mit der Erwartung, dass aktuelles Rauchen einen stärkeren Einfluss auf die Urindiagnostik hat, als ehemaliges Rauchen, wurde das Kollektiv in die drei Gruppen, Nichtraucher, ehemalige und aktuelle Raucher unterteilt. Aktuelles Rauchen kann sich in seiner Quantität deutlich unterscheiden, sodass sich zum Beispiel in dem Subkollektiv aktuelle Raucher Patienten mit täglichem Nikotinkonsum von 1-2 Päckchen und Patienten mit wöchentlichem Nikotinkonsum von 1-2 Zigaretten befanden. Dies hat zur Folge, dass die kanzerogenen Stoffe in dem gemeinsamen Subkollektiv in unterschiedlichen Konzentrationen anfallen. So könnte es sein, dass ab einer gewissen Quantität von Nikotinkonsum zum Beispiel ab 2 Päckchen täglich Veränderungen in der Urindiagnostik detektiert werden könnten. Zudem war das Altersspektrum in dieser Arbeit groß (vom 31. bis zum 90. Lebensjahr). Dies könnte auch eine Auswirkung auf die Quantität des Rauchens haben. Mit zunehmendem Alter steigt der Anteil der täglichen Raucher (Piontek, Atzendorf et al. 2016), sodass bei einer Gruppe von nur 70-80-jährigen eventuell ein Einfluss des Rauchens auf die Urindiagnostik detektiert worden wäre. Die verschiedenen Tumorstadien führen auch zu inhomogenen Subgruppen.

Insgesamt ist zu sagen, dass es sehr schwierig ist, solch homogene Gruppen zusammenzustellen. In einer prospektiven Studie könnten einige dieser Limitationen besser in den Griff bekommen werden. Grundsätzlich ist Rauchen

ein Risikofaktor für die Entstehung eines BC, folglich sollte die Detektionsrate von Tumoren in der Rauchergruppe am größten sein. Idealerweise könnte man prospektiv bei mutmaßlich gesunden Rauchern die Tests in großer Zahl durchführen.

#### **4.5 Schlussfolgerungen**

In der vorliegenden Arbeit konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der falsch-positiven und der falsch-negativen Testergebnisse bei den verschiedenen Urinmarkern Urinzytologie, NMP22™, uCyt+/ImmunoCyt™ und UroVysion/FISH™ in den Subgruppen der Nichtraucher, der ehemaligen und der aktuellen Raucher aufgezeigt werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit bekräftigen, dass Tabakrauch keinen Einfluss auf die Ergebnisse der Urindiagnostik hat. Zur Interpretation der Testergebnisse muss der Raucherstatus nicht berücksichtigt werden. Er sollte jedoch als klinischer Parameter weiterhin mit einbezogen werden.

## 5. Zusammenfassung

Risikofaktor Nummer eins für die Entwicklung eines BC stellt das Konsumieren von Tabakrauch da. Dessen kanzerogene Wirkung auf die Urothelzellen und deren DNA ist in diversen Studien belegt.

In der Diagnostik und Rezidiv-Kontrolle des BC kommen neben der Urinzytologie u.a. die Harnmarker UroVysion/FISH™, uCyt+/ImmunoCyt™ und NMP22™ zum Einsatz. Da die Störanfälligkeit dieser Methoden bekannt ist, stellt sich die Frage, ob Tabakrauch auch einen Einfluss auf die Ergebnisse dieser Methoden der Urindiagnostik hat.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, diese Frage zu beantworten. Hierzu wurde ein Kollektiv von 723 Patienten zusammengestellt, welche im Zeitraum von September 2006 bis Dezember 2012 in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen eine BC-Diagnostik durchführen ließen. Zusätzlich erfüllten diese Patienten vorab festgelegte Ein- und Ausschlusskriterien. Es erfolgte eine rein retrospektive Analyse der relevanten klinischen Daten dieses Patientenkollektivs. Für die vier genannten Urintests (Urinzytologie, UroVysion/FISH™, uCyt+/ImmunoCyt™, NMP22™) wurden jeweils Kontingenztabellen erstellt und anhand der Vierfeldertafel wurden die Ergebnisse für Sensitivität, Spezifität, PPW und NPW errechnet, sowie falsch-positive- und falsch-negativ-Raten ermittelt. Mithilfe von Trendtests wurde geprüft, ob die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und Raucher statistisch signifikante Unterschiede bei den falsch-positiv bzw. falsch-negativ-Raten bei den einzelnen Methoden aufwiesen.

Dabei zeigte sich, dass bei keiner der untersuchten Methoden statistisch signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen mit unterschiedlichem Raucherverhalten detektiert werden konnten, sodass davon ausgegangen werden kann, dass das Rauchverhalten keinen Einfluss auf die Qualität der Urinzytologie-, der uCyt+/ImmunoCyt™-, der NMP22™- oder der UroVysion/FISH™-Methode hat.

**6. Abkürzungsverzeichnis**

AUG	Ausscheidungsurographie
BC	Harnblasenkarzinom
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
CEA	Carcinoembryonales Antigen
CIS	Carcinoma in situ
CRP	C reaktive Protein
CT	Computertomographie
CYP1A2	Cytochrom P450 1A2
DEGS	Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
HG-Tumoren	high grade Tumoren
HNP	human neutrophil protein
HNPCC	hereditäres non polypöses kolorektales Karzinom
HR	high-risk
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
IL-6	Interleukin-6
IR	intermediate-risk
I-SH	Industry Solution Healthcare
ISUP	International Society of Urologic Pathologists
L	Lymphgefäße
LG-Tumoren	low grade Tumoren
LOH	loss of heterozygosity
LR	low-risk
M	Metastasen
MDA	Malondialdehyd
MIBC	muskelinvasive Blasenkarzinome
miRNA	Micro-RNA

MPO	Myeloperoxidase
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
N	Nodus
NAC	neoadjuvante Chemotherapie
NBI	narrow band imaging
nm	nanometer
NMIBC	nicht-muskelinvasiven Blasenkarzinome
NMP22	Nukleäres Matrix Protein 22
NPW	negativer prädiktiver Wert
p	pathologisch
PBS	Phosphate-Buffered-Saline
PCR	Polymerasekettenreaktion
PDD	Photodynamische Diagnostik
PPW	positiver prädiktiver Wert
PUNLMP	papilläre urotheliale Neoplasien niedrigen malignen Potentials
Rb-Protein	Retinoblastom-Protein
T	Tumor
Ta	nicht-invasive papilläre Karzinome
TAM	tumorassoziierte Makrophagen
TGF $\beta$	transforming growth factor $\beta$
TNF	Tumornekrosefaktor
TNM	Tumor Nodus Metastasen
TRAIL	tumour necrosis factor-related apoptosis-including ligand
TReg	regulatorische T-Zellen
TUR-B	transurethrale Resektion der Blase
UICC	Union internationale Contre le Cancer
V	Veneninvasion
vEGF	vascular endothelial growth factor
VEGF	Vascular-Epithelial-Growth-Factor
WHO	World Health Organization
WLI	white-light imaging

## 7. Literaturverzeichnis

- Abol-Enein, H. (2008). "Infection: is it a cause of bladder cancer?" Scand J Urol Nephrol Suppl(218): 79-84.
- Allard, P., Y. Fradet, B. Têtu and P. Bernard (1995). "Tumor-associated antigens as prognostic factors for recurrence in 382 patients with primary transitional cell carcinoma of the bladder." Clinical Cancer Research **1**(10): 1195-1202.
- Alvanja, M., H. Bartsch, H. Allen and R. A. Bhisey (2012). "A review of human carcinogens. Part E: Personal habits and indoor combustions." **100 E**: 90.
- Antoni, S., J. Ferlay, I. Soerjomataram, A. Znaor, A. Jemal and F. Bray (2017). "Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends." Eur Urol **71**(1): 96-108.
- Bakhru, A. and T. P. Erlinger (2005). "Smoking cessation and cardiovascular disease risk factors: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey." PLoS Med **2**(6): e160.
- Bedemann, K.-H., M. Beth-Hübner, B. Brand, T. Brock, H. Erhard and R. Holtstraeter (2009). Aromatische Amine: Eine Arbeitshilfe in Berufskrankheiten-Feststellungsverfahren. Berlin, Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung e.V.(DGUV).
- Bermudez, E. A., N. Rifai, J. Buring, J. E. Manson and P. M. Ridker (2002). "Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women." Arterioscler Thromb Vasc Biol **22**(10): 1668-1673.
- Blessing, A., E. Ikechi and F. Ayobami (2016). "Cytology Analysis of Urine among Cigarette Smokers " American Journal of Biomedical Sciences 56-67.
- Brausi, M., J. A. Witjes, D. Lamm, R. Persad, J. Palou, M. Colombel, R. Buckley, M. Soloway, H. Akaza and A. Bohle (2011). "A review of current guidelines and best practice recommendations for the management of nonmuscle invasive bladder cancer by the International Bladder Cancer Group." J Urol **186**(6): 2158-2167.
- Brimo, F., C. Wu, N. Zeizafoun, S. Tanguay, A. Aprikian, J. J. Mansure and W. Kassouf (2013). "Prognostic factors in T1 bladder urothelial carcinoma: the value of recording millimetric depth of invasion, diameter of invasive carcinoma, and muscularis mucosa invasion." Hum Pathol **44**(1): 95-102.
- Busch, Y., F. vom Dorp, M. Schenck, R. Rossi, J. Witschier and H. Rübber (2007). "Effect of disturbing factors on the specificity of exfoliative urinary cytology." Der Urologe **46**(9): 1141-1144.
- Chatterjee, S. J., R. Datar, D. Youssefzadeh, B. George, P. J. Goebell, J. P. Stein, L. Young, S. R. Shi, C. Gee, S. Groshen, D. G. Skinner and R. J. Cote (2004). "Combined effects of p53, p21, and pRb expression in the progression of bladder transitional cell carcinoma." J Clin Oncol **22**(6): 1007-1013.
- Chen, M. F., P. Y. Lin, C. F. Wu, W. C. Chen and C. T. Wu (2013). "IL-6 expression regulates tumorigenicity and correlates with prognosis in bladder cancer." PLoS One **8**(4): e61901.
- Compoj, E., C. Mian, A. Ambrosini-Spaltro, C. Dechet, S. Palermo, E. Trenti, M. Lodde, W. Horninger and A. Pycha (2013). "uCyt+/ImmunoCyt and cytology in the detection of urothelial carcinoma: an update on 7422 analyses." Cancer Cytopathol **121**(7): 392-397.

- Cooper, M. J., J. J. Haluschak, D. Johnson, S. Schwartz, L. J. Morrison, M. Lipka, G. Hatzivassiliou and J. Tan (1994). "p53 mutations in bladder carcinoma cell lines." Oncol Res **6**(12): 569-579.
- Cooper, M. R. (1991). Principles of Medical Oncology. Atlanta: Library of Congress Cataloging.
- Denoix, P. F. (1944). Nomenclature des cancer Paris.
- Dimashkieh, H., D. J. Wolff, T. M. Smith, P. M. Houser, P. J. Nietert and J. Yang (2013). "Evaluation of urovison and cytology for bladder cancer detection: a study of 1835 paired urine samples with clinical and histologic correlation." Cancer Cytopathol **121**(10): 591-597.
- Dong, F., T. Xu, Y. Shen, S. Zhong, S. Chen, Q. Ding and Z. Shen (2017). "Dysregulation of miRNAs in bladder cancer: altered expression with aberrant biogenesis procedure." Oncotarget **8**(16): 27547-27568.
- Freedman, N. D., D. T. Silverman, A. R. Hollenbeck, A. Schatzkin and C. C. Abnet (2011). "Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women." Jama **306**(7): 737-745.
- Garcia Castro, M., E. Fernandez Fernandez, M. C. Martin Corriente, S. Garcia Hernandez and C. H. Alvarez-Arguelles (2008). "[Usefulness of urine cytology for bladder carcinoma diagnosis: comparative study with biopsy]." Actas Urol Esp **32**(9): 904-907.
- Gawel, S., M. Wardas, E. Niedworok and P. Wardas (2004). "[Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker]." Wiad Lek **57**(9-10): 453-455.
- Goebell, P. J., A. M. Kamat, R. J. Sylvester, P. Black, M. Droller, G. Godoy, M. A. Hudson, K. Junker, W. Kassouf, M. A. Knowles, W. A. Schulz, R. Seiler and B. J. Schmitz-Drager (2014). "Assessing the quality of studies on the diagnostic accuracy of tumor markers." Urol Oncol **32**(7): 1051-1060.
- Grossman, H. B., E. Messing, M. Soloway, K. Tomera, G. Katz, Y. Berger and Y. Shen (2005). "Detection of bladder cancer using a point-of-care proteomic assay." Jama **293**(7): 810-816.
- Gunes, M., I. Gecit, N. Pirincci, A. S. Kemik, S. Purisa, K. Ceylan and M. Aslan (2013). "Plasma human neutrophil proteins-1, -2, and -3 levels in patients with bladder cancer." J Cancer Res Clin Oncol **139**(2): 195-199.
- Han, R. F. and J. G. Pan (2006). "Can intravesical bacillus Calmette-Guerin reduce recurrence in patients with superficial bladder cancer? A meta-analysis of randomized trials." Urology **67**(6): 1216-1223.
- Hernandez-Boussard, T. M. and P. Hainaut (1998). "A specific spectrum of p53 mutations in lung cancer from smokers: review of mutations compiled in the IARC p53 database." Environ Health Perspect **106**(7): 385-391.
- Hollstein, M., D. Sidransky, B. Vogelstein and C. C. Harris (1991). "p53 mutations in human cancers." Science **253**(5015): 49-53.
- Horstmann, M., T. Todenhofer, J. Hennenlotter, S. Aufderklamm, J. Mischinger, U. Kuehs, G. Gakis, A. Stenzl and C. Schwentner (2013). "Influence of age on false positive rates of urine-based tumor markers." World J Urol **31**(4): 935-940.
- Huber, S., C. Schwentner, D. Taeger, B. Pesch, M. Nasterlack, G. Leng, T. Mayer, K. Gawrych, N. Bonberg, M. Pelster, G. Johnen, H. Bontrup, H. Wellhausser, H. G. Bierfreund, C. Wiens, C. Bayer, F. Eberle, B. Scheuermann, M. Kluckert, G. Feil, T. Bruning and A. Stenzl (2012). "Nuclear matrix protein-22:



- a prospective evaluation in a population at risk for bladder cancer. Results from the UroScreen study." BJU Int **110**(5): 699-708.
- Imirzalioglu, P., S. Uckan, E. E. Alaaddinoglu, A. Haberal and D. Uckan (2005). "Cigarette smoking and apoptosis." J Periodontol **76**(5): 737-739.
- J.A. Witjes (Chair), E. C., N.C. Cowan, G. Gakis, T. Lebrét, A.G. van der Heijden, M.J. Ribal Guidelines Associates: M. Bruins, V. Hernández, E. Linares Espinós, J. Dunn, M. Rouanne, Y. Neuzillet, E. Veskimäe. (2016). "EAU GUIDELINES MUSCLE-INVASIVE AND METASTATIC BLADDER CANCER." from <http://uroweb.org/guideline/bladder-cancer-muscle-invasive-and-metastatic/?type=pocket-guidelines>.
- James D. Brierley, M. K., Gospodarowicz, Christian Wittekind (2017). TNM Classification of Malignant Tumours, Eighth Edition. Weinheim, John Wiley and Sons.
- Jin, F., J. Thaiparambil, S. R. Donepudi, V. Vantaku, D. W. B. Piyarathna, S. Maity, R. Krishnapuram, V. Putluri, F. Gu, P. Purwaha, S. K. Bhowmik, C. R. Ambati, F. C. von Rundstedt, F. Roghmann, S. Berg, J. Noldus, K. Rajapakshe, D. Godde, S. Roth, S. Storkel, S. Degener, G. Michailidis, B. A. Kaipparattu, B. Karanam, M. K. Terris, S. M. Kavuri, S. P. Lerner, F. Kheradmand, C. Coarfa, A. Sreekumar, Y. Lotan, R. El-Zein and N. Putluri (2017). "Tobacco-Specific Carcinogens Induce Hypermethylation, DNA Adducts, and DNA Damage in Bladder Cancer." Cancer Prev Res (Phila) **10**(10): 588-597.
- Joehanes, R., A. C. Just, R. E. Marioni, L. C. Pilling, L. M. Reynolds, P. R. Mandaviya, W. Guan, T. Xu, C. E. Elks, S. Aslibekyan, H. Moreno-Macias, J. A. Smith, J. A. Brody, R. Dhingra, P. Yousefi, J. S. Pankow, S. Kunze, S. H. Shah, A. F. McRae, K. Lohman, J. Sha, D. M. Absher, L. Ferrucci, W. Zhao, E. W. Demerath, J. Bressler, M. L. Grove, T. Huan, C. Liu, M. M. Mendelson, C. Yao, D. P. Kiel, A. Peters, R. Wang-Sattler, P. M. Visscher, N. R. Wray, J. M. Starr, J. Ding, C. J. Rodriguez, N. J. Wareham, M. R. Irvin, D. Zhi, M. Barrdahl, P. Vineis, S. Ambatipudi, A. G. Uitterlinden, A. Hofman, J. Schwartz, E. Colicino, L. Hou, P. S. Vokonas, D. G. Hernandez, A. B. Singleton, S. Bandinelli, S. T. Turner, E. B. Ware, A. K. Smith, T. Klengel, E. B. Binder, B. M. Psaty, K. D. Taylor, S. A. Gharib, B. R. Swenson, L. Liang, D. L. DeMeo, G. T. O'Connor, Z. Herceg, K. J. Ressler, K. N. Conneely, N. Sotoodehnia, S. L. Kardia, D. Melzer, A. A. Baccarelli, J. B. van Meurs, I. Romieu, D. K. Arnett, K. K. Ong, Y. Liu, M. Waldenberger, I. J. Deary, M. Fornage, D. Levy and S. J. London (2016). "Epigenetic Signatures of Cigarette Smoking." Circ Cardiovasc Genet **9**(5): 436-447.
- Junge, B. and M. Nagel (1999). "Das Rauchverhalten in Deutschland." Gesundheitswesen Sonderheft 2: 121-125.
- Kehinde, E. O., F. Al-Mulla, K. Kapila and J. T. Anim (2011). "Comparison of the sensitivity and specificity of urine cytology, urinary nuclear matrix protein-22 and multitarget fluorescence in situ hybridization assay in the detection of bladder cancer." Scand J Urol Nephrol **45**(2): 113-121.
- Koss, L. G., D. Deitch, R. Ramanathan and A. B. Sherman (1985). "Diagnostic value of cytology of voided urine." Acta Cytol **29**(5): 810-816.
- Krebsregisterdaten, Z. f. (2016). Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016. Berlin.

- Kusumanto, Y. H., W. A. Dam, G. A. Hospers, C. Meijer and N. H. Mulder (2003). "Platelets and granulocytes, in particular the neutrophils, form important compartments for circulating vascular endothelial growth factor." Angiogenesis **6**(4): 283-287.
- Lampert, T. and M. Burger (2004). "Rauchgewohnheiten in Deutschland - Ergebnisse des telefonischen Bundes-Gesundheitssurveys 2003." Gesundheitswesen **66**(08/09): 511-517.
- Lampert, T., E. von der Lippe and S. Müters (2013). "Verbreitung des Rauchens in der Erwachsenenbevölkerung in Deutschland." Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz **56**(5): 802-808.
- Leitlinienprogramm Onkologie, D. K., Deutsche Krebshilfe, AWMF (2016). S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Harnblasenkarzinoms, Langversion 1.1, <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Harnblasenkarzinom.92.0.html> , (Stand: 01.11.2016)
- Letasiova, S., A. Medve'ova, A. Sovcikova, M. Dusinska, K. Volkovova, C. Mosoiu and A. Bartonova (2012). "Bladder cancer, a review of the environmental risk factors." Environ Health **11 Suppl 1**: S11.
- Lima, L., D. Oliveira, A. Tavares, T. Amaro, R. Cruz, M. J. Oliveira, J. A. Ferreira and L. Santos (2014). "The predominance of M2-polarized macrophages in the stroma of low-hypoxic bladder tumors is associated with BCG immunotherapy failure." Urol Oncol **32**(4): 449-457.
- Lotan, Y. and S. F. Shariat (2008). "Impact of risk factors on the performance of the nuclear matrix protein 22 point-of-care test for bladder cancer detection." BJU Int **101**(11): 1362-1367.
- M. Babjuk (Chair), A. B., M. Burger, E. Compérat, E. Kaasinen, J. Palou, B.W.G. van Rhijn, M. Rouprêt, S. Shariat, R. Sylvester, R. Zigeuner and D. C. Guidelines Associates: O. Capoun, V. Hernández, V. Soukup. (2016, March 2016). "EAU GUIDELINES ON NON-MUSCLE INVASIVE (Ta, T1, CIS) BLADDER CANCER." from <https://uroweb.org/guideline/non-muscle-invasive-bladder-cancer/?type=pocket-guidelines>.
- Mao, L., J. S. Lee, J. M. Kurie, Y. H. Fan, S. M. Lippman, J. J. Lee, J. Y. Ro, A. Broxson, R. Yu, R. C. Morice, B. L. Kemp, F. R. Khuri, G. L. Walsh, W. N. Hittelman and W. K. Hong (1997). "Clonal genetic alterations in the lungs of current and former smokers." J Natl Cancer Inst **89**(12): 857-862.
- Marsh, H. P., N. A. Haldar, M. Bunce, S. E. Marshall, K. le Monier, S. L. Winsey, K. Christodoulos, D. Cranston, K. I. Welsh and A. L. Harris (2003). "Polymorphisms in tumour necrosis factor (TNF) are associated with risk of bladder cancer and grade of tumour at presentation." Br J Cancer **89**(6): 1096-1101.
- Martina Pötschke-Langer, S. K., Katrin Schaller, Verena Viarisio, Christopher Heidt, Susanne Schunk (2015). Tabakatlas Deutschland 2015. Heidelberg, Pabst Science Publishers.
- Mbeutcha, A., S. F. Shariat, M. Rieken, M. Rink, E. Xylinas, C. Seitz, I. Lucca, R. Mathieu, M. Roupret, A. Briganti, P. I. Karakiewicz and T. Klatter (2016). "Prognostic significance of markers of systemic inflammatory response in patients with non-muscle-invasive bladder cancer." Urol Oncol **34**(11): 483.e417-483.e424.

- Mezynska, M. and M. M. Brzoska (2017). "Environmental exposure to cadmium-- a risk for health of the general population in industrialized countries and preventive strategies." Environ Sci Pollut Res Int.
- Mowatt, G., S. Zhu, M. Kilonzo, C. Boachie, C. Fraser, T. R. Griffiths, J. N'Dow, G. Nabi, J. Cook and L. Vale (2010). "Systematic review of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of photodynamic diagnosis and urine biomarkers (FISH, ImmunoCyt, NMP22) and cytology for the detection and follow-up of bladder cancer." Health Technol Assess **14**(4): 1-331, iii-iv.
- national cancer institute. (2018, 05.04.2016). "NCI Dictionary of Cancer Terms." Dictionary of Cancer Terms from <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms?CdrID=306510>.
- Nunez, K., J. Kay, A. Krotow, M. Tong, A. R. Agarwal, E. Cadenas and S. M. de la Monte (2016). "Cigarette Smoke-Induced Alterations in Frontal White Matter Lipid Profiles Demonstrated by MALDI-Imaging Mass Spectrometry: Relevance to Alzheimer's Disease." J Alzheimers Dis **51**(1): 151-163.
- Olympus (2016). Olympus.
- Pereira, C. S., M. S. Juchniuk de Vozzi, S. A. Dos Santos, M. A. Vasconcelos, C. C. de Paz, J. A. Squire and L. Martelli (2014). "Smoking-induced chromosomal segregation anomalies identified by FISH analysis of sperm." Mol Cytogenet **7**(1): 58.
- Piontek, D., J. Atzendorf and E. K. Gomes de Matos, L. (2016). "Kurzbericht Epidemiologischer Suchtsurvey 2015. Tabellenband: Tabakkonsum und Hinweise auf klinisch relevanten Tabakkonsum nach Geschlecht und Alter im Jahr 2015. ."
- Plottner, S., C. Behm, H. M. Bolt and W. Follmann (2012). "Effects of cigarette smoke condensate on primary urothelial cells in vitro." J Toxicol Environ Health A **75**(19-20): 1194-1205.
- Praxisdienst. (2018). from <https://www.praxisdienst.de/Laborbedarf/Tests/Harnteststreifen+und+Stuhltests/Urinsteststreifen/Combur+10+Test+100+Urinsteststreifen.html>.
- Raitanen, M. P., R. Aine, E. Rintala, J. Kallio, P. Rajala, H. Juusela and T. L. Tammela (2002). "Differences between local and review urinary cytology in diagnosis of bladder cancer. An interobserver multicenter analysis." Eur Urol **41**(3): 284-289.
- Redelman-Sidi, G., M. S. Glickman and B. H. Bochner (2014). "The mechanism of action of BCG therapy for bladder cancer--a current perspective." Nat Rev Urol **11**(3): 153-162.
- Rensing, L. and V. Rippe (2014). Altern Zelluläre und molekulare Grundlagen, körperliche Veränderungen und Erkrankungen, Therapieansätze. Berlin, Springer.
- Reulen, R. C., E. Kellen, F. Buntinx, M. Brinkman and M. P. Zeegers (2008). "A meta-analysis on the association between bladder cancer and occupation." Scand J Urol Nephrol Suppl(218): 64-78.
- RKI (Hrsg), G. d. e. K. i. D. e. V. H. (2015). Krebs in Deutschland 2011/2012. Berlin.
- Rodriguez, D., R. Silvera, R. Carrio, M. Nadji, R. Caso, G. Rodriguez, V. Iragavarapu-Charyulu and M. Torroella-Kouri (2013). "Tumor microenvironment profoundly modifies functional status of macrophages: peritoneal and tumor-

associated macrophages are two very different subpopulations." Cell Immunol **283**(1-2): 51-60.

Rorbach-Dolata, A., Z. Marchewka and A. Piwowar (2015). "[The biochemical carcinogenesis of selected heavy metals in bladder cancer]." Postepy Biochem **61**(2): 176-182.

Sajid, K. M., K. Chaouachi and R. Mahmood (2008). "Hookah smoking and cancer: carcinoembryonic antigen (CEA) levels in exclusive/ever hookah smokers." Harm Reduct J **5**: 19.

Schlake, A., P. L. Crispen, A. P. Cap, T. Atkinson, D. Davenport and D. M. Preston (2012). "NMP-22, urinary cytology, and cystoscopy: a 1 year comparison study." Can J Urol **19**(4): 6345-6350.

Seideman, C., D. Canter, P. Kim, B. Cordon, A. Weizer, I. Oliva, J. Rao, B. A. Inman, M. Posch, H. Herr and Y. Lotan (2015). "Multicenter evaluation of the role of UroVysion FISH assay in surveillance of patients with bladder cancer: does FISH positivity anticipate recurrence?" World J Urol **33**(9): 1309-1313.

Shariat, S. F., C. Savage, T. F. Chromecki, M. Sun, D. S. Scherr, R. K. Lee, G. Lughezzani, M. Remzi, M. J. Marberger, P. I. Karakiewicz and A. J. Vickers (2011). "Assessing the clinical benefit of nuclear matrix protein 22 in the surveillance of patients with nonmuscle-invasive bladder cancer and negative cytology: a decision-curve analysis." Cancer **117**(13): 2892-2897.

Skeldon, S. C., K. Semotiuk, M. Aronson, S. Holter, S. Gallinger, A. Pollett, C. Kuk, B. van Rhijn, P. Bostrom, Z. Cohen, N. E. Fleshner, M. A. Jewett, S. Hanna, S. F. Shariat, T. H. Van Der Kwast, A. Evans, J. Catto, B. Bapat and A. R. Zlotta (2013). "Patients with Lynch syndrome mismatch repair gene mutations are at higher risk for not only upper tract urothelial cancer but also bladder cancer." Eur Urol **63**(2): 379-385.

Sokolova, I. A., K. C. Halling, R. B. Jenkins, H. M. Burkhardt, R. G. Meyer, S. A. Seelig and W. King (2000). "The development of a multitarget, multicolor fluorescence in situ hybridization assay for the detection of urothelial carcinoma in urine." J Mol Diagn **2**(3): 116-123.

Solak, Z. A., C. Kabaroglu, G. Cok, Z. Parildar, U. Bayindir, D. Ozmen and O. Bayindir (2005). "Effect of different levels of cigarette smoking on lipid peroxidation, glutathione enzymes and paraoxonase 1 activity in healthy people." Clin Exp Med **5**(3): 99-105.

Souto, G. R., M. V. Caliari, C. E. Lins, M. C. de Aguiar, M. H. de Abreu and R. A. Mesquita (2010). "Tobacco use increase the number of aneuploid nuclei in the clinically healthy oral epithelium." J Oral Pathol Med **39**(8): 605-610.

Spira, A., J. Beane, V. Shah, G. Liu, F. Schembri, X. Yang, J. Palma and J. S. Brody (2004). "Effects of cigarette smoke on the human airway epithelial cell transcriptome." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(27): 10143-10148.

Stadtman, E. R. (2006). "Protein oxidation and aging." Free Radic Res **40**(12): 1250-1258.

Sui, X., L. Lei, L. Chen, T. Xie and X. Li (2017). "Inflammatory microenvironment in the initiation and progression of bladder cancer." Oncotarget **8**(54): 93279-93294.

Sylvester, R. J., A. P. van der Meijden, W. Oosterlinck, J. A. Witjes, C. Bouffoux, L. Denis, D. W. Newling and K. Kurth (2006). "Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC

- risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials." Eur Urol **49**(3): 466-465; discussion 475-467.
- T. Lampert, E. v. d. L., S.Müters (2013). "Verbreitung des Rauchens in der Erwachsenenbevölkerung in Deutschland " Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz **5**: 802-808.
- Tetu, B., R. Tiguert, F. Harel and Y. Fradet (2005). "ImmunoCyt/uCyt+ improves the sensitivity of urine cytology in patients followed for urothelial carcinoma." Mod Pathol **18**(1): 83-89.
- Thomas, F., A. P. Noon, N. Rubin, J. R. Goepel and J. W. Catto (2013). "Comparative outcomes of primary, recurrent, and progressive high-risk non-muscle-invasive bladder cancer." Eur Urol **63**(1): 145-154.
- Tibuakuu, M., D. Kamimura, S. Kianoush, A. P. DeFilippis, M. Al Rifai, L. M. Reynolds, W. B. White, K. R. Butler, T. H. Mosley, S. T. Turner, I. J. Kullo, M. E. Hall and M. J. Blaha (2017). "The association between cigarette smoking and inflammation: The Genetic Epidemiology Network of Arteriopathy (GENOA) study." PLoS One **12**(9): e0184914.
- Todenhofer, T., J. Hennenlotter, V. Tews, G. Gakis, S. Aufderklamm, U. Kuehs, A. Stenzl and C. Schwentner (2013). "Impact of different grades of microscopic hematuria on the performance of urine-based markers for the detection of urothelial carcinoma." Urol Oncol **31**(7): 1148-1154.
- Ugur, M. G., R. Kutlu and I. Kilinc (2017). "The effects of smoking on vascular endothelial growth factor and inflammation markers: A case-control study." Clin Respir J.
- van Osch, F. H., S. H. Jochems, F. J. van Schooten, R. T. Bryan and M. P. Zeegers (2016). "Quantified relations between exposure to tobacco smoking and bladder cancer risk: a meta-analysis of 89 observational studies." Int J Epidemiol **45**(3): 857-870.
- Vassallo, R., K. Tamada, J. S. Lau, P. R. Kroening and L. Chen (2005). "Cigarette smoke extract suppresses human dendritic cell function leading to preferential induction of Th-2 priming." J Immunol **175**(4): 2684-2691.
- Vergara-Lluri, M. E., E. Hu, J. Y. Rao, M. Levin, S. K. Apple and N. A. Moatamed (2014). "Comparative evaluation of ProEx C and ImmunoCyt/uCyt assays in atypical urine cytology." Arch Pathol Lab Med **138**(9): 1215-1222.
- Verma, N., M. Pink, A. W. Rettenmeier and S. Schmitz-Spanke (2013). "Benzo[a]pyrene-mediated toxicity in primary pig bladder epithelial cells: A proteomic approach." Journal of Proteomics **85**: 53-64.
- Vlahou, A., P. F. Schellhammer, S. Mendrinou, K. Patel, F. I. Kondylis, L. Gong, S. Nasim and G. L. Wright, Jr. (2001). "Development of a novel proteomic approach for the detection of transitional cell carcinoma of the bladder in urine." Am J Pathol **158**(4): 1491-1502.
- Vriesema, J. L., F. Atsma, L. A. Kiemeny, W. P. Peelen, J. A. Witjes and J. A. Schalken (2001). "Diagnostic efficacy of the ImmunoCyt test to detect superficial bladder cancer recurrence." Urology **58**(3): 367-371.
- Wang-Sattler, R., Y. Yu, K. Mittelstrass, E. Lattka, E. Altmaier, C. Gieger, K. H. Ladwig, N. Dahmen, K. M. Weinberger, P. Hao, L. Liu, Y. Li, H. E. Wichmann, J. Adamski, K. Suhre and T. Illig (2008). "Metabolic profiling reveals distinct variations linked to nicotine consumption in humans--first results from the KORA study." PLoS One **3**(12): e3863.

- Weiß, P. D. C. and P. D. B. Rzany (2013). Basiswissen Medizinische Statistik, Springer.
- Wistuba, II, S. Lam, C. Behrens, A. K. Virmani, K. M. Fong, J. LeRiche, J. M. Samet, S. Srivastava, J. D. Minna and A. F. Gazdar (1997). "Molecular damage in the bronchial epithelium of current and former smokers." J Natl Cancer Inst **89**(18): 1366-1373.
- Xia, Y., Y. L. Liu, K. H. Yang and W. Chen (2010). "The diagnostic value of urine-based survivin mRNA test using reverse transcription-polymerase chain reaction for bladder cancer: a systematic review." Chin J Cancer **29**(4): 441-446.
- Yafi, F. A., F. Brimo, J. Steinberg, A. G. Aprikian, S. Tanguay and W. Kassouf (2015). "Prospective analysis of sensitivity and specificity of urinary cytology and other urinary biomarkers for bladder cancer." Urol Oncol **33**(2): 66.e25-31.
- Zeng, Z. and X. J. Zhou (2010). "[Detection of bladder cancer by FISH test: a meta-analysis]." Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi **39**(2): 75-78.
- Zhang, Z. F., X. M. Shu, C. Cordon-Cardo, I. Orlov, M. L. Lu, T. V. Millon, P. Q. Cao, C. Connolly-Jenks, G. Dalbagni, P. Lianes, L. Lacombe, V. E. Reuter and H. Scher (1997). "Cigarette smoking and chromosome 9 alterations in bladder cancer." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **6**(5): 321-326.
- Zhou, L., X. Cai, Q. Liu, Z. Y. Jian, H. Li and K. J. Wang (2015). "Prognostic Role of C-Reactive Protein In Urological Cancers: A Meta-Analysis." Sci Rep **5**: 12733.

## 8. Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1 Risikoklassifizierung von nicht muskelinvasiven BC und deren empfohlene Therapievorschläge</b> (Leitlinienprogramm Onkologie 2016) modifiziert durch Katharina Docktor. Papilläre urotheliale Neoplasien niedrigen malignen Potentials (PUNLMP), gut differenzierte „low-grade-Tumoren“ (LG), und schlecht bis undifferenzierte „high-grade-Tumoren“ (HG). TUR-B Transurethrale Resektion der Blase. BCG Bacillus-Calmette-Guérin.....	10
<b>Tabelle 2 Vierfeldertafel mit den Formeln zur Berechnung der Sensitivität, der Spezifität, des positiven prädiktiven Werts und des negativen prädiktiven Werts.</b> Quelle: miamed.amboss <a href="https://amboss.miamed.de/library#xid=Xj09_f&amp;anker=Z086ad6e195d8a771fd98805a6f68cfff">https://amboss.miamed.de/library#xid=Xj09_f&amp;anker=Z086ad6e195d8a771fd98805a6f68cfff</a> , modifiziert durch Katharina Docktor.....	44
<b>Tabelle 3 Ergebnisse der einzelnen Urindiagnostik, absolute Anzahl, in Klammer entsprechend prozentualer Anteil.</b> .....	45
<b>Tabelle 4 Kontingenztabelle Urinzytologie des Subkollektives ohne Nachweis eines BC.</b> .....	49
<b>Tabelle 5 Kontingenztabelle Urinzytologie des Subkollektives mit Nachweis eines Urothelkarzinoms.</b> .....	51
<b>Tabelle 6 Sensitivität, Spezifität, PPW, NPW der Urinzytologie bezogen auf die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher. ...</b>	52
<b>Tabelle 7 Kontingenztabelle UroVysion/FISH™ des Subkollektives ohne Nachweis eines BC.</b> .....	54
<b>Tabelle 8 Kontingenztabelle UroVysion/FISH™ des Subkollektives mit Nachweis eines BC.</b> .....	56
<b>Tabelle 9 Sensibilität, Spezifität, PPW, NPW der FISH bezogen auf die 3 Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.</b> .....	57
<b>Tabelle 10 Kontingenztabelle uCyt+/ImmunoCyt™ des Subkollektives ohne Nachweis eines BC.</b> .....	59
<b>Tabelle 11 Kontingenztabelle uCyt+/ImmunoCyt™ des Subkollektives mit Nachweis eines BC.</b> .....	61

**Tabelle 12 Sensitivität, Spezifität, PPW, NPW der uCyt+/ImmunoCyt™ bezogen auf die 3 Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher..... 62**

**Tabelle 13 Kontingenztabelle NMP22™ des Subkollektives ohne Nachweis eines BC..... 64**

**Tabelle 14 Kontingenztabelle NMP22™ des Subkollektives mit Nachweis eines Urothelkarzinoms..... 66**

**Tabelle 15 Sensibilität, Spezifität, PPW, NPW des NMP22™ bezogen auf drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher. .... 67**

**Tabelle 16 Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert (PPW), negativer prädiktiver Wert (NPW) der einzelnen Urindiagnostiken unterteilt in drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher sowie Gesamt. .... 72**



## 9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 <b>Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2012 ohne nicht-melanotischen Hautkrebs</b> (RKI (Hrsg) 2015).....	1
Abbildung 2 <b>Infiltrationstiefe des Harnblasenkarzinoms in die einzelnen Schichten anhand der TNM-Klassifikation</b> (Reisende 2005). ....	5
Abbildung 3 <b>Für den Urinstatus in der Klinik verwendeter Combur 10 Test M cobas der Firma Roche</b> (Praxisdienst 2018).....	32
Abbildung 4 <b>Ausschnitt aus dem Anamnesedokument. Unter Wahrnehmung, Umgang mit der eigenen Gesundheit konnte der Raucherstatus erhoben werden</b> .....	40
Abbildung 5 <b>Prämedikationsbogen, welcher Auskunft über den Nikotinkonsum gab</b> .....	41

## 10. Diagrammverzeichnis

Diagramm 1 <b>Altersverteilung der drei Gruppen: ehemalige Raucher, aktuelle Raucher und Nichtraucher.</b> .....	46
Diagramm 2 <b>Histologische Verteilung der 148 BC-Patienten, Angaben in Prozent.</b> .....	47
Diagramm 3 <b>Histologische Verteilung der 148 BC-Patienten, im Vergleich ehemalige Raucher, aktuelle Raucher, und Nichtraucher, Angaben in Prozent.</b> .....	48
Diagramm 4 <b>Falsch-positive-Ergebnisse der Urinzytologie in Prozent, unterteilt in drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.</b> .....	50
Diagramm 5 <b>Falsch-negative-Ergebnisse der Urinzytologie in Prozent, unterteilt in die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.</b> .....	52
Diagramm 6 <b>Falsch-positive Ergebnisse der UroVysion/FISH™ in Prozent unterteilt in die 3 Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.</b> .....	55
Diagramm 7 <b>Falsch-negative Ergebnisse der FISH in Prozent, unterteilt in die 3 Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.</b> .....	57
Diagramm 8 <b>Falsch-positive Ergebnisse der uCyt+/ImmunoCyt™ in Prozent, unterteilt in drei Gruppen: Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.</b> .....	60
Diagramm 9 <b>Falsch-negative Ergebnisse der uCyt+/ImmunoCyt™ in Prozent, unterteilt in die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher, aktuelle Raucher.</b> .....	62
Diagramm 10 <b>Falsch-positive Ergebnisse des NMP22™ in Prozent, unterteilt in die drei Gruppen Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher.</b> .....	65
Diagramm 11 <b>Falsch-negative Ergebnisse des NMP22™ in Prozent, unterteilt in Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktuelle Raucher.</b> .....	67

Diagramm 12 **Falsch-positive Testergebnisse der vier verschiedenen Urindiagnostiken im Vergleich der Gruppen Nichtraucher, aktuelle Raucher und ehemalige Raucher**..... 69

Diagramm 13 **Falsch-negative Testergebnisse der vier verschiedenen Urindiagnostiken im Vergleich der Gruppen Nichtraucher, aktuelle Raucher und ehemalige Raucher**..... 70

## **11. Erklärung zum Eigenanteil**

Die Arbeit wurde in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen unter der Betreuung von PD Dr. med. Tilman Todenhöfer durchgeführt.

An der Konzeption und Betreuung der Arbeit waren PD Dr. med. Tilman Todenhöfer, Oberarzt, Leitung Studienzentrale Urologie und Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter, Laborleitung Kliniklabor beteiligt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch PD Dr. med. Tilman Todenhöfer. Die Graphen, Tabellen, und die statistischen Ergebnisse, welche in dieser Arbeit aufgeführt sind, wurden von mir erstellt.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Willstätt, den 19. November 2018

Katharina Docktor

## 12. Publikationen

Im Zusammenhang mit dieser Dissertation entstandene Veröffentlichung:

Deiningner, S., J. Hennenlotter, S. Rausch, K. Docktor, E. Neumann, I. A. da Costa, J. Bedke, A. Stenzl and T. Todenhofer (2018). "No influence of smoking status on the performance of urine markers for the detection of bladder cancer." J Cancer Res Clin Oncol **144**(7): 1367-1373.

### **13. Danksagung**

Zunächst möchte ich mich bei Prof. Dr. med. Arnulf Stenzl, dem ärztlichen Direktor der Klinik für Urologie Tübingen, herzlich für die Annahme als Doktorandin sowie für das Bereitstellen des Arbeitsplatzes bedanken.

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Tilman Todenhöfer danke ich für die Überlassung des Themas. Zudem ein großes Dankeschön für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung und Analyse der Datenbank.

Mein besonderer Dank geht an meinen Betreuer Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter. Mit seinen Anregungen, Ideen und seiner unglaublichen Geduld mit mir hat er wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Er hatte stets ein offenes Ohr für mich und stand mir mit Motivation zur Seite. Für die Korrektur der Arbeit und seine konstruktive Kritik bin ich sehr dankbar. Zudem danke ich Frau Dr. med. Susanne Schnürer, welche zur weiteren Korrektur meiner Arbeit eingesprungen ist, und diese neben ihrer beruflichen Tätigkeit konstruktiv durchgeführt hat.

Abschließend gilt ein ganz besonderer Dank meinen Eltern und meinem Bruder, die mich während der gesamten, teils anstrengend und oft auch frustrierenden Zeit unterstützt und begleitet haben. Ein herzlicher Dank auch an meine Freunde, speziell meinen drei schwäbischen Freundinnen, die mich während meiner gesamten Studienzeit begleitet, unterstützt, aufgebaut und motiviert haben.