

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik  
am Campus Großhadern  
Klinik der Universität München Direktor:  
Prof. Dr. Christian G. Stief

**Einfluss der *BCG*-Instillationstherapie auf die diagnostische Validität der Urinzytologie bei der Detektion von *high grade* Urothelkarzinomen der Harnblase**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Julian Sebastian Robert Hermans

aus

Bonn

2023

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Gerald Schulz

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Michael Vogeser  
Prof. Dr. Martina Rudelius

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 05.10.2023

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>3</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>5</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>6</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>7</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>9</b>
1.1 Epidemiologie .....	9
1.2 Ätiologie .....	9
1.3 Klassifikation .....	10
1.4 Klinik.....	12
1.5 Diagnostik .....	12
1.5.1 Zystoskopie .....	12
1.5.2 Urinzytologie .....	14
1.5.3 Urinmarker .....	23
1.5.4 Bildgebung .....	24
1.6 Risikostratifizierung.....	25
1.7 Therapie .....	27
1.7.1 Therapie nicht-muskelinvasiver Harnblasenkarzinome .....	27
1.7.2 Therapie muskelinvasiver Harnblasenkarzinome .....	30
<b>2. Zielsetzung .....</b>	<b>32</b>
<b>3. Material und Methoden.....</b>	<b>33</b>
3.1 Material .....	33
3.1.1 Patientenkollektiv und Studiendesign .....	33
3.1.2 Datenerhebung .....	34
3.1.3 Durchführung und Klassifikation der Urinzytologie .....	34
3.1.4 Software & Datenbanken .....	35
3.2 Methoden .....	35
3.2.1 Statistische Analysen.....	35
<b>4. Ergebnisse.....</b>	<b>40</b>
4.1 Patientenkohorte und deskriptive Statistik .....	40
4.2 Statistische Ergebnisse.....	42
4.2.1 Diagnostische Qualität der Urinzytologie nach <i>BCG</i> in Abhängigkeit der Definition des <i>Cutoff</i> .....	42
Qualität der Urinzytologie in Abhängigkeit des Zeitpunktes der letzten <i>BCG</i> -Instillation .....	44
4.2.2 44	
4.3 Interobserverübereinstimmung und -variabilität nach <i>BCG</i> -Instillation.....	46
4.4 Reaktive Atypie und Zelldegeneration können diagnostische Qualität einschränken .....	47
4.5 Rezidivrisiko nach falsch-positivem zytologischen Befund.....	48

---

<b>5.</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>50</b>
5.1	Hintergrund .....	50
5.2	Abhängigkeit der diagnostischen Qualität der Urinzytologie von der Definition des Cutoff.....	50
5.3	Diagnostische Qualität insbesondere kurz nach der <i>BCG</i> -Instillation beeinträchtigt .....	52
5.4	Reaktive Atypie und Zelldegeneration können diagnostische Qualität einschränken .....	52
5.5	Hohes Rezidivrisiko bei falsch-positivem zytologischem Befund .....	54
5.6	Fazit .....	54
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>56</b>
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>57</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>66</b>
	<b>Affidavit .....</b>	<b>67</b>
	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>68</b>
	<b>Publikationsliste.....</b>	<b>70</b>

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1: Urinzytologisches Präparat: Negativ für <i>high grade</i> Urothelkarzinom</b>	<b>17</b>
<b>Abbildung 2: Urinzytologisches Präparat: Verdächtig für <i>high grade</i> Urothelkarzinom</b> .....	<b>18</b>
<b>Abbildung 3: Urinzytologisches Präparat: <i>High grade</i> Urothelkarzinom</b> .....	<b>19</b>
<b>Abbildung 4: Urinzytologisches Präparat: Entzündliche Granulozytose</b> .....	<b>20</b>
<b>Abbildung 5: Urinzytologisches Präparat: Typische urinzytologische Befunde nach stattgehabter <i>BCG</i>-Instillation</b> .....	<b>22</b>

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: TNM-Klassifikation – Urothelkarzinom der Harnblase .....	11
Tabelle 2: Stadien des Urothelkarzinoms der Harnblase nach <i>UICC</i> .....	12
Tabelle 3: Nachsorgeschema nicht-muskelinvasiver Harnblasenkarzinome .....	14
Tabelle 4: Kriterien Pariser Klassifikation: Negativ für <i>high grade</i> Urothelkarzinom .....	16
Tabelle 5: Kriterien Pariser Klassifikation: Atypische Urothelzellen .....	17
Tabelle 6: Kriterien Pariser Klassifikation: Verdächtig auf <i>high grade</i> Urothelkarzinom .....	18
Tabelle 7: Kriterien Pariser Klassifikation: <i>High grade</i> Urothelkarzinom .....	19
Tabelle 8: Kriterien Pariser Klassifikation: Andere maligne Tumore und Metastasen .....	20
Tabelle 9: Kriterien Pariser Klassifikation: Nicht diagnostisch .....	20
Tabelle 10: Sensitivität und Spezifität einiger von der <i>FDA</i> zugelassenen Urinmarker .....	24
Tabelle 11: Punktesystem zur Ermittlung der Rezidiv- und Progressionswahrscheinlichkeit nicht-muskelinvasiver Harnblasenkarzinome .....	26
Tabelle 12: Rezidivwahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der Gesamtsumme .....	27
Tabelle 13: Progressionswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der Gesamtsumme .....	27
Tabelle 14: Einschluss- und Ausschlusskriterien der Studie .....	33
Tabelle 15: Diagnostische Validität anhand einer Kreuztabelle .....	36
Tabelle 16: Berechnung des 95% Konfidenzintervall .....	37
Tabelle 17: Klinisch-pathologische Merkmale der Patientenkohorte .....	41
Tabelle 18: Korrelation der Histopathologie und Zytologie ( <i>HGUC-Cutoff</i> ) .....	42
Tabelle 19: Korrelation der Histopathologie und Zytologie ( <i>SHGUC-Cutoff</i> ) .....	43
Tabelle 20: Korrelation der Histopathologie und Zytologie ( <i>AUC-Cutoff</i> ) .....	43
Tabelle 21: Einfluss des <i>Cutoff</i> auf die diagnostische Qualität der Urinzytologie nach stattgehabter <i>BCG</i> -Therapie .....	44
Tabelle 22: Korrelation der Histopathologie und Zytologie im Kontext des Zeitraums zwischen Instillation und <i>TUR-B</i> /Zytologie (<100 Tage) .....	44
Tabelle 23: Korrelation der Histopathologie und Zytologie im Kontext des Zeitraums zwischen Instillation und <i>TUR-B</i> /Zytologie (≥100 Tage) .....	45
Tabelle 24: Einfluss des Zeitpunktes der letzten <i>BCG</i> -Instillation auf die diagnostische Aussagekraft der Urinzytologie .....	46
Tabelle 25: Kreuztabelle: Übereinstimmung der beiden Untersucher .....	46
Tabelle 26: Interobserverübereinstimmung und -variabilität nach stattgehabter <i>BCG</i> -Instillationstherapie .....	47
Tabelle 27: Auswirkungen <i>BCG</i> -spezifischer und -unspezifischer zytologischer Nebenbefunde auf die urinzytologische Diagnostik .....	48
Tabelle 28: Rezidivrisiko von Patienten mit falsch-positivem zytologischen Befund .....	49

## Abkürzungsverzeichnis

<i>APC</i>	<i>Antigen-presenting Cells</i> , Antigen-präsentierende Zellen
<i>AUC</i>	<i>Atypical Urothelial Cells</i> , Atypische Urothelzellen
<i>BCG</i>	<i>Bacillus Calmette-Guérin</i>
<i>BTA</i>	<i>Bladder Tumor Associated</i> , Harnblasentumor Assoziiertes Antigen
<i>CD</i>	<i>Cluster of Differentiation</i> , Oberflächenmerkmal
<i>CIS</i>	<i>Carcinoma in Situ</i>
<i>CT</i>	Computertomographie
<i>CUETO</i>	<i>Club Urologico Espaniol de Tratamento Oncologico</i>
<i>ELISA</i>	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> , Enzymgebundener Immunosorbent-Assay
<i>EORTC</i>	<i>European Organization for Research and Treatments of Cancer</i>
<i>FAP</i>	<i>Fibronectin-Attachment-Protein</i>
<i>FDA</i>	<i>Food and Drug Administration</i>
<i>FGFR3</i>	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor 3</i> , Fibroblasten Wachstumsfaktor-Rezeptor 3
<i>FJ</i>	Folgejahr
<i>GM-CFS</i>	<i>Granulocyte-macrophage Colony-stimulating Factor</i>
<i>HG</i>	<i>High Grade</i>
<i>HGUC</i>	<i>High Grade Urothelial Carcinoma</i> , <i>High Grade</i> Urothelkarzinom
<i>IFN</i>	Interferon
<i>IL</i>	Interleukin
<i>IQR</i>	<i>Interquartile Range</i> , Interquartilsabstand
<i>LG</i>	<i>Low Grade</i>
<i>LGUN</i>	<i>Low Grade Urothelial Neoplasia</i> , <i>Low Grade</i> Urotheliale Neoplasie
<i>M</i>	Monat
<i>Mesna</i>	2-Mercaptoethansulfonat-Natrium
<i>MHC</i>	<i>Major Histocompatibility Complex</i> ,
<i>MIBC</i>	<i>Muscle Invasive Bladder Cancer</i> , Muskelinvasives Harnblasenkarzinom
<i>NBI</i>	<i>Narrow-Band Imaging</i>
<i>ND</i>	<i>Non-Diagnostic</i> , Unbefriedigend/Nicht Diagnostisch

---

<i>NHGUC</i>	<i>Negative for High Grade Urothelial Carcinoma</i> , Negativ für <i>High Grade</i> Urothelkarzinom
<i>NK</i>	<i>Natural Killer Cells</i> , Natürliche Killerzellen
<i>NMIBC</i>	<i>Non-muscle Invasive Bladder Cancer</i> , Nicht-muskelinvasives Harnblasenkarzinom
<i>NMP</i>	<i>Nuclear Matrix Protein</i> , Nukleäres Matrix Protein
<i>NPW</i>	Negativer Prädiktiver Wert
<i>OR</i>	<i>Odds Ratio</i> , Quotenverhältnis
<i>PDL1</i>	<i>Programmed Death-ligand 1</i> , Programmierter Todes-Ligand 1
<i>PDD</i>	<i>Photodynamic Diagnosis</i> , Photodynamische Diagnostik (Fluoreszenzbasierte Zystoskopie)
<i>PPW</i>	Positiver Prädiktiver Wert
<i>PTEN</i>	<i>Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosome Ten</i>
<i>PUNLMP</i>	<i>Papillary Urothelial Neoplasms with Low Malignant Potential</i> , Papilläre Urotheliale Neoplasie mit Niedrigem Malignitätspotential
<i>SHGUC</i>	<i>Suspicious for High Grade Urothelial Carcinoma</i> , Verdächtig für <i>High Grade</i> Urothelkarzinom
<i>TNF</i>	<i>Tumor Necrosis Factor</i> , Tumor Nekrose Faktor
<i>TNM</i>	Primärtumor (T); Lymphknotenbefall (N); Metastasierung (M)
<i>TPS</i>	<i>The Paris System</i> , Pariser Klassifikation
<i>TRAIL</i>	<i>Tumor Necrosis Factor Relaxed Apoptosis Factor</i>
<i>TUR-B</i>	<i>Transurethral Resection of the Bladder</i> , Transurethrale Resektion der Harnblase
<i>UICC</i>	<i>Union for International Cancer Control</i>
<i>UPEC</i>	<i>Uropathogenic Escherichia Coli</i> , Uropathogene <i>Escherichia Coli</i>
<i>WHO</i>	<i>World Health Organization</i> , Weltgesundheitsorganisation
<i>WL</i>	Weißlicht

# 1. Einleitung

## 1.1 Epidemiologie

Das Harnblasenkarzinom ist mit insgesamt 15.850 Neuerkrankungen im Jahr 2014 der vierthäufigste Tumor in Deutschland beim Mann und der 14. häufigste Tumor bei der Frau. Verhältnismäßig sind Männer in etwa dreimal so häufig wie Frauen betroffen, wobei Männer im Mittel von 74 Jahren und Frauen mit 76 Jahren erkranken. Das Harnblasenkarzinom ist ein Tumor, der vor allem in den höheren Lebensdekaden auftritt. Ab einem Lebensalter von 40 steigt die Inzidenz kontinuierlich an. Die durchschnittliche altersstandardisierte Inzidenz beläuft sich in Deutschland auf 18,2 beim Mann und 4,9 bei der Frau [1]. Über einen Zeitraum von 2004 bis 2014 betrachtet, bleibt die Inzidenz des Harnblasenkarzinoms in Deutschland stabil [2]. Aufgrund der Folgen der Erkrankung sind in Deutschland im Jahr 2014 ungefähr 5700 Patienten verstorben [1].

Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose wird das Harnblasenkarzinom in etwa 70% in einem nicht-muskelinvasiven (*NMIBC*) Stadium diagnostiziert. Hierbei bleibt das Tumorwachstum auf Mukosa und Submukosa beschränkt. Die verbliebenen 30% verteilen sich auf muskelinvasive (*MIBC*) Stadien. Da bei Frauen dysurische Beschwerden, imperativer Harndrang oder Makrohämaturie öfter als bei Männern auf das Vorliegen einer Harnwegsinfektion zurückgeführt werden, wird das Harnblasenkarzinom bei diesen oftmals erst später erkannt und befindet sich daher bereits in ungefähr 40% der Fälle in einem muskelinvasiven Stadium zum Zeitpunkt der Erstdiagnose [1, 3].

## 1.2 Ätiologie

Wesentliche Risikofaktoren für die Entstehung eines Harnblasenkarzinoms stellen Noxen dar, die durch den Konsum von Tabak freigesetzt werden. In diesem Zusammenhang konnte unter anderem von einer Arbeitsgruppe um Teoh et al eine positive Korrelation in Bezug auf eine erhöhte Inzidenz und Mortalität sowohl bei Männern als auch bei Frauen nachgewiesen werden [4]. Schätzungen zur Folge sind 50% der Harnblasenkarzinomen bei Männern mit dem Rauchen assoziiert [5]. Dabei steigt das Risiko je nach Zigarettenkonsum um auf das bis zu 6-fache im Vergleich zu einem Nichtraucher an [4, 5].

Weiterhin sind Berufstätige einem erhöhten Risiko ausgesetzt, die in Ihrem Arbeitsumfeld Kontakt zu aromatischen Aminen sowie polyzyklischen Wasserstoffen haben. Zu diesen Berufsgruppen zählen unter anderem Arbeiter der Gummi-, Färbemittel- und Lederindustrie, sowie Maler oder Friseure. Harnblasenkarzinome, die auf eine berufliche Anamnese zurückzuschließen sind, werden auf ungefähr 5,3% aller Neoplasien in der Harnblase geschätzt. Aufgrund von verbesserten arbeitsmedizinischen Sicherheitsvorkehrungen ist diese Zahl jedoch stetig rückläufig [6-8].

Auch eine chronische Irritation der Harnwege ist ein Risikofaktor für die Karzinomentstehung. Im europäischen Raum sind dabei insbesondere Patienten betroffen, die auf eine dauerhafte Harnableitung angewiesen sind. Aufgrund der daraus resultierenden mechanischen Irritation sind bei betroffenen Patienten zumeist plattenepitheliale Tumordifferenzierungen nachzuweisen [9]. Zu einer chronischen Entzündung führt außerdem die im mittleren Osten häufig vorkommende Infektion mit dem Parasiten *Schistosoma haematobium*. Das Weibchen des Parasiten legt im Rahmen des Vermehrungsprozesses die Eier in den Kapillaren der Harnblase ab. Dies induziert eine Entzündungsreaktion und resultiert in dem Krankheitsbild der Bilharziose. Durch die regionale Verbreitung dieses Parasiten sind im mittleren Osten etwa 75% der Harnblasenkarzinome plattenepithelialen Ursprungs [10].

Weiterhin konnte bei antineoplastischen Therapien anderer Tumore eine kanzerogene Wirkung auf die Harnblase nachgewiesen werden. Dazu zählt das Zytostatikum Cyclophosphamid, bei dem eine konsekutive interstitielle Zystitis als dafür ursächliche Nebenwirkung bekannt ist. Durch die prophylaktische Gabe von Mesna (2-Mercaptoethansulfonat-Natrium) wird jedoch der verantwortliche toxische Metabolit Acrolein neutralisiert und für das Urothel unschädlich gemacht. Auch eine externe Strahlentherapie von Organen in topographischer Nähe der Harnblase kann mit einer gewissen zeitlichen Latenz eine kanzerogene Wirkung in der Harnblase entfalten [11, 12].

Neben der Pathogenese durch Karzinogene wird zusätzlich eine genetische Disposition diskutiert [13]. Gegenstand der Forschung ist dabei der *Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3)* sowie die *N-Acetyl-Transferase Enzyme NAT1* und *NAT2*, die im Falle eines Urothelkarzinoms in vermehrter Anzahl exprimiert werden und dabei im Vergleich zum physiologischen Urothel Mutationen in ihrer Struktur aufweisen [14-16].

### 1.3 Klassifikation

Mit über 95% stellt die urotheliale Differenzierung die weitaus häufigste Tumorentität im europäischen Raum dar. 3% fallen auf eine plattenepitheliale und etwa 2% auf eine adenoide Differenzierung. Des Weiteren können in seltenen Fällen Urachuskarzinome, kleinzellige Karzinome und neuroendokrine Tumore vorkommen [17]. Insgesamt besteht das der Basalmembran aufliegende Urothel aus drei verschiedenen Zelltypen. Von luminal bis basal handelt es sich dabei um die Superfizial-, Intermediär und Deckzellen. Die Basalmembran setzt sich weiter in die *Lamina propria* fort, die sich aus Bindegewebe und einem Gefäßplexus zusammensetzt. Anschließend folgt die *Tunica muscularis* mit dem *Musculus detrusor vesicae* und das umgebende perivesikale Fettgewebe [18]. Je nach Differenzierung werden die Harnblasenkarzinome nach Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO) von 2004/2016 in die genetisch stabilen *low grade (LG)*, beziehungsweise die genetisch instabilen *high grade (HG)* Karzinome unterteilt. Die Klassifikation von 1973, die die Differenzierungsgrade G1-3 unterscheidet, wurde somit im klinischen Alltag weitestgehend abgelöst [19]. Da jedoch die Risikoscores auf Grundlage der Graduierung von

1973 basieren, wird empfohlen, diese parallel zu benennen. Abhängig von einer muskulären Invasion wird in nicht-muskelinvasive und muskulinvasive Harnblasenkarzinome unterschieden [20]. Zu Ersteren zählen die auf die Mukosa (Ta) und Submukosa (T1) begrenzten Karzinome sowie das intraepitheliale *Carcinoma in situ* (Cis). Beim *Carcinoma in situ* lässt sich stets eine *high grade* Differenzierung nachweisen. Aufgrund der genetischen Instabilität besteht ein hohes Rezidiv- sowie Progressionsrisiko [21, 22]. Detrusormuskulatur infiltrierende T2 Tumore, perivesikales Fettgewebe infiltrierende T3 Tumore sowie organüberschreitende T4 Tumore werden der Gruppe der muskulinvasiven Harnblasenkarzinome zugeordnet (Tabelle 1). Je nach Tiefe der neoplastischen Infiltrationen lässt sich in Kombination mit der lymphogenen Infiltration und Metastasierung das Stadium nach der *Union for International Cancer Control (UICC)* bestimmen (Tabelle 2).

**Tabelle 1: TNM-Klassifikation – Urothelkarzinom der Harnblase**

Klassifikation	Tumor
Tx	Primärtumor kann nicht bewertet werden
T0	Kein Nachweis von Primärtumor
Ta	Nicht-muskelinvasives papilläres Karzinom
Tis	<i>Carcinoma in situ</i>
T1	Tumor dringt in subepitheliales Bindegewebe ein
T2	Tumor dringt in <i>Muscularis propria</i> ein <ul style="list-style-type: none"> <li>• T2a: Innere Hälfte der <i>Lamina muscularis</i></li> <li>• T2b: Äußere Hälfte der <i>Lamina muscularis</i></li> </ul>
T3	Tumorinfiltration ins perivesikale Fettgewebe <ul style="list-style-type: none"> <li>• T3a: Mikroskopische Invasion</li> <li>• T3b: Makroskopische Invasion</li> </ul>
T4	Infiltration von Nachbarorganen <ul style="list-style-type: none"> <li>• T4a: Prostatastroma, Samenbläschen, Uterus, Vagina</li> <li>• T4b: Andere Organe, Becken- oder Abdominalwand</li> </ul>
NX	Regionale Lymphknoten können nicht bewertet werden
N0	Keine regionalen Lymphknotenmetastasen
N1	Solitäre Lymphknotenmetastasen: hypogastrisch, obturatorisch, externe iliakale oder prä-sakrale Lymphknoten
N2	Multiple Lymphknotenmetastasen: hypogastrisch, obturatorisch, externe iliakale oder prä-sakrale Lymphknoten
N3	Metastasen der Lymphknoten an der <i>Arteria iliaca communis</i>
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

In Anlehnung an Humphrey et al., 2016 [19].

**Tabelle 2: Stadien des Urothelkarzinoms der Harnblase nach UICC**

UICC-Stadium	T	N	M
Stadium 0a	Ta	N0	M0
Stadium 0is	Tis	N0	M0
Stadium 1	T1	N0	M0
Stadium 2	T2a+b	N0	M0
Stadium 3	T3a+b	N0	M0
Stadium 4	T4a	N0	M0
	T4b	N0	M0
	Jedes T	N1-3	M0
	Jedes T	Jedes N	M1

In Anlehnung an Humphrey et al., 2016 [19].

## 1.4 Klinik

Klinisch apparent wird das Harnblasenkarzinom gehäuft durch eine schmerzlose Makro- oder Mikrohämaturie. Bei Patienten mit gesichertem Harnblasenkarzinom konnten bei ungefähr 78% eine Makrohämaturie und in 14% eine Mikrohämaturie beobachtet werden. Lediglich bei 8% der Patienten konnten keine Erythrozyten im Urin nachgewiesen werden [23]. Weitere unspezifische Symptome sind dysurische Beschwerden sowie ein imperativer Harndrang. Diese sind insbesondere bei Patienten mit *Carcinoma in situ* anzutreffen [24]. In fortgeschrittenen Stadien kann das Harnblasenkarzinom bei Verlegung der ableitenden Harnwege mit konsekutiven Harnstauungen durch Flankenschmerzen oder eine B-Symptomatik mit Gewichtsverlust, Fieber und Nachtschweiß symptomatisch werden. Bei Metastasierung sind außerdem Schmerzen des Skelettsystems möglich [25].

## 1.5 Diagnostik

### 1.5.1 Zystoskopie

#### 1.5.1.1 Allgemein

Die Zystoskopie bildet eine der Grundsäulen in der Diagnostik von Harnblasenkarzinomen im unteren Harntrakt und ist daher unter anderem auch für die Nachsorge von nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinomen unerlässlich. Bei *intermediate*- und *high-risk* Tumoren wird eine regelmäßige lebenslange zystoskopische *Follow Up* Diagnostik empfohlen, da regelmäßig Rezidive auch nach 10 Jahren nicht ungewöhnlich sind [26]. Aufgrund der hohen Rezidiv- und Progressionsrate

wird zunächst ein 3-monatliches Nachsorgeintervall in den ersten 2 Jahren und ein darauffolgendes engmaschiges Nachsorgeprotokoll empfohlen. Dieses ist Tabelle 3 zu entnehmen [27]. Bei *low-risk* Tumoren erfolgt eine Zystoskopie nach 3 und 12 Monaten sowie anschließend jährlich bis zum 5. tumorfreien Jahr [28]. Hierbei wird die Harnblase unter Weißlichtbedingungen (WL) mit einem starren oder flexiblen Zystoskop durchleuchtet. Insbesondere bei Männern bietet sich aufgrund der Anatomie die Verwendung eines flexiblen Zystoskops an, da dies mit einem besseren Patientenkomfort bei gleicher Effektivität und Reduzierung der Morbidität einhergeht [29-31]. Die Validität der Zystoskopie ist abhängig von der Erfahrung des jeweiligen Untersuchers und variiert je nach Literatur mit einer Sensitivität von 62-84% und einer Spezifität von 43-98% [32, 33]. Kompromittiert wird die Sensitivität durch kleine papilläre Karzinome sowie insbesondere das *Carcinoma in situ*, da diese aufgrund ihrer Wachstumseigenschaften visuell leicht zu übersehen sind [22, 32, 34].

### 1.5.1.2 Ergänzende Zystoskopietechniken

Auf über 90% kann die Sensitivität durch die Anwendung einer photodynamischen Diagnostik (PDD) gesteigert werden, bei der ein fluoreszierender Farbstoff (Hexaminolaevulinat) 1-2 Stunden vor Durchführung der Untersuchung in die Harnblase instilliert wird [32]. Dieser reichert sich besonders in den stoffwechselaktiven neoplastischen Zellen an und lässt diese unter der Verwendung von Blaulicht rot fluoreszieren [35, 36]. Durch eine PDD kann die Rate der Residualtumoren zusätzlich um bis zu 20% gesenkt und das rezidivfreie Intervall verlängert werden [22, 37]. Jedoch reichert sich der Farbstoff ebenfalls vermehrt bei Harnwegsinfektion, *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG), beziehungsweise Chemotherapie-Instillation, oder bei vorheriger mechanischer Manipulation, beispielsweise einer transurethralen Resektion der Harnblase (TUR-B), an. Dies führt zu einer erhöhten Rate falsch-positiver Befunde und folglich einer im Vergleich zur Weißlichtzystoskopie eingeschränkten Spezifität von knapp 60% [32, 38, 39]. Durch die Kenntnis der Anamnese des Patienten können erfahrene Untersucher jedoch an die Spezifität der Weißlichtzystoskopie anschließen [40]. Hinzugezogen werden sollte eine PDD nach europäischer Leitlinie bei Verdacht auf ein *high grade* Karzinom inklusive eines *Carcinoma in situ*, multifokalem Tumorbefall, sowie einer positiven Spülzytologie bei unauffälligen zystoskopischen Befund [41]. Nach Empfehlung der S3-Leitlinie, sollte diese zusätzlich bei Verdacht eines Rezidives eines *high grade* Tumors durchgeführt werden [42]. Im Rahmen der reinen routinemäßigen Nachsorge hat die PDD jedoch in den Leitlinien bislang keinen Stellenwert [41, 42]

Zudem gibt es die zystoskopische Erweiterung des *Narrow Band Imaging* (NBI). Hierbei macht man sich die vermehrte Absorption von Hämoglobin unter blauen (440-460nm) und grünen (540-560nm) Wellenlängenbereichen zu Nutze [43]. Wird die Harnblase unter diesen speziellen Lichtbedingungen durchleuchtet, können neoplastische Gewebe aufgrund ihrer verstärkten Durchblutung von physiologischem Gewebe abgegrenzt werden. In Studien konnte durch das NBI die Rezidivrate nach einem Jahr im Vergleich zur konventionellen Weißlichtzystoskopie um 10% bis 20% gesenkt werden [43-45]. Bislang wird das *Narrow Band Imaging* jedoch nur experimentell

angewandt und wird daher zurzeit von der europäischen Leitlinie nicht als Standardverfahren empfohlen [41].

**Tabelle 3: Nachsorgeschema nicht-muskelinvasiver Harnblasenkarzinome**

Risikogruppe/Diagnostik	Zeitpunkt nach TUR-B/Erstdiagnose								
	3 M	6 M	9 M	12 M	2 J	3 J	4 J	5 J	>5 FJ
<b>Niedrigrisiko</b> ( <i>low-risk</i> )									
Zystoskopie	x	-	-	x	x	x	x	x	-
Urinzytologie	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bildgebung	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Intermediärrisiko</b> ( <i>intermediate-risk</i> )									
Zystoskopie	x	x	x	x	2x	2x	1x	1x	1x
Urinzytologie	X	x	x	x	2x	2x	1x	1x	1x
Bildgebung	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hochrisiko</b> ( <i>high-risk</i> )									
Zystoskopie	x	x	x	x	4x	2x	2x	1x	1x
Urinzytologie	x	x	x	x	4x	2x	2x	1x	1x
Bildgebung	x	-	-	-	x	x	x	x	x

(1) bei multifokalem oder das Trigonum befallenden Tumoren.

In Anlehnung an die deutsche S3-Leitlinie zum Harnblasenkarzinom [42].

## 1.5.2 Urinzytologie

### 1.5.2.1 Allgemeines und Durchführung der Zytologie

Die Urinzytologie hat sich aufgrund einer hohen Sensitivität und Spezifität sowie der nicht-invasiven Durchführbarkeit als primäres Verfahren bei der Diagnostik und Nachsorge von Urothelkarzinomen im gesamten Harntrakt etabliert. Im Rahmen der Nachsorge beim nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinom wird die urinzytologische Diagnostik bei *intermediate*- und *high-risk* Tumoren in den gleichen zeitlichen Intervallen wie die Zystoskopie empfohlen und durchgeführt (Tabelle 3). Dies bietet eine essentielle Ergänzung, da insbesondere kleine und flach wachsende Tumore aufgrund ihrer morphologischen Charakteristika zystoskopisch übersehen werden können [46]. Im Rahmen der urinzytologischen Diagnostik werden abgeschilferte Urothelzellen an-

hand von unterschiedlichen Malignitätskriterien mikroskopisch zumeist unter 400-facher Vergrößerung beurteilt. Die mittels Mittelstrahlurin oder Spülzytologie gewonnenen Zellen werden zuvor durch eine Zentrifugation angereichert und auf einem Objektträger mittels Papanicolaou-Farbstoff angefärbt. Diese hat sich aufgrund ihrer Färberesultate als Standardfärbung etabliert [47]. Des Weiteren können die Färbungen Cytocolor®, Testsimplets®, Methylenblau, Hemacolor®, Pappenheim und Sangodiff® verwendet werden [47].

Die Malignitätskriterien beziehen sich insbesondere auf Veränderungen des Zellkerns, die auf einen gesteigerten Zellstoffwechsel neoplastisch veränderter Zellen zurückzuführen sind. Dazu zählen unter anderem eine verschobene Kern-Plasma-Relation zugunsten des Kerns, eine Hyperchromasie mit konsekutivem Transparenzverlust des Zellkerns, eine Grobkörnigkeit des Chromatins, eine unregelmäßige Kernmembran, eine Anisokariozytose sowie eine Prominenz der Nukleolen. Dabei nehmen die Veränderungen mit zunehmender Entdifferenzierung des Tumors zu. Dies ermöglicht eine eindeutige Differenzierung insbesondere zwischen benignen Urothelzellen und entdifferenzierten *high grade* Tumoren, sodass für diese Fälle in Studien Sensitivitäten von über 80% ermittelt werden konnten [48-50]. Da die zytomorphologischen Aberrationen bei *low grade* Tumoren jedoch deutlich schwächer ausgeprägt sind und somit eine Abgrenzung zu benignem Urothel erschwert ist, schwankt die Sensitivität je nach Studie von 40 bis 90% [49-54]. Folglich lassen sich bei negativer Zytologie *low grade* Karzinome nicht sicher ausschließen. Das Vorliegen einer *high grade* Neoplasie ist bei einem normalen zytologischen Befund jedoch sehr unwahrscheinlich [48]. Die Spezifität der urinzytologischen Diagnostik ist je nach Literatur und Differenzierung der Tumore mit 78,5% bis 94% bemessen [49-60]. Bei positivem zytologischem Befund kann daher mit hoher Wahrscheinlichkeit von einem neoplastischen Geschehen innerhalb des Harntraktes ausgegangen werden.

#### 1.5.2.2 Zytologie unter Anwendung der Pariser Klassifikation

Bei der Pariser Klassifikation (*TPS*) handelt es sich um ein international standardisiertes und einheitliches Klassifikationssystem zur urinzytologischen Diagnostik, das von einer Expertengruppe auf dem 18. Internationalen Kongress der Akademie für Zytologie in Paris erarbeitet und 2015 veröffentlicht wurde. Vorrangiges Ziel der Klassifikation stellt neben der Reduzierung atypischer Diagnosen insbesondere die Detektion der genetisch instabilen *high grade* Karzinome dar. Diese sind im Gegensatz zu den gut differenzierten *low grade* Karzinomen aufgrund ihrer auffälligen zytomorphologischen Aberration gut von benignen Urothelzellen zu differenzieren und aufgrund einer hohen Rezidiv- und Progressionsrate von besonderer klinischer Relevanz [61, 62]. Da *low grade* Karzinome aufgrund des oftmals exophytischen Wachstums leicht zystoskopisch detektiert werden können und im onkologischen Verlauf nur in 2% der Fälle ein fortschreitendes invasives Wachstum aufzeigen, werden diese in der Pariser Klassifikation bewusst vernachlässigt [63, 64].

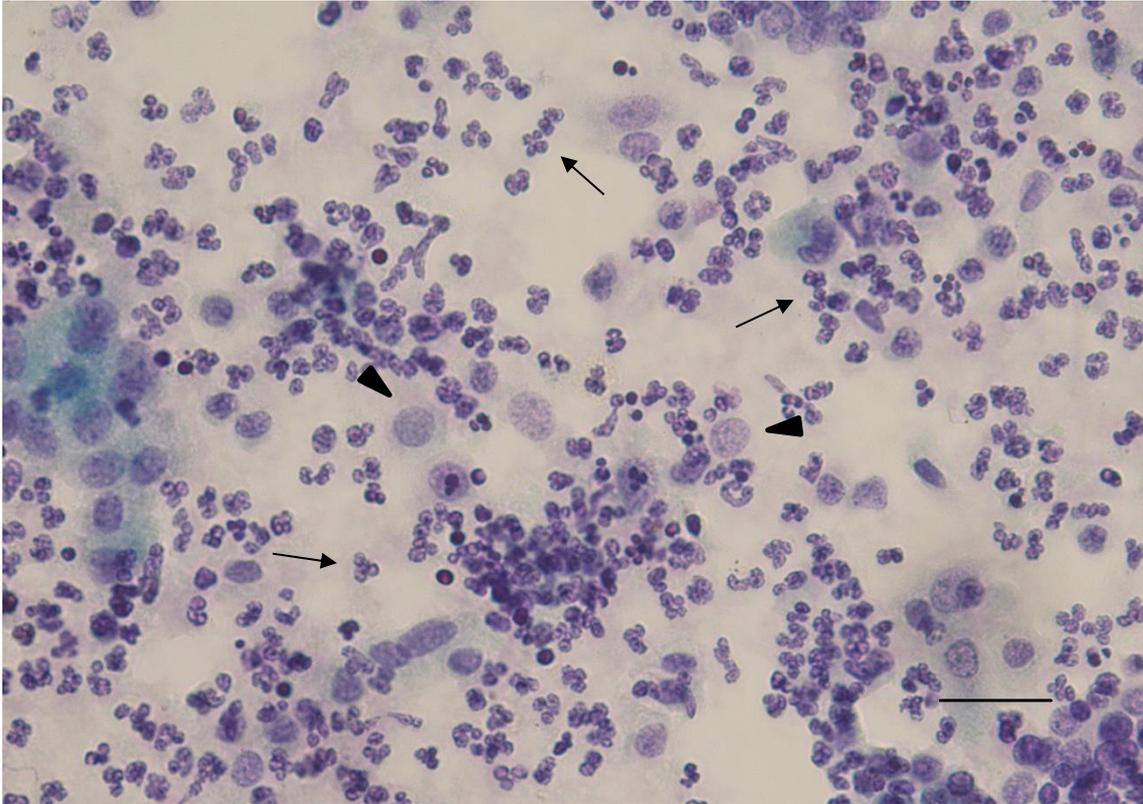
Begutachtet werden die urinzytologischen Proben anhand evidenzbasierter und objektiver Malignitätskriterien, anhand derer die Urothelzellen in sechs verschiedene Diagnosegruppen eingeteilt

werden können. Zu den Malignitätskriterien zählen die Kern-Plasma-Relation, die Hyperchromasie, die Chromatinvergrößerung und die Unregelmäßigkeit der Kernmembran [65]. Mit steigendem Risiko für ein *high grade* Karzinom wird dabei in die Diagnosegruppen „negativ für *high grade* Urothelkarzinom (*NHGUC*)“, „atypische Urothelzellen (*AUC*)“, „Verdacht auf *high grade* Urothelkarzinom (*SHGUC*)“ und „*high grade* Urothelkarzinom (*HGUC*)“ eingeteilt. Proben, die aufgrund einer unbefriedigenden Qualität nicht beurteilt werden können, werden als „nicht diagnostisch (*ND*)“ klassifiziert. Neoplastische Zellen nicht urothelialen Ursprungs werden als „andere maligne Tumoren“ zusammengefasst. *Low grade* Karzinome werden nach Pariser Klassifikation zu den niedriggradigen urothelialen Neoplasien (*LGUN*) zugeordnet. Diese stellt eine Subgruppe der *NHGUC*-Gruppe dar. Die genauen Kriterien, die eine Zuordnung der Diagnosegruppen erlauben, sind in den Tabellen 4-9 definiert. In Studien, in denen die diagnostische Validität der Zytologie unter Anwendung der Pariser Klassifikation reevaluiert wurde, wurde je nach Arbeitsgruppe von einer Sensitivität zwischen 70,5 und 84% und einer Spezifität von 78,5-94% berichtet [49, 50, 54].

**Tabelle 4: Kriterien Pariser Klassifikation: Negativ für *high grade* Urothelkarzinom**

Kategorie	<i>NHGUC</i>
Malignitätsrisiko	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0-10%</li> </ul>
Kriterien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Physiologischer Urin</li> <li>• reaktiv veränderte Zellen: <i>BCG</i>-Instillation, Urozystitis, Urolithiasis, Katheterableitung, intravesikale Chemotherapie, Bestrahlung, postoperativ</li> <li>• niedriggradige Läsionen (<i>LGUN</i>): Papillom, <i>PUNLMP</i> (papilläre urotheliale Neoplasie mit niedrigem Malignitätspotential), <i>low grade</i> Papillom, intraepitheliale <i>low grade</i> Neoplasien</li> </ul>

In Anlehnung an Rosenthal et al., 2016 [65]



**Abbildung 1: Urinzytologisches Präparat: Negativ für *high grade* Urothelkarzinom**, Vergrößerung: 400x, Färbung: Papanicolaou, Maßstab: 25 µm, Befund: Neben physiologischen Urothelzellen (Pfeilspitzen) sind massiv viele Granulozyten (Pfeile) im Präparat zu erkennen [66].

**Tabelle 5: Kriterien Pariser Klassifikation: Atypische Urothelzellen**

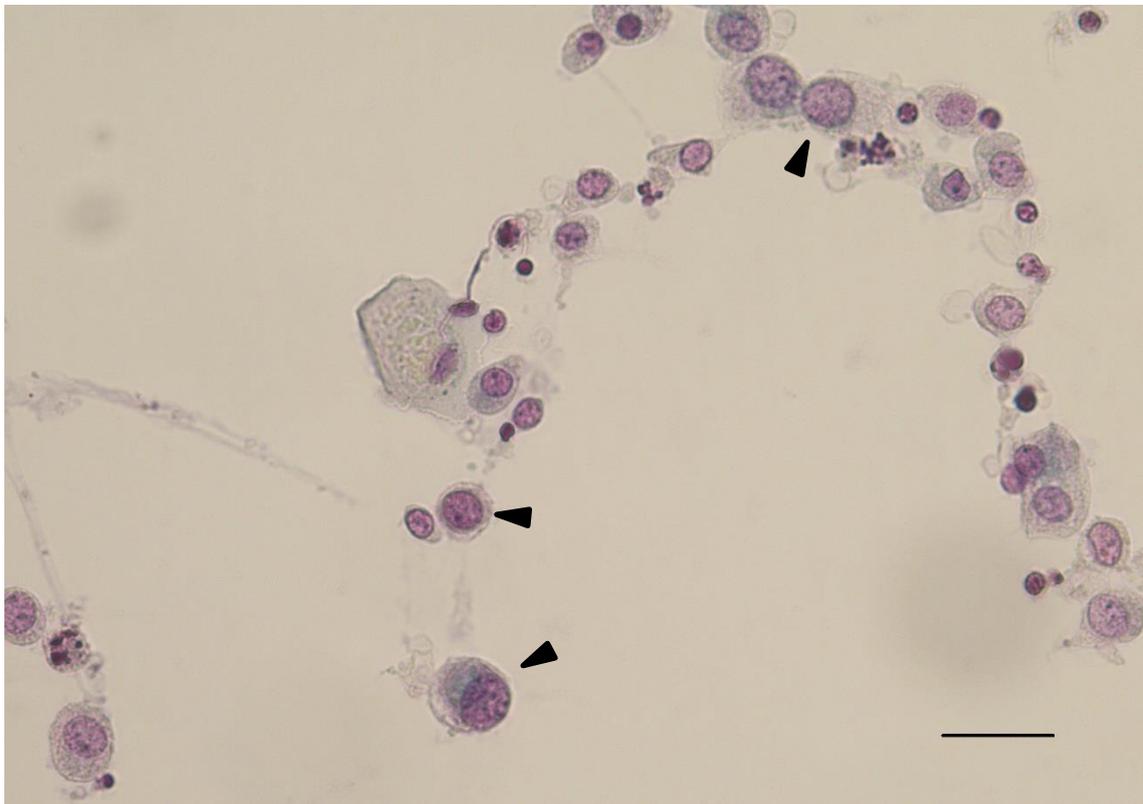
Kategorie	AUC
Malignitätsrisiko	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 8-37%</li> </ul>
Kriterien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kern-Zytoplasma-Relation: &gt;50%</li> <li>• ein weiteres Kriterium (a), b) oder c))               <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Nukleäre Hyperchromasie</li> <li>b) Unregelmäßige Kernmembran</li> <li>c) Unregelmäßiges &amp; grobscholliges Chromatin</li> </ul> </li> </ul>

In Anlehnung an Rosenthal et al., 2016 [65]

**Tabelle 6: Kriterien Pariser Klassifikation: Verdächtig auf *high grade* Urothelkarzinom**

Kategorie	<i>SHGUC</i>
Malignitätsrisiko	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 50-90%</li> </ul>
Kriterien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kern-Zytoplasma-Relation: 50-70%</li> <li>• Nukleäre Hyperchromasie</li> <li>• ein weiteres Kriterium (a) oder b))               <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Unregelmäßige Kernmembran</li> <li>b) Unregelmäßiges &amp; grobscholliges Chromatin</li> </ul> </li> </ul>

In Anlehnung an Rosenthal et al., 2016 [65]

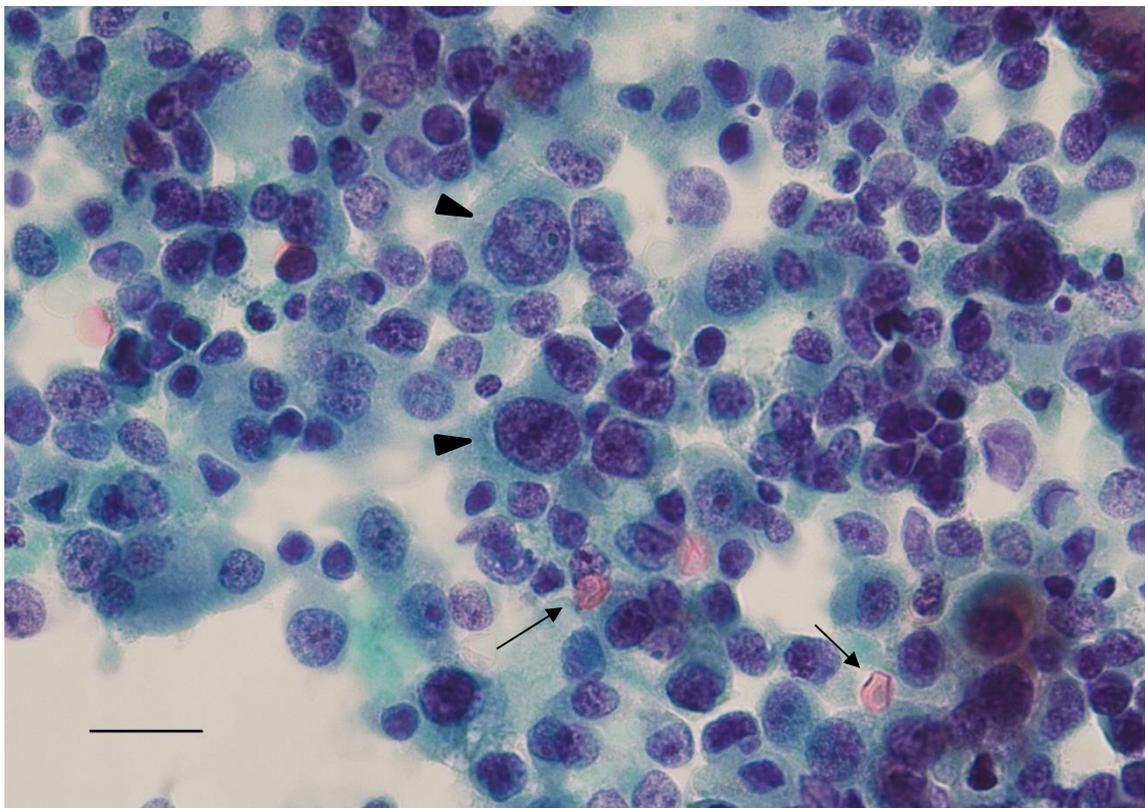


**Abbildung 2: Urinzytologisches Präparat: Verdächtig für *high grade* Urothelkarzinom**, Vergrößerung: 400x, Färbung: Papanicolaou, Maßstab: 25 µm, Befund: Die auf dem Präparat abgebildeten Urothelzellen (Pfeilspitzen) erfüllen die Kriterien eines *SHGUC*-Befundes. Zu sehen sind eine Verschiebung der Kern-Zytoplasma-Relation zwischen 50% und 70%, nukleäre Hyperchromasien sowie ein unregelmäßiges und grobscholliges Chromatin [66].

**Tabelle 7: Kriterien Pariser Klassifikation: *High grade* Urothelkarzinom**

Kategorie	HGUC
Malignitätsrisiko	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &gt;90%</li> </ul>
Kriterien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kern-Zytoplasma-Relation: &gt;70%</li> <li>• Nukleäre Hyperchromasie</li> <li>• Unregelmäßige Kernmembran</li> <li>• Unregelmäßiges &amp; grobscholliges Chromatin</li> </ul>

In Anlehnung an Rosenthal et al., 2016 [65]



**Abbildung 3: Urinzytologisches Präparat: *High grade* Urothelkarzinom**, Vergrößerung: 400x, Färbung: Papanicolaou, Maßstab: 25 µm, Befund: Die auf dem Präparat abgebildeten Urothelzellen (Pfeilspitzen) weisen charakteristische Veränderung eines entdifferenziertes *high grade* Karzinoms auf. Zu sehen sind eine Verschiebung der Kern-Zytoplasma-Relation über 70%, nukleäre Hyperchromasien, unregelmäßige Kernmembranen sowie unregelmäßiges, grobscholliges Chromatin. Zusätzlich befinden sich Erythrozyten (Pfeile) auf dem Präparat [66].

**Tabelle 8: Kriterien Pariser Klassifikation: Andere maligne Tumore und Metastasen**

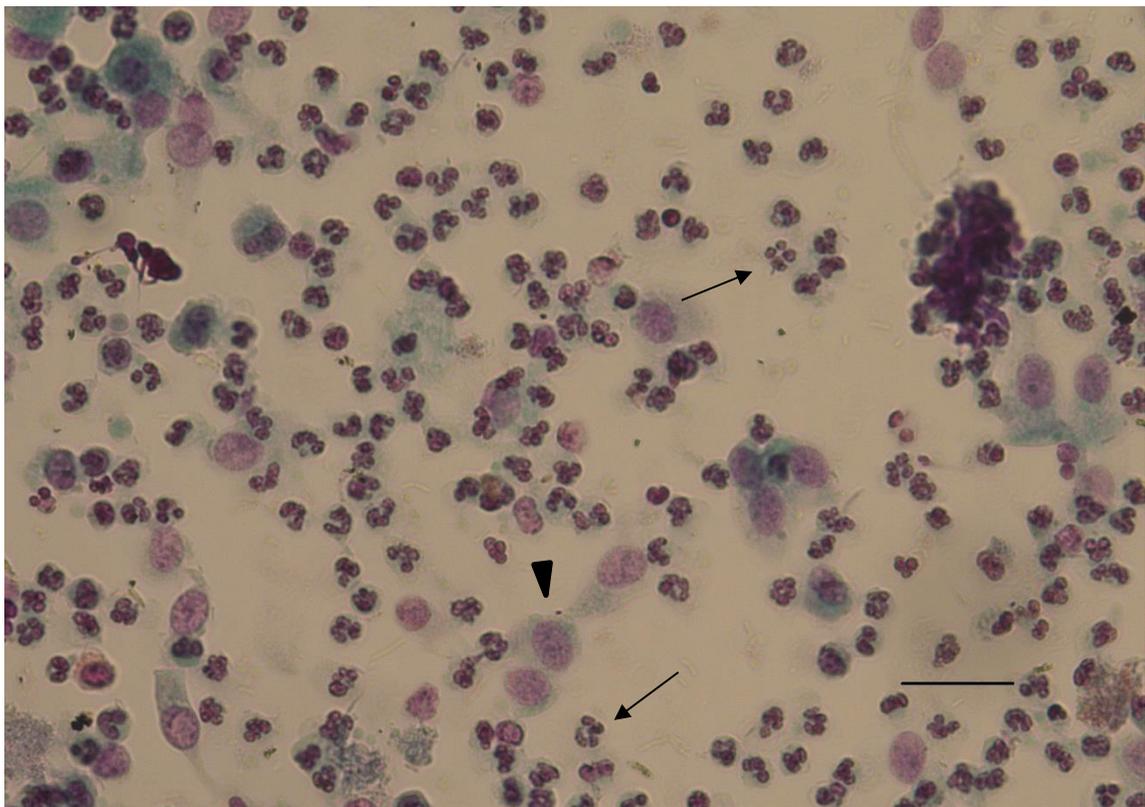
Kategorie	Andere maligne Tumore und Metastasen
Malignitätsrisiko	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &gt;90%</li> </ul>
Kriterien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nicht-urotheliale Primärtumore: Plattenepithelkarzinom, Adenokarzinom, neuroendokrine Tumore, Leiomyosarkom</li> <li>• Tumorausläufer benachbarter Organe: Rektum, Gebärmutter, Prostata</li> <li>• Metastasen</li> </ul>

In Anlehnung an Rosenthal et al., 2016 [65]

**Tabelle 9: Kriterien Pariser Klassifikation: Nicht diagnostisch**

Kategorie	ND
Malignitätsrisiko	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;5%</li> </ul>
Kriterien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Geringe Urinprobenvolumen (&lt;30ml nativer Urin)</li> <li>• &lt;20 Zellen in 10 Gesichtsfeldern (10-20 Zellen: befriedigend aber limitiert aufgrund niedriger Zellularität)</li> </ul>

In Anlehnung an Rosenthal et al., 2016 [65]



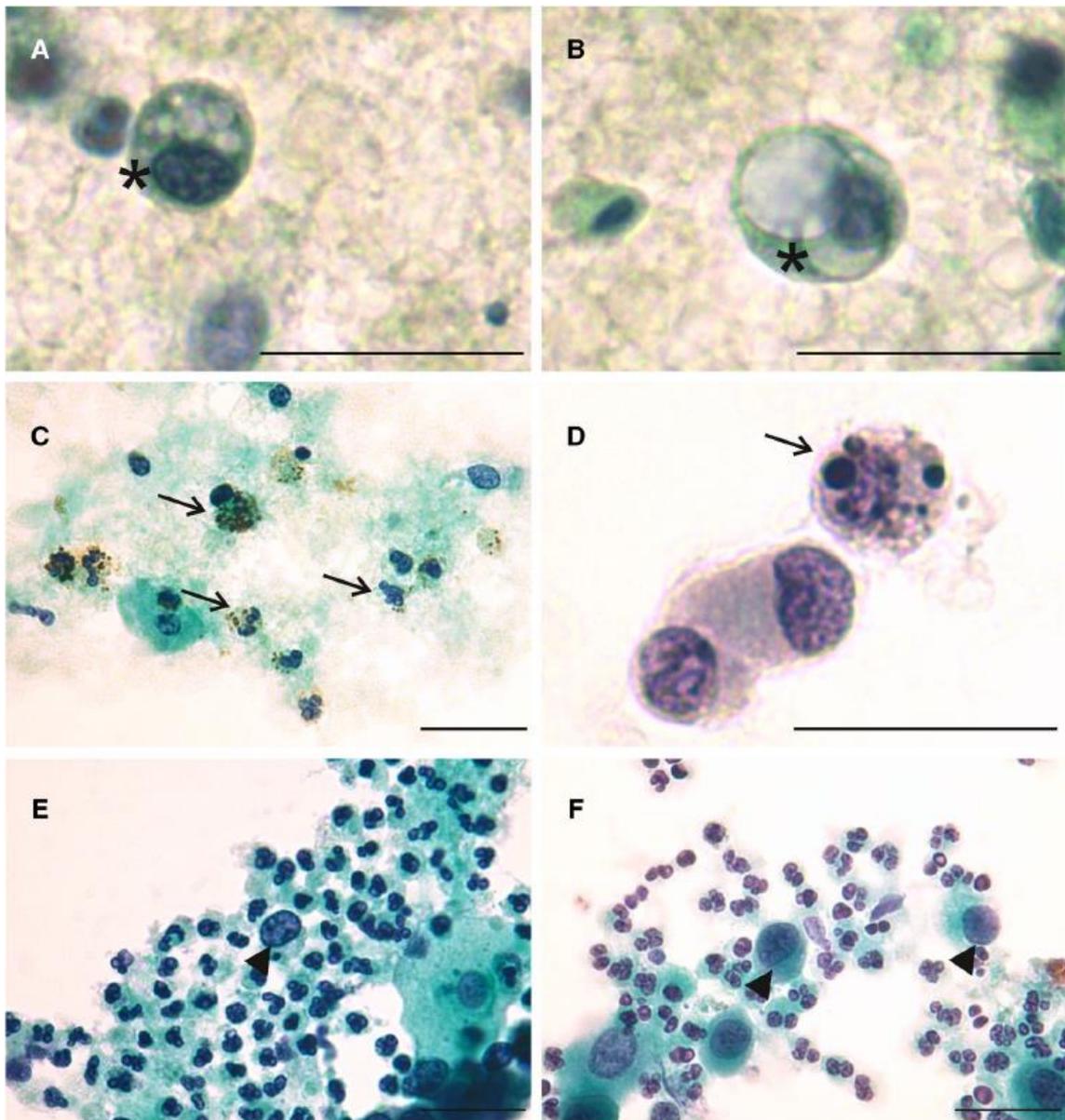
**Abbildung 4: Urinzytologisches Präparat: Entzündliche Granulozytose**, Vergrößerung: 400x, Färbung: Papanicolaou, Maßstab: 25 µm, Befund: Neben multiplen abgebildeten Granulozyten (Pfeile) sind physiologische Urothelzellen (Pfeilspitzen) zu erkennen, die der *NHGUC*-Gruppe zuzuordnen sind [66].

### 1.5.2.3 Einflussfaktoren der urinzytologischen Diagnostik

Die Urinzytologie ist abhängig von einigen Einflussfaktoren, welche die diagnostische Validität kompromittieren können. Unter anderem können reaktiv veränderte Urothelzellen aufgrund einer Harnwegsinfektion, Urolithiasis, mechanischen Manipulation, wie der transurethralen Resektion der Harnblase, oder einer intravesikalen Chemo- beziehungsweise Immuntherapie mit *Bacillus Calmette-Guérin* die Validität der Zytologie, aufgrund einer erschwerten Durchführbarkeit, beeinflussen. [55, 67, 68].

### 1.5.2.4 Einflussfaktor *BCG*

*BCG* führt nach Applikation in die Harnblase und Aufnahme in die Zellen zu einer Entzündungsreaktion mit konsekutiver Stimulation inflammatorischer Zellen, wie den Lymphozyten, Granulozyten und Erythrozyten [69]. Die zusätzliche durch die inflammatorische Stressreaktion induzierte reaktive Atypie und Zelldegeneration, zu der eine Vakuolisierung sowie Lyse des Zellkerns gezählt werden, kann neoplastisch veränderte Zellen imitieren und zu einer eingeschränkten Beurteilung der Zytologie führen (Abbildung 5). Weitere morphologische Aberrationen stellen zudem Einschlüsse und Vakuolen im Zytoplasma, eine erhöhte Kern-Plasma Relation sowie hyperchromatische und multiple Nucleoli dar [70, 71]. Diese treten zumeist innerhalb der ersten drei Monate nach Applikation auf und zeigen sich mit zunehmendem Zeitintervall als regredient. In Bezug auf die diagnostische Validität der Zytologie wird in der Literatur von einer Sensitivität von 33% bis 67% und einer Spezifität von 76% bis 95%, bei Patienten mit stattgehabter *BCG*-Therapie, berichtet. Die Auswertung der Zytologien wurde jedoch nicht anhand der Kriterien der Pariser Klassifikation durchgeführt [72, 73].



**Abbildung 5: Urinzytologisches Präparat: Typische urinzytologische Befunde nach stattgehabter BCG-Instillation.** (A, B) Vakuolisierung (Sternchen) des Zytoplasmas. (C, D) Zelluläre Degeneration/Lyse (Pfeile) von Urothelzellen. (E, F) Reaktive Atypie von Urothelzellen und massive Präsenz von Granulozyten. Maßstab = 25 µm [74].

#### 1.5.2.5 Einflussfaktor Mensch

Die Urinzytologie ist aufgrund der subjektiven Durchführung wesentlich von der Erfahrung des Untersuchers abhängig [75]. Insbesondere bei den gut differenzierten *low grade* Tumoren, kann es aufgrund der gering ausgeprägten zytomorphologischen Aberrationen zu einer unterschiedlichen Interpretation zwischen einzelnen Untersuchern kommen. Dies belegt eine Studie um die Arbeitsgruppe von Raitanen et al, die für *low grade* Karzinome in Bezug auf die Interobservervariabilität ein *kappa* von 0,45 ermittelte. Bei den entdifferenzierten *high grade* Tumoren verringerte sich jedoch die Abweichung der Untersucher auf ein *kappa* von 0,67 [53]. Eine Studie, bei der die

Interobservervariabilität unter Anwendung der Pariser Klassifikation bestimmt wurde, ergab jedoch lediglich eine Übereinstimmung von 65%. Zufallsbereinigt ermittelte sich hierbei eine Interobservervariabilität von 0,32 (*kappa*), welche als mäßig zu interpretieren ist [76]. Eine ähnliche Studie um Bakkar et al kam zu ähnlichen Ergebnissen mit einer Übereinstimmung von 31% und einem durchschnittlichen Interobservervariabilität von 0,362 (*kappa*). Zusätzlich wurde in dieser Studie die Interobservervariabilität für die einzelnen Diagnosegruppen der Pariser Klassifikation ermittelt. Hierbei wurde für die *NHGUC*-, *AUC*-, *SHGUC*- und *HGUC*-Gruppe jeweils ein *kappa* von 0,483, 0,178, 0,258 beziehungsweise 0,520 ermittelt [77]. Sahai et al ermittelten hingegen eine moderat bis gute Übereinstimmung [78].

### 1.5.3 Urinmarker

Aufgrund der Limitationen der Urinzytologie wurden zahlreiche Urinmarker zur Diagnostik und Nachsorge von Harnblasenkarzinomen untersucht. Einige Marker wurden von der *Food and Drug Administration (FDA)* zugelassen (Tabelle 10). Im Allgemeinen wird zwischen urin- und zellgebundenen Markern differenziert.

Das Prinzip der uringebundenen Marker besteht aus dem Nachweis von Zellbestandteilen, die bei neoplastischem Wachstum vermehrt freigesetzt werden. Zu diesen zählt der qualitative *Point-of-care BTA* (Blasentumor Assoziiertes Antigen) Stat Test und die beiden quantitativen *Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) BTA-Trak* und *NMP* (Nukleäres Matrix Protein)-22 Tests. Während beim *BTA-Stat/TRAK* Test das von Urothelkarzinomen vermehrt exprimierte Komplement H Faktor ähnliche Protein nachgewiesen wird, handelt es sich beim *NMP-22*-Test um ein nukleäres Protein des Spindelapparates, das von Tumorzellen bei der Apoptose freigesetzt wird [79].

Zellgebundene Marker basieren auf der Auszählung markierter Zellen im Urinausstrich unter besonderen Beleuchtungsbedingungen. Hierzu zählt der *ImmunoCyt*-Test, bei dem spezielle Antigene maligner Zellen durch fluoreszierende Antikörper markiert werden. Weiterhin kann mit Hilfe einer *Fluoreszenz-in-situ Hybridisierung (FISH)* eine intrazelluläre chromosomale Aberration nachgewiesen werden. Dieses Prinzip macht sich der *UroVysion* Test zu Nutze [79].

Eine Stärke der zugelassenen Marker ist die teilweise hohe Sensitivität (Tabelle 10) insbesondere auch bei gut differenzierten *low grade* Karzinomen. Aufgrund einer hohen Störanfälligkeit durch Hämaturie, Urolithiasis, *BCG*-Instillationen, Harnwegsinfektionen oder eine benigne Prostatahyperplasie, welche insbesondere die Spezifität im Vergleich zur Urinzytologie kompromittieren, werden die Marker bislang nicht für den klinischen Alltag von der europäischen- und deutschen Leitlinie empfohlen [80]. Zudem fehlen prospektive Studien, die den kostenintensiven Aufwand der Marker rechtfertigen [81, 82].

**Tabelle 10: Sensitivität und Spezifität einiger von der FDA zugelassenen Urinmarker**

Urinmarker	Sensitivität	Spezifität	Literatur
<i>BTA-Stat</i>	58-69%	73-81%	[83]
<i>BTA-Trak</i>	54-75%	64-82%	[83]
<i>NMP-22</i>	62-75%	70-83%	[83]
<i>UroVysion</i>	65-84%	78-92%	[52]
<i>ImmunoCyt</i>	78-90%	77-87%	[83]

## 1.5.4 Bildgebung

### 1.5.4.1 Indikation initiale Bildgebung

Besteht ein Verdacht auf ein Karzinom der ableitenden Harnwege, wird bei negativem zystoskopischen Befund die Diagnostik um eine computertomographische (CT) Urographie erweitert. Damit kann die Tumorsuche auf den oberen Harntrakt ausgedehnt werden. Insbesondere papilläre Tumore können nach der Applikation von Kontrastmittel als Füllungsdefekt oder bei obstruktivem Wachstum als Harnstauungsniere dargestellt werden [84].

Bei primären *low-* und *intermediate-risk* Tumoren der Harnblase kann auf eine ergänzende Diagnostik aufgrund einer geringen Co-Inzidenz von Neoplasien im oberen Harntrakt von weniger als 3% auf eine CT-Urographie verzichtet werden. Bei *high-risk*, auf der Trigonalleiste lokalisierten und multifokalen Tumoren, sollte jedoch nach Empfehlung der deutschen und europäischen Leitlinie eine Bildgebung des oberen Harntraktes erfolgen, da hierbei das Risiko auf 7,5% für simultane Neoplasien steigt [85, 86].

### 1.5.4.2 Bildgebung im Rahmen der Nachsorge

Im Rahmen der Nachsorge kann bei primären *low-* beziehungsweise *intermediate-risk* Tumoren auf eine routinemäßige Bildgebung verzichtet werden. Nur bei multifokalem oder das Trigonum befallendem Tumornachweis kann eine einmalige Bildgebung nach drei Monaten in Erwägung gezogen werden (Tabelle 3). Bei Tumoren der *high-risk* Kategorie sollte nachfolgend zudem eine jährliche Bildgebung durchgeführt werden [41, 42].

### 1.5.4.3 Weitere Bildgebungsmodalitäten

Bei vorliegenden Kontraindikationen kann gegebenenfalls auf eine Magnetresonanz-Urographie zurückgegriffen werden. Nur im Falle einer fehlenden Verfügbarkeit sollte eine Ausscheidungsurographie durchgeführt werden, da Studien eine Unterlegenheit gegenüber den beiden anderen Methoden nachgewiesen haben [87, 88].

In der Primärdiagnostik kann neben den bereits genannten Methoden auf die Sonographie zurückgegriffen werden. Hierbei können mit geringem diagnostischen Aufwand exophytisch wachsende Tumore der Harnblase sowie der Niere visualisiert werden. Auch ein Harnstau, in Folge eines lokal fortgeschrittenen Tumors, kann mit Hilfe der Sonographie diagnostiziert werden [89].

## 1.6 Risikostratifizierung

Zur Abschätzung des Rezidiv- und Progressionsrisikos nicht-muskelinvasiver Harnblasenkarzinome, kann das Punktesystem der *European Organisation for Research and Treatments of Cancer (EORTC)* verwendet werden (Tabelle 11,12,13). Je nach Relevanz der Auswirkung auf das Risiko wird einzelnen Tumoreigenschaften ein *Score* zugeordnet. Inbegriffen wird hierbei die Anzahl der Tumoren, dessen Größe, der vorherige Tumorbefall, das T-Stadium sowieso das *Grading*. Die Summe ermöglicht die Zuordnung der Patienten zu einer der drei Risikogruppen. Zu diesen zählt die *low*-, *intermediate*- sowie *high-risk* Gruppe. Erstellt wurden die *Scores* auf der Grundlage von insgesamt 2596 Patienten [90]. Nicht in die Berechnungen eingegangen sind jedoch Patienten mit singulärem *Carcinoma in situ* sowie Patienten unter *BCG*-Erhaltungstherapie. Daher wurde ergänzend von der *CUETO (Club Urologico Espaniol de Tratamento Oncologico)* ein Risikokalkulator entwickelt, der die Lücken der *EORTC* schließt [61, 62]. Das Rezidivrisiko ist hierbei im Vergleich zu dem *EORTC* Modell in allen drei Gruppen niedriger. In Bezug auf die Progression ist lediglich in der *high-risk* Gruppe das Risiko erniedrigt. Erklärbar sind diese Unterschiede durch die therapeutischen Auswirkungen der Instillation mit *BCG* [91].

**Tabelle 11: Punktesystem zur Ermittlung der Rezidiv- und Progressionswahrscheinlichkeit nicht-muskelinvasiver Harnblasenkarzinome**

Faktor	Rezidivrisiko	Progressionsrisiko
Anzahl der Tumore		
1	0	0
2-7	3	3
≥ 8	6	3
Tumordurchmesser		
< 3 cm	0	0
≥ 3 cm	3	3
Vorangegangene Rezidivrate		
Primärtumor	0	0
≤ 1 Rezidiv/Jahr	2	2
> 1 Rezidiv/Jahr	4	2
Kategorie		
Ta	0	0
T1	1	4
Begleitendes <i>pTis</i>		
Nein	0	0
Ja	1	6
<i>Grading</i> (WHO 1973)		
G1	0	0
G2	1	0
G3	2	5
Gesamtscore	0-17	0-23

In Anlehnung an Sylvester et al., 2006 [90].

**Tabelle 12: Rezidivwahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der Gesamtsumme**

Rezidivscore	Wahrscheinlichkeit eines Rezidives in 1 Jahr % (95%-KI)	Wahrscheinlichkeit eines Rezidives in 5 Jahren % (95%-KI)
0	15 (10-19)	31 (24-37)
1-4	24 (21-26)	46 (42-49)
5-9	38 (35-41)	62 (58-65)
10-17	61 (55-67)	78 (73-84)

In Anlehnung an Sylvester et al., 2006 [90].

**Tabelle 13: Progressionswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der Gesamtsumme**

Progressionsscore	Wahrscheinlichkeit der Progression in 1 Jahr % (95%-KI)	Wahrscheinlichkeit der Progression in 5 Jahren % (95%-KI)
0	0,2 (0-0,7)	0,8 (0-1,7)
2-6	1 (0,4-1,6)	6 (5-8)
7-13	5 (4-7)	17 (14-20)
14-23	17 (10-24)	45 (35-55)

In Anlehnung an Sylvester et al., 2006 [90].

## 1.7 Therapie

### 1.7.1 Therapie nicht-muskulinvasiver Harnblasenkarzinome

#### 1.7.1.1 Transurethrale Resektion von Blasentumoren (*TUR-B*)

Bei hochgradigem Verdacht auf malignes Wachstum in der Harnblase kann die Zystoskopie mit einem starren Zystoskop unter Narkose in Resektionsbereitschaft im Rahmen einer transurethralen Resektion zur histologischen Sicherung durchgeführt werden. Hierbei kann mit Hilfe einer mono- oder bipolaren Schlinge tumorsuspektes Gewebe abgetragen werden, um von der Pathologie aufgearbeitet zu werden. Indiziert ist eine *TUR-B* bei tumorsuspekten Befunden in der Umgebung, *high grade* Urothelkarzinom in der Urinzytologie, einer suspekten Zystoskopie und einer routinemäßigen Kontrolle nach dem Induktionszyklus einer intravesikalen *BCG*-Therapie [41]. Bei auf die Mukosa (Ta) und Lamina propria (T1) beschränkten Tumoren, stellt die *TUR-B* dabei einen kurativen Therapieansatz dar. Wenn es die Größe des Tumors erlaubt, sollte das Ziel sein, den Tumor *in toto* zu resektieren. Andernfalls erfolgt eine fraktionierte Resektion. Dabei sollte nach

Empfehlung der aktuellen europäischen und deutschen Leitlinie bis in die Detrusormuskulatur reseziert werden, da in Studien bei einem Nachweis von Muskulatur in der entnommenen Probe, eine Verbesserung des *Stagings* und eine Reduzierung der Rate an Residual- und Rezidivtumoren nachgewiesen werden konnte. Zudem ist die vollständige Beschreibung des endurologischen Befunds, die die Lokalisation sowie die Anzahl und Größe der Tumoren umfasst, für eine risikoadaptierte Nachsorge von entscheidender Bedeutung [41, 42, 92, 93].

Bei *low-risk* Tumoren, wie einer papillären *low grade* Neoplasie, ist eine zystoskopische Nachbehandlung ausreichend. Bei *intermediate-* sowie *high-risk* Tumoren, zu denen unter anderem das Ta *high grade* und alle T1 Tumoren gezählt werden, wird aufgrund der hohen Rate an Residual- und Rezidivtumoren eine Nachresektion innerhalb von 2-6 Wochen empfohlen. Zudem sollte bei Patienten mit initialer inkompletter Resektion, sowie ein Fehlen von Detrusormuskulatur im Resektat (außer bei *pTis* und *pTa low grade* Tumore), eine Nachresektion vorgenommen werden [41, 42, 94, 95].

### 1.7.1.2 Intravesikale Instillationstherapien

Eine intravesikale Instillationstherapie der Harnblase wird bei nicht-muskelinvasivem Harnblasenkarzinom im Anschluss an die transurethrale Resektion durchgeführt. Dabei werden unterschiedliche Therapieregime verwendet, die an die Risikoklassifizierung der *EORTC* angepasst sind, und vor allem der Senkung der Rezidivrate dienen [96, 97]. In einigen Studien konnten auch Auswirkungen auf die Progression nachgewiesen werden [98-100].

### 1.7.1.3 Intravesikale Chemotherapie

Die intravesikale Chemotherapie kann mit den Zytostatika Mitomycin, Epirubicin und Pivarubicin durchgeführt werden, die im Hinblick auf die Senkung der Rezidivrate gleichwertige Therapieergebnisse zeigen. In Deutschland hat sich vor allem die Verwendung von Mitomycin etabliert [97]. Unterschieden wird bei der intravesikalen Chemotherapie zwischen einer Frühinstillation und einer Erhaltungstherapie. Bei der Frühinstillation sollte innerhalb von 6 Stunden nach Durchführung einer *TUR-B* eine zweistündige Chemoinstillation erfolgen. Hierdurch werden die durch die mechanische Manipulation frei zirkulierende Tumorzellen abgetötet. Das Rezidivrisiko kann hiermit um 14% gesenkt werden [96, 97].

Eine einmalige Frühinstillation ist bei *low-risk* Tumoren in Anbetracht des vergleichsweise geringen Rezidiv- und Progressionsrisikos und unter Abwägung etwaiger Nebenwirkungen ausreichend [42]. Bei *intermediate-* und *high-risk* Tumoren sollte, sofern keine intravesikale Immuntherapie geplant wird, eine Erhaltungstherapie angeschlossen werden. Hierbei konnte in Studien eine Senkung der Rezidivrate gezeigt werden, wenn diese insgesamt für ein Jahr fortgeführt wurde. Eine Gabe über ein Jahr hinaus konnte keinen zusätzlichen Benefit erbringen [101-103].

#### 1.7.1.4 Intravesikale Immuntherapie

Die intravesikale Immuntherapie mit *Bacillus Calmette-Guérin*, einem attenuierten Stamm des *Mycobacterium Bovis* wird seit mehr als 30 Jahren in der Behandlung des nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinoms erfolgreich eingesetzt. Benannt ist BCG nach den Franzosen Albert Calmette (1863-1933) und Camille Guérin (1872–1961), wobei die antitumorale Wirkung auf der Grundlage einer intravesikal induzierten Inflammation zu erklären ist [104].

#### 1.7.1.5 Wirkmechanismus einer Therapie mit BCG

Trotz des langjährigen etablierten Gebrauchs im klinischen Alltag ist die Wirkung von BCG noch nicht vollständig aufgeschlüsselt. Es wird angenommen, dass BCG zunächst mittels Antigen 85 und *Fibronectin-Attachment-Protein (FAP)* an das Fibronectin des Urothels bindet [105-109]. Es ist umstritten, ob und wie BCG in benigne und maligne Urothelzellen gelangen kann. Vermutet wird zum einen jedoch die Integrin vermittelte Aufnahme, wie es bei uropathogenen *Escherichia Coli (UPEC)* beschrieben wurde. Aufgenommen in die Zelle, sind diese in der Lage einen erheblichen Zellschaden anzurichten [110, 111]. Zum anderen gibt es die Theorie, die eine Internalisierung mittels Phagozytose beschreibt [112]. Eine Erklärung für eine verstärkte Aufnahme in die neoplastischen veränderten Zellen lieferte eine Arbeitsgruppe um Redelman-Sidi und Kollegen. Diese machten eine verringerte *Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten-Expression (PTEN)* und onkogene Aktivierung von RAS- und PAK1 für eine verstärkte Makropinozytose und konsekutiv erhöhte BCG-Aufnahme verantwortlich [113].

Anschließend erfolgt eine Reaktion sowohl des angeborenen als auch adaptiven Immunsystems. Nach der Aktivierung der Urothelzellen und Antigen-präsentierenden Zellen (APC), werden Zytokine und Chemokine freigesetzt, zu denen unter anderem Interleukin-6, Interleukin-8, Granulozyten Makrophagen Kolonie stimulierender Faktor (*GM-CSF*) und der Tumor Nekrose Faktor (*TNF*) gehören [114-116]. Konsekutiv werden Immunzellen angelockt, bei denen es sich insbesondere um Neutrophile, Monozyten, Makrophagen, T-Zellen, B-Zellen und natürliche Killerzellen (*NK*) handelt [114, 117-123]. Neutrophile können dabei als antitumorale Effektorzellen fungieren, da sie zur Phagozytose fähig sind, proapoptische Faktoren wie den *TNF relaxed apoptosis factor (TRAIL)*, sowie lytische Enzyme mit antimikrobiellem Potential freisetzen können [124-127]. Zytotoxische Fähigkeiten besitzen zudem die CD-8 positiven T-Zellen, die Makrophagen und natürliche Killerzellen. Letztere eliminieren Tumorzellen auf antigenunabhängige Weise [118, 123, 128-130].

Das adaptive Immunsystem wird durch die Präsentation von BCG-Antigenen auf der Zelloberfläche von Urothelzellen und Antigen-präsentierenden Zellen mittels *MHC-Klasse II* aktiviert [131-133]. Diese interagieren mit CD-4 positiven T-Zell-Rezeptoren, die eine Aktivierung und Differenzierung primärer T-Helfer-1-Zellen initiieren. Diese wiederum schaffen mittels Interferon (IFN) gamma ein Milieu, das die Aktivierung der zytotoxischen CD-8 positiven Lymphozyten fördert [123, 134].

### 1.7.1.6 Indikation für eine Therapie mit *BCG*

Indiziert ist nach der deutschen S3-Leitlinie eine Durchführung der intravesikalen Immuntherapie bei Patienten, die der *intermediate*- und *high-risk* Gruppe angehören [42]. Durch die Instillation kann das Rezidivrisiko im Vergleich zu einer alleinigen *TUR-B* im Gegensatz zu einer Kombination mit anschließender intravesikalen Chemotherapie signifikant verringert werden [98, 135-139]. Bedingung für den Vorteil gegenüber anderen Behandlungsformen ist jedoch die Durchführung als Erhaltungstherapie über mindestens ein Jahr [98]. Bei *high-risk* Patienten konnte ein zusätzlicher Nutzen festgestellt werden, wenn die Erhaltungstherapie über insgesamt drei Jahre fortgeführt wurde [140]. Die Auswirkungen auf die Progressionsrate unter *BCG* wird kontrovers diskutiert. Während einige Arbeitsgruppen einen Vorteil unter *BCG*-Therapie detektieren konnten, wurde bei anderen lediglich der Vorteil bezüglich der Senkung der Rezidivrate unterstrichen. Der Metaanalyse von Sylvester et al folgend, kann das Risiko, eine Progression in ein muskelinvasives Stadium zu erleiden, um 27% gesenkt werden [98-100].

Als Applikationsintervall gilt nach Empfehlung der S3-Leitlinie eine sechswöchentliche Induktionstherapie mit jeweils einmal wöchentlichen Instillationen und anschließenden dreiwöchigen Erhaltungszyklen, ebenfalls mit wöchentlichen Instillationen nach 3, 6, 12, 18, 24, 30 und 36 Monaten [42]. Aufgrund diverser Nebenwirkungen muss die Therapie jedoch oftmals schon vorzeitig abgebrochen werden [141]. Zu den häufigsten lokalen Nebenwirkungen zählen die Zystitis, Pollakisurie und Makrohämaturie. Systemische Nebenwirkungen umfassen ein allgemeines Unwohlsein, Fieber und selten eine pulmonale Infektion beziehungsweise Sepsis, die einen Abbruch der Therapie erzwingen [142]. Maßnahmen zur Abmilderung der Nebenwirkungen, wie eine Reduzierung der Dosis oder die gleichzeitige Gabe eines Antibiotikums, werden aufgrund eines geringer erwarteten Therapieerfolgs nicht empfohlen [42, 140].

Zu den in Europa zugelassenen *BCG*-Stämmen gehören das *BCG-medac*®, *OncoTICE*® und *ImmunoCyst*®, bei denen allesamt keine relevanten Vorteile in Bezug auf die Wirksamkeit festgestellt werden konnten [100].

Um das Ansprechen der Therapie zu überprüfen, empfiehlt die europäische Leitlinie eine *TUR-B* mit Entnahme einer Probe nach Abschluss des Induktionszyklus und einer anschließenden sechswöchigen Pause [41]. Wird hierbei ein Frührezidiv, beziehungsweise eine Tumorpersistenz diagnostiziert, ist eine radikale Zystektomie mit Harnableitung empfohlen [143]. Befindet der Patient sich in einem inoperablen Stadium oder lehnt er die Operation ab, kann eine erneute *TUR-B* mit adjuvanter Radiochemotherapie durchgeführt werden [144].

## 1.7.2 Therapie muskelinvasiver Harnblasenkarzinome

Sobald das Harnblasenkarzinom die Detrusormuskulatur infiltriert hat, ist eine radikale Zystektomie mit pelviner Lymphadenektomie als kurativer Therapieansatz anzustreben, solange der Tumor noch nicht fernmetastasiert ist [42]. Hierbei werden beim Mann neben der Harnblase zusätzlich Prostata und Samenbläschen reseziert. Bei der Frau werden zusätzlich Uterus und Adnexe

und je nach Tumorausdehnung auch die Vaginalvorderwand entfernt [145]. Anschließend kommen je nach Verfassung und Compliance des Patienten eine kontinente oder inkontinente Harnableitung in Frage. Zu den kontinenten Harnableitungen zählt die orthotrop angelegte, aus Ileum geformte Neoblase, sowie der Mainz-Pouch, bei dem die Katheterisierung über den Bauchnabel erfolgt. Inkontinente Methoden sind das Ileumconduit aus terminalem Ileum mit permanentem Abgang von Urin über den rechten Unterbauch, sowie die Ureterokutaneostomie [146].

Neben muskelinvasiven Harnblasenkarzinomen stellen rezidivierende nicht-muskelinvasive *high grade* Karzinome, Tumorpersistenz trotz *BCG*-Immuntherapie (*BCG*-Versager), endoskopisch nicht sanierbare Tumore, sowie rezidivierende nicht beherrschbare Blutungen in einer palliativen Situation eine Indikation zur radikalen Zystektomie dar [41, 147-151]. Bei pelviner Lymphknotenmetastasierung sowie lokal fortgeschrittenen Tumoren (>pT3) sollte eine Chemotherapie mit 2-4 Zyklen Gemcitabin und Cisplatin anschlossen werden. Diese Zytostatikakombination stellt ebenfalls im Rahmen eines fortgeschrittenen Karzinoms mit Fernmetastasierung eine palliative Therapieoption dar [42]. Hierbei werden in der Erstlinientherapie 4-6 Zyklen dieses Therapieregimes empfohlen [42, 152]. Bei Kontraindikationen gegen Cisplatin kann auf eine Kombination von Gemcitabin und Carboplatin zurückgegriffen werden. Diese ist jedoch im Kontext der medialen Gesamtüberlebenszeit unterlegen [153]. Ebenfalls zugelassen bei einer Cisplatin Unverträglichkeit ist eine Behandlung mit den Checkpoint-Inhibitoren Atezolizumab und Pembrolizumab, die gegen *programmed death-ligand (PD)-L1* beziehungsweise *PD-1* gerichtet sind. Voraussetzung für die Erstlinientherapie ist jedoch ein positiver *PD-L1* Status. Neben allgemeinen Nebenwirkungen wie Fatigue, Diarrhoe und Pruritus, muss jedoch auch über die möglicherweise letal verlaufenden autoimmunvermittelten Nebenwirkungen aufgeklärt werden [154-156].

In der Zweitlinientherapie wird ein Einsatz der Checkpoint Inhibitoren unabhängig des *PD-L1* Status empfohlen [42]. Studien konnten hierbei eine signifikante Überlegenheit gegenüber Zytostatika-basierten Chemotherapien zeigen [42, 157, 158].

## 2. Zielsetzung

Die Instillationstherapie mit *BCG* stellt einen wesentlichen Baustein der Therapie bei Patienten mit einem nicht-muskelinvasiven *high-risk* Harnblasenkarzinom dar. Aufgrund der konsekutiv ausgelösten sterilen Entzündungsreaktion können jedoch Urothelzellen morphologischen Aberrationen unterliegen [70, 71]. Die Herausforderung für die Urinzytologie besteht darin, reaktiv veränderte Zellen von neoplastischen Zellen zu unterscheiden. Trotz der erfolgreichen Durchführung der Immuntherapie mit *BCG* seit über 30 Jahren, gibt es bis jetzt wenige Studien in der Literatur, die die diagnostische Validität der Urinzytologie nach Durchführung der Instillation unter konsistenter Anwendung der Pariser Klassifikation untersuchen.

Daher ermittelten wir die Sensitivität, die Spezifität und den positiven sowie negativen prädikativen Wert der Zytologie bei Patienten nach Induktions- oder Erhaltungstherapie mit *BCG*. Da die Rolle der *SHGUC*-Gruppe der Pariser Klassifikation nicht abschließend geklärt ist, führten wir die Berechnung unter Berücksichtigung verschiedener *Cutoffs* durch. Als zusätzlicher Indikator für die diagnostische Validität wurde die Interobservervariabilität bestimmt.

Des Weiteren wurde ein möglicher direkter Einfluss des Abstands zwischen letzter Instillation und Entnahme der urinzytologischen Probe auf die diagnostische Qualität der Zytologie untersucht. Dazu wurde die Kohorte nach einem Zeitraum von 100 Tagen in zwei Gruppen aufgeteilt.

Neben morphologischen Aberrationen wie der reaktiven Atypie sowie Zeichen einer Zelldegeneration, lassen sich nebenbefundlich nach *BCG*-Instillation unter dem Mikroskop regelhaft Lymphozyten, Granulozyten, Erythrozyten sowie Bakterien diagnostizieren [70, 71]. Da diese oftmals numerisch die zu begutachtenden urothelialen Zellen übertreffen, untersuchten wir zusätzlich in der Studie, ob dies mit einer vermehrten Abweichung vom histopathologischen Befund vergesellschaftet ist.

Abschließend wurde sich der Frage der Nachsorge von Patienten mit falsch-positiver Zytologie angenommen. Dazu wurde bei Patienten, bei denen die Zytologie ein *HGUC* gezeigt, die Biopsie jedoch einen negativen Befund ergeben hat, der onkologische Verlauf dieser Patienten untersucht, soweit dieser verfügbar war. Hierdurch konnte eine Aussage über das Risiko eines Rezidives in dieser Konstellation getroffen werden.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Patientenkollektiv und Studiendesign

In die Studie wurden retrospektiv alle Patienten gescreent, die im Zeitraum von Oktober 2011 bis Mai 2018 aufgrund eines nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinoms an der Urologischen Klinik der Universität München einer *TUR-B* und simultanen Zytologie unterzogen wurden. Eingeschlossen wurden lediglich die Patienten, die ein *high grade* Tumor in ihrer onkologischen Historie aufwiesen und aufgrund dessen eine Induktions- oder Erhaltungstherapie mit *Bacillus Calmette-Guérin* erhalten haben. Ausgeschlossen werden mussten Patienten, bei denen die Spülzytologie aufgrund unzureichender Qualität und mangelnden urothelialen Zellen nicht begutachtet werden konnte. Zudem nicht berücksichtigt wurden sämtliche Tumore nicht urothelialen Ursprungs. Die *TUR-B* erfolgte in Anlehnung an die Leitlinie zur Überprüfung des Therapieerfolgs nach *BCG*-Induktionszyklus, *high grade* Befund in der Urinzytologie, Hinweisen eines Tumors in der Bildgebung oder aufgrund verdächtiger Areale bei der Zystoskopie im Rahmen der Nachsorge [41]. Die Entnahme der Biopsien erfolgte mittels starren Zystoskops entweder unter photodynamischen oder Weißlicht Bedingungen. Für die *PDD* wurde entweder fluoreszierenden 5-Aminolävulinsäure oder Hexyl-Aminolävulinsäure verwendet. Makroskopisch suspekte Befunde wurden dabei entweder mono- oder bipolar reseziert. Bei unauffälliger Harnblase wurden standardisierte Biopsien gewonnen. Der histopathologische Befund wurde in Anlehnung der *WHO* von 2004 und 2016 anhand des Tumor (T), Lymphknoten (N) und Metastasen (M) klassifiziert [19]. Die Datensätze der Patienten wurden irreversibel anonymisiert. Die Studie wurde nach den Prinzipien der Deklaration von Helsinki und deren Aktualisierungen durchgeführt und vom Ethikkomitee freigegeben.

**Tabelle 14: Einschluss- und Ausschlusskriterien der Studie**

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> <li>• nicht-muskelinvasives Harnblasenkarzinom</li> <li>• simultane <i>TUR-B</i> und Zytologie</li> <li>• <i>high grade</i> Tumor</li> <li>• Induktions- bzw. Erhaltungstherapie mit <i>BCG</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Spülzytologie mit unzureichender Qualität bzw. mangelnder urothelialer Zellen</li> <li>• Tumore nicht urothelialen Ursprungs</li> </ul>

### 3.1.2 Datenerhebung

Im Rahmen der Datenerhebung wurden unter Verwendung der Klinik internen Dokumentation zunächst die allgemeinen Daten der Patienten in eine Tabelle eingepflegt, die die Einschlusskriterien erfüllt haben. Zu diesen zählte das Geschlecht, das Alter, sowie der histologische Befund und das Datum der Erstdiagnose sowie des letzten Tumorbefalls.

Im Kontext der Instillationstherapie mit *BCG* wurde herausgearbeitet, ob sich der Patient im Induktionszyklus befand oder bereits eine Erhaltungstherapie angeschlossen wurde. Zudem wurden die Applikationszeiträume sowie insbesondere das Datum der letzten Instillation recherchiert. Bezüglich des zur urinzytologischen Probe korrelierenden histopathologischen Befundes wurde das Datum der transurethralen Resektion, sowie die visuellen Bedingungen, unter denen diese durchgeführt wurde, dokumentiert. Hierbei wurde zwischen Weißlicht oder photodynamischen Bedingungen unterschieden. Der Befund wurde inklusive T Stadium sowie Grading dokumentiert. Neben der Dokumentation des urinzytologischen Befundes nach Pariser Klassifikation wurde bei signifikanter Anzahl von Lymphozyten, Granulozyten, Bakterien oder Erythrozyten in der Probe dies in der Tabelle ergänzt. Zudem wurden *BCG*-typische Veränderungen wie die reaktive Atypie sowie Zelldegeneration festgehalten.

Schließlich wurde, sofern verfügbar, der onkologische Verlauf bei Patienten mit falsch-positivem Befund recherchiert. Eine im Verlauf bioptisch gesichert Neoplasie wurde mitsamt histopathologischem Befund sowie Zeitpunkt der Diagnose dokumentiert.

### 3.1.3 Durchführung und Klassifikation der Urinzytologie

Vor der Entnahme der Biopsie mit Hilfe einer transurethralen Resektion der Harnblase wurden 200ml Spüllösung in die Harnblase infundiert, um abgeschilferte Urothelzellen für die Anfertigung eines urinzytologischen Präparates zu gewinnen. Um eine qualitativ hochwertige Probe zu garantieren, wurden diese innerhalb von zwei Stunden weiterverarbeitet. Dazu wurden die Proben zunächst bei 2000 U/min zentrifugiert und das gewonnene Sediment anschließend fixiert. Nach Eindickung der Proben unter Zuhilfenahme einer Pectin-Lösung konnte das Sediment auf einem Objektträger ausgestrichen und nach Trocknung mittels Papanicolaou-Farbstoff angefärbt werden. Durch diese Färbemethodik nimmt das Zytoplasma der Urothelzelle eine blaugraue bis rosa Farbe an. Die Zellkerne heben sich durch ein schwarzbraunes, graublaues bis violetttes Erscheinungsbild ab. Die Nukleolen der Kerne färben sich rötlich an. Erythrozyten erscheinen, je nach Dichte, leuchtend rot bis grün und das Zellplasma der Leukozyten wird blassrosa.

Da die Proben im Archiv für insgesamt zehn Jahre nach der Probenentnahme aufbewahrt werden, konnten diese im Rahmen der vorliegenden Studie unter Verwendung der Kriterien der Pariser Klassifikation von 2016 reevaluiert werden, um sie anschließend mit den archivierten histopathologischen Befunden zu korrelieren [65]. Durchgeführt wurde die Befundung durch zwei unabhängig voneinander arbeitenden in der Urinzytologie intensiv geschulten Urologen der urologischen Abteilung des Universitätsklinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München. Die Beurteilung wurde standardmäßig unter 400-facher Vergrößerung mittels Durchlichtmikroskopie

durchgeführt. Die Befundung der zytologischen Präparate wurde verblindet, ohne die Kenntnis des histopathologischen Befundes sowie klinischer Parameter, durchgeführt. Da alle Zytologien von Patienten mit stattgehabter intravesikaler *BCG*-Instillation gewonnen wurden, war diese Information als gegeben vorausgesetzt.

Klassifiziert wurden die Zytologien nach Pariser Klassifikation in „negativ für *high grade* Urothelkarzinom“ (*NHGUC*/Gruppe 1), „atypische Urothelzellen“ (*AUC*/Gruppe 2), „verdächtig für *high grade* Urothelkarzinom“ (*SHGUC*/Gruppe 3) und „*high grade* Urothelkarzinom“ (*HGUC*/Gruppe 4). Proben mit Hinweis auf eine andere Tumorentität beziehungsweise Proben, die aufgrund unbefriedigender Qualität nicht begutachtet werden konnten, wurden der Gruppe 5 (andere maligne Tumore) sowie Gruppe 0 (unbefriedigend/nicht diagnostisch) zugeordnet. Im Falle einer Abweichung zwischen den beiden Untersuchern, wurde für die statistische Analyse die nächst höhere diagnostische Gruppe verwendet.

Bei einer nebenbefundlich signifikanten Anzahl Lymphozyten (<5/Gesichtsfeld), Granulozyten, Bakterien und Erythrozyten (<2/Gesichtsfeld), wurden diese nominal skaliert dokumentiert. Ebenso typische morphologische Aberrationen nach *BCG*-Instillation wie der reaktiven Atypie sowie der Zelldegeneration wurden vermerkt. Zu den letzten wurde die Vakuolisierung des Kerns und Zytoplasmas sowie die Lyse der Zelle gezählt.

### 3.1.4 Software & Datenbanken

Endnote ® 20	Thomson Reuters, Carlsbad, USA
Microsoft ® Excel 2019	Microsoft Corp., Redmont, WA, USA
Microsoft ® Word 2019	Microsoft Corp., Redmont, WA, USA
PubMed	U.S. National Library of Medicine, Bethesda, MD, USA
SPSS ®	IBM ® SPSS ® Statistics Version 26

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Statistische Analysen

#### 3.2.1.1 Berechnung der Sensitivität, Spezifität und des positiven/negativen prädikativen Werts

Essenzielle Indikatoren der Validität eines diagnostischen Testes stellen die Sensitivität, die Spezifität und der positive sowie negative prädikative Wert dar. Um diese Parameter zu bestimmen, muss zunächst ein Referenzstandard definiert werden, anhand dessen die Diagnosen des Testes überprüft werden können. Im Falle der vorliegenden Studie handelt es sich dabei um den histopathologischen Befund der entnommenen Biopsien. Dieser ist im Falle eines *HGUC* als maligne

determiniert. Als benigne wurden alle nicht-*HGUC* Befunde klassifiziert. Zu letzteren wurden auch alle bioptisch gesicherten *low grade* Karzinome gezählt. Diese wurden anschließend mit den Diagnosen der Urinzytologie korreliert. Hieraus ergaben sich insgesamt vier Szenarien. Stimmt der urinzytologische Befund mit dem Referenzstandard überein, spricht man bei dem Vorliegen einer *high grade* Neoplasie von einem richtig-positiven Befund. Von richtig-negativen Befunden spricht man hingegen, wenn jeweils kein *high grade* Tumor diagnostiziert wird. Weiterhin ergeben sich folgende Konstellationen, wenn die Zytologie vom histologischen Referenzstandard abweicht. Zeigt sich ein *high grade* Befund in der Zytologie bei benigner Biopsie, handelt es sich um einen falsch-positiven Befund. Ist die Zytologie unuffällig für ein *HGUC* bei jedoch pathologisch bestätigter *high grade* Neoplasie spricht man von falsch-negativen Befunden. Werden diese Konstellationen in eine Kreuztabelle eingepflegt, lässt sich nachvollziehen, wie Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädikativer Wert errechnet werden (Tabelle 14).

Die Sensitivität bildet ein Verhältnis aus den im Test (Urinzytologie) identifizierten richtig-positiven und allen bioptisch bestätigten malignen Befunden ab (Sensitivität =  $\frac{\text{richtig positiv}}{(\text{richtig positiv} + \text{falsch negativ})}$ ). Ein Test mit wenig falsch-negativen Ergebnissen und konsekutiv hoher Sensitivität eignet sich daher als Screeningmethode. Äquivalent dazu besteht die Spezifität aus dem Quotienten der richtig-negativen und allen bioptisch gesicherten benignen Befunden (Spezifität =  $\frac{\text{richtig negativ}}{(\text{richtig negativ} + \text{falsch positiv})}$ ). Ein Test mit hoher Spezifität und folglich geringer Rate falsch-positiver Befunde eignet sich insbesondere als Bestätigungstest.

Zusätzlich wurde der positive (PPW) und negative prädikative Wert (NPW) bestimmt. Der erst genannte gibt die Wahrscheinlichkeit an, bei positivem Testergebnis, im Falle der vorliegenden Studie, bei auffälliger Urinzytologie, tatsächlich an einem bioptisch gesicherten *high grade* Karzinom erkrankt zu sein. Dazu wird ein Quotient aus den richtig-positiven, sowie allen von der Zytologie als positiv diagnostizierten Befunden (PPW =  $\frac{\text{richtig positiv}}{(\text{richtig positiv} + \text{falsch positiv})}$ ) gebildet. Äquivalent dazu errechnet sich der negative prädikative Wert aus den richtig-negativen dividiert durch alle als negativ von der Urinzytologie diagnostizierten Befunden (NPW =  $\frac{\text{richtig negativ}}{(\text{richtig negativ} + \text{falsch negativ})}$ ). Dieser Wert gibt somit die Wahrscheinlichkeit an, bei unauffälligem zytologischem Befund, nicht an einem *high grade* Karzinom erkrankt zu sein.

**Tabelle 15: Diagnostische Validität anhand einer Kreuztabelle**

		Zytologie		
		Positiv	Negativ	
Histologie	Positiv	Richtig-positiv (a)	Falsch-negativ (b)	<b>Sensitivität:</b> $\frac{a}{(a+b)}$
	Negativ	Falsch-positiv (c)	Richtig-negativ (d)	<b>Spezifität:</b> $\frac{c}{(c+d)}$
		<b>PPW</b> $\frac{a}{(a+c)}$	<b>NPW</b> $\frac{b}{(b+d)}$	

### 3.2.1.2 Sensitivität, Spezifität und positiver/negativer prädikativer Wert im Kontext unterschiedlicher *Cutoffs* einer positiven Urinzytologie

Neben den klinisch klar zu interpretierenden zytologischen Diagnosen *NHGUC* und *HGUC*, stellt sich bei *SHGUC* und *AUC*, oft die Frage des Weiteren optimalen klinischen Prozederes. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie die Sensitivität, Spezifität, sowie der positive und negative prädikative Wert für drei Szenarien errechnet, die sich in der Definition des *Cutoff* der positiven Interpretation der Zytologie unterscheiden.

In dem ersten Szenario wurde lediglich die *HGUC*-Gruppe als zytologisch positiv für ein *high grade* Karzinom determiniert. Die verbliebenen Gruppen *NHGUC*, *AUC* und *SHGUC* galten als zytologisch negativ für *HGUC*. Im zweiten Szenario wurde zusätzlich zu der *HGUC*-, die *SHGUC*-Gruppe als positiv und in dem dritten Szenario die Gruppen *HGUC*, *SHGUC* und *AUC* als positiv definiert. Die verbliebenen Gruppen galten folglich jeweils als negativ. Die Berechnungen unter Berücksichtigung der verschiedenen *Cutoffs* erlauben eine Aussage darüber, wie sich die diagnostische Validität der Zytologie verändert, je nachdem welche Gruppe der Pariser Klassifikation als maligne im Rahmen eines *high grade* Befundes definiert wird. Die Konfidenzintervalle wurden auf 95%igen Niveau berechnet (Tabelle 15). Da sich die Definition der *HGUC*- und *SHGUC*-Gruppe als positive Zytologie als klinisch am bedeutsamsten gezeigt hat, wurde dieser *Cutoff* für weitere statistische als Basis festgesetzt.

**Tabelle 16: Berechnung des 95% Konfidenzintervall**

Untere Grenze	$p - 1,96 \times \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$
Obere Grenze	$p + 1,96 \times \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$
P (Punktschätzer)	$p = \frac{k}{n}$

Abkürzungen: k, Anzahl des Ereignisses; n, Größe der Stichprobe.

### 3.2.1.3 Sensitivität, Spezifität und positiver/negativer prädikativer Wert im zeitlichen Kontext der letzten *BCG*-Instillation

Um eine mögliche Beeinflussung des zeitlichen Abstands einer Therapie mit *BCG* auf die Durchführung der Urinzytologie innerhalb der Studie zu ermitteln, wurde die Sensitivität, Spezifität und der positive sowie negative prädikative Wert in Abhängigkeit des Zeitraums zwischen der Intervention (*TUR-B/Zytologie*) und dem Zeitpunkt der letzten *BCG*-Therapie bestimmt. Dazu wurde die Kohorte in zwei Gruppen unterteilt, bei denen zwischen einem Zeitraum von kleiner 100 Tagen beziehungsweise größer oder gleich 100 Tagen unterschieden wurde. Als positiver zytologischer Befund wurden aus oben genannten Gründen, die Gruppen *SHGUC* und *HGUC* determiniert. Zusätzlich erlaubt diese Analyse eine Aussage über die Dauer der zellulären Aberrationen nach *BCG*-Instillation.

### 3.2.1.4 Interobservervariabilität nach *BCG*-Instillation

Als ein weiterer Indikator für die Qualität der Urinzytologie wurde die Interobservervariabilität bestimmt. Diese ist ein Maß für die Übereinstimmung zweier oder mehrerer Untersucher. Aufgrund der subjektiven Durchführung und der oftmals schwierigen Differenzierung zwischen reaktiv veränderten benignen und malignen Urothelzellen, ist diese maßgeblich von der Erfahrung des jeweiligen Untersuchers abhängig. Eine Möglichkeit die Interobservervariabilität zu bestimmen, ist die Methode nach Cohen. Im Gegensatz zur einfachen prozentualen Gegenüberstellung der Übereinstimmung, lassen sich hierbei die zufälligen Übereinstimmungen herausrechnen. Angegeben wird diese in einem Wertebereich von -1 bis 1 (*kappa*). Nach Landis und Koch ist die Übereinstimmung bei einem *kappa* Wert von kleiner 0 als mangelhaft, von 0 bis 0,2 als gering, von 0,21 bis 0,4 als mittelmäßig, von 0,41 bis 0,6 als moderat, von 0,61 bis 0,8 als erheblich und schließlich von 0,81 bis 1 als fast perfekt zu interpretieren [159]. In der vorliegenden Studie galt eine Übereinstimmung dann, wenn beide Untersucher den zytologischen Befund entweder als positiv (*SHGUC* und *HGUC*) oder als negativ (*NHGUC* und *AUC*) diagnostizierten. Die statistische Signifikanz wurde auf 5% Niveau bestimmt.

### 3.2.1.5 Einfluss *BCG* spezifischer und unspezifischer zytologischer Nebenbefunde auf die Qualität der Urinzytologie

In einer weiteren Analyse wurde untersucht, ob spezifische und unspezifische Nebenbefunde nach stattgehabter *BCG*-Instillation, zu einer erschwerten urinzytologischen Befundung geführt haben. Hierzu wurde zum einen analysiert, ob eine signifikante Anzahl unspezifischer inflammatorischer Zellen wie der Lymphozyten, Granulozyten, Erythrozyten und Bakterien in der urinzytologischen Probe, mit einer vermehrten Abweichung des zytologischen Befundes von der Referenzbiopsie vergesellschaftet waren. Dies wurde zum anderen auch für die spezifischen Veränderungen der reaktiven Atypie und Zelllyse durchgeführt. Dazu wurde eine binäre logistische Regression angewandt. Durch diese lässt sich im Allgemeinen eine mögliche Beeinflussung einer unabhängigen auf eine abhängige Variable abschätzen.

Insgesamt wurden drei unterschiedliche Analysen durchgeführt, bei der von allen falschen zytologischen Befunde, lediglich die falsch-negativen und zuletzt die falsch-positiven zytologischen Diagnosen als abhängige Variable definiert wurden. Die unabhängigen Variablen waren in allen drei Analysen die Erythrozyten, Lymphozyten, Bakterien, Granulozyten, sowie die reaktive Atypie und Zelldegeneration. Signifikanzen wurden auf 5% Niveau erhoben und das 95% Konfidenzintervall wurde bestimmt.

### 3.2.1.6 Onkologisches *Follow Up* falsch-positiver zytologischer Befunde

Das optimale Management der Nachsorge bei Patienten, deren histopathologischer Befund unauffällig war, sich jedoch morphologische Veränderungen im Rahmen einer *high grade* Neoplasie in der urinzytologischen Diagnostik gezeigt haben, ist oftmals schwer zu bestimmen. Daher wurde in der vorliegenden Studie bei den Patienten auf die diese Konstellation zutraf, und die ihre weitere Tumornachsorge im Rahmen Zystoskopien, Spülzytologien, Bildgebungen sowie Re-TURBs im Klinikum der Universität München wahrgenommen haben, der weitere onkologische Verlauf untersucht. In der Analyse stellten wir den Anteil der Patienten, bei denen in der Kontrollbiopsie ein *high grade* Tumor detektiert worden ist, prozentual denen mit unauffälligem onkologischen Verlauf gegenüber. Weiterhin wurde der Zeitpunkt, die Lokalisation sowie das Stadium der Rezidive analysiert.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Patientenkohorte und deskriptive Statistik

Insgesamt konnten 197 Patienten, die aufgrund eines *NMIBC* eine intravesikale Therapie mit *BCG* erhalten haben, die Einschlusskriterien der Studie erfüllen. Diese Patienten haben im untersuchten Zeitraum insgesamt in 389 Fällen eine *TUR-B* mit gleichzeitiger Urinzytologie erhalten. Sechs Fälle mussten aufgrund einer unzureichenden Menge an Urothelzellen in der urinzytologischen Probe ausgeschlossen werden. 84,3% der 197 Probanden waren männlichen und 15,7% weiblichen Geschlechts. Zum Zeitpunkt der Intervention (*TUR-B/Zytologie*) lag das mediane Alter bei 71 Jahren. Der *interquartile Range* wurde in einem Intervall von 61 bis 76 Jahren bestimmt (Tabelle 16).

Der anhand der retrospektiven Daten zu ermittelnde Zeitpunkt der letzten *BCG*-Gabe lag im Median 202 Tage vor der Intervention. Aufgeteilt nach dem Abstand zwischen letzter Applikation und Entnahme der zytologischen Probe, waren 25,8% der Fälle einem Zeitraum unter 100 Tagen zuzuordnen. Bei 74,2% lag die letzte Instillation mehr als 100 Tage zurück. Im Kontext des Therapiestatus befanden sich die Patienten in 32,4 % der Fälle nach dem Induktionszyklus. 67,6 % befanden sich in der Erhaltungstherapie.

**Tabelle 17: Klinisch-pathologische Merkmale der Patientenkohorte**

Parameter	Absolut/Prozentual
Alter: Median [IQR]	71 [61-76]
Geschlecht	
weiblich	60/383 (15,7)
männlich	323/383 (84,3)
Histopathologisches <i>Staging</i> der <i>TUR-B</i>	
<i>Non-HGUC</i>	323/383 (84,3)
<i>davon LGUC</i>	15/323 (4,6)
<i>HGUC</i>	60/383 (15,7)
pTa	24/383 (6,3)
pT1	20/383 (5,2)
pT $\geq$ 2	6/383 (1,6)
Primäres/begleitendes <i>Carcinoma in situ/pTis</i>	38/383 (9,9)
<i>Grading</i>	
1	10/383 (2,6)
2	8/383 (2,1)
3	59/383 (15,4)
<i>PDD</i> -assistierte <i>TUR-B</i>	335/383 (87,5)
Urinzytologischer Befund: Pariser Klassifikation	
<i>NHGUC</i>	191/383 (49,9)
<i>AUC</i>	80/383 (20,9)
<i>SHGUC</i>	56/383 (14,6)
<i>HGUC</i>	56/383 (14,6)
Unspezifische Nebenbefunde nach <i>BCG</i> -Instilla-	
Granulozyten	88/383 (23,0)
Lymphozyten	80/383 (20,9)
Bakterien	6/383 (1,6)
Hämaturie	16/383 (4,2)
Spezifische Nebenbefunde nach <i>BCG</i> -Instillation	
Reaktive Atypie	52/383 (13,6)
Zelluläre Degeneration	26/383 (6,8)
Status <i>BCG</i> -Instillation	
Median	202
< 100 Tage	99/383 (25,8)
$\geq$ 100 Tage	284/383 (32,4)
Induktionszyklus	124/383 (32,4)
Erhaltungszyklus	259/383 (67,6)

Die für die Studie als Referenzstandard definierte *TUR-B* wurde in 87,5% fluoreszenzbasiert durchgeführt. In 15,7% der Fälle (69/383) wurde histopathologisch ein *high grade* Tumor bestätigt. Das T-Stadium der nachgewiesenen Tumore sind Tabelle 16 zu entnehmen. In Bezug auf die Auswertung der Urinzytologie wurde bei 49,9% der Proben zytologisch kein Anhalt für ein *high grade* Karzinom gefunden, sodass diese der *NHGUC*-Gruppe zugewiesen wurden. 20,9% wurden in die *AUC*-Gruppe eingeteilt. Jeweils 14,4% wurden der *SHGUC*- beziehungsweise der *HGUC*-Gruppe (Tabelle 16).

Neben den Urothelzellen wurden in 88 von 383 Fällen Granulozyten, in 80 von 383 Fällen Lymphozyten, in 6 von 383 Fällen Bakterien und schließlich in 16 von 383 Fällen eine Hämaturie festgestellt. Eine reaktive Atypie sowie eine Zelldegeneration wurden in jeweils 52 beziehungsweise 26 von 383 Fällen beobachtet.

## 4.2 Statistische Ergebnisse

### 4.2.1 Diagnostische Qualität der Urinzytologie nach *BCG* in Abhängigkeit der Definition des *Cutoff*

Tabelle 18: Korrelation der Histopathologie und Zytologie (*HGUC-Cutoff*)

	Zytologie		
	Positiv % (absolut)	Negativ % (absolut)	Insgesamt % (absolut)
<b>Histologie</b>			
Positiv	7,0 (27/383)	8,6 (33/383)	15,7 (60/383)
Negativ	7,6 (29/383)	76,8 (294/383)	84,3 (323/383)
Insgesamt	14,6 (56/383)	85,4 (327/383)	100 (383/383)

Erläuterung: Zytologie positiv: *HGUC*; Zytologie negativ: *NHGUC*, *AUC*, *SHGUC*

**Tabelle 19: Korrelation der Histopathologie und Zytologie (*SHGUC-Cutoff*)**

	Zytologie		
	Positiv % (absolut)	Negativ % (absolut)	Insgesamt % (absolut)
<b>Histologie</b>			
Positiv	11,7 (45/383)	3,9 (15/383)	15,7 (60/383)
Negativ	17,5 (67/383)	66,8 (256/383)	84,3 (323/383)
Insgesamt	29,2 (112/383)	70,8 (271/383)	100 (383/383)

Erläuterung: Zytologie positiv: *HGUC*, *SHGUC*; Zytologie negativ: *NHGUC*, *AUC*.

**Tabelle 20: Korrelation der Histopathologie und Zytologie (*AUC-Cutoff*)**

	Zytologie		
	Positiv % (absolut)	Negativ % (absolut)	Insgesamt % (absolut)
<b>Histologie</b>			
Positiv	12,3 (47/383)	3,4 (13/383)	15,7 (60/383)
Negativ	37,9 (145/383)	46,5 (178/383)	84,3 (323/383)
Insgesamt	50,1 (192/383)	49,9 (191/383)	100 (383/383)

Erläuterung: Zytologie positiv: *HGUC*, *SHGUC*, *AUC*; Zytologie negativ: *NHGUC*.

Da die Rolle der *SHGUC*-Gruppe der Pariser Klassifikation bezüglich der klinischen Einordnung noch nicht abschließend geklärt ist, wurde die Bestimmung der Sensitivität, Spezifität, des positiven und negativen prädikativen Wert für insgesamt drei verschiedene *Cutoffs* einer positiven Definition der Zytologie vorgenommen. Wurde nur die *HGUC*-Gruppe als positiv definiert, lag die Sensitivität lediglich bei 45% (95% KI: 32-58%). Wurde die *SHGUC*-Gruppe hinzugezogen, stieg diese um 30% auf 75% (95% KI: 64-86%) an. Die Spezifität sank im Vergleich dazu lediglich um 12% von 91% (95% KI: 88-94%) bei *HGUC-Cutoff* auf 79% (95% KI: 75-84%) bei *SHGUC-Cutoff*. Wurde die *AUC*-Gruppe ebenfalls noch als positiv interpretiert, steigerte sich die Sensitivität nur noch um 3%. Die Spezifität fiel dabei jedoch 55% (95% KI: 50-61%).

Die höchste Wahrscheinlichkeit, bei einem negativen zytologischen Ergebnis nicht an einer *high grade* Neoplasie zu leiden, besteht bei positiver Determinierung der *SHGUC*- und *HGUC*-Gruppe. Hier liegt der negative prädikative Wert bei 94% (95% KI: 92-97%). Dieser unterscheidet sich jedoch nicht wesentlich bei *AUC*- und *HGUC*-Cutoff mit einem NPV von jeweils 93% (95% KI: 90-97%) beziehungsweise 90% (95% KI: 87-93%). Die höchste Wahrscheinlichkeit, bei einem positiven zytologischen Ergebnis einen durch eine Biopsie bestätigten Tumor zu identifizieren, besteht wenn nur die *HGUC*-Gruppe als positiv definiert wird. Der PPW liegt hier bei 48% (95% KI: 35-61%). Bei einem *SHGUC-Cutoff* liegt dieser 8% niedriger bei insgesamt 40% (95% KI: 31-

49%). Auf 24% (95% KI: 18-31%) sinkt der PPV, wenn der *Cutoff* auf die *AUC*-Gruppe gesenkt wird.

Insgesamt kann die diagnostische Qualität deutlich verbessert werden, wenn zusätzlich zu der *HGUC*- die *SHGUC*-Gruppe als positiv für ein *high grade* Karzinom bewertet wird.

**Tabelle 21: Einfluss des *Cutoff* auf die diagnostische Qualität der Urinzytologie nach stattgehabter *BCG*-Therapie**

Cutoff Klassifikation der Urinzytologie (1)	Sensitivität (%) (95% KI)	Spezifität (%) (95% KI)	PPV (%) (95% KI)	NPV (%) (95% KI)
<i>HGUC</i>	45 (32-58)	91 (88-94)	48 (35-61)	90 (87-93)
<i>SHGUC</i>	75 (64-86)	79 (75-84)	40 (31-49)	94 (92-97)
<i>AUC</i>	78 (68-89)	55 (50-61)	24 (18-31)	93 (90-97)

(1) *Cutoff* Definitionen: *HGUC* (einschließlich *HGUC*), *SHGUC* (einschließlich *HGUC* und *SHGUC*) und *AUC* (einschließlich *HGUC*, *SHGUC* und *AUC*).

#### 4.2.2 Qualität der Urinzytologie in Abhängigkeit des Zeitpunktes der letzten *BCG*-Instillation

**Tabelle 22: Korrelation der Histopathologie und Zytologie im Kontext des Zeitraums zwischen Instillation und *TUR-B*/Zytologie (<100 Tage)**

	Zytologie (<100 Tage)		
	Positiv % (absolut)	Negativ % (absolut)	Insgesamt % (absolut)
<b>Histologie</b>			
Positiv ( <i>HG</i> )	13,1 (13/99)	8,1 (8/99)	21,2 (21/99)
Negativ ( $\emptyset$ <i>HG</i> )	14,1 (14/99)	64,6 (64/99)	87,9 (87/99)
Insgesamt	27,3 (27/99)	72,7 (72/99)	100 (99/99)

Erläuterung: Zytologie positiv: *HGUC*, *SHGUC*; Zytologie negativ: *NHGUC*, *AUC*.

**Tabelle 23: Korrelation der Histopathologie und Zytologie im Kontext des Zeitraums zwischen Instillation und TUR-B/Zytologie ( $\geq 100$  Tage)**

	Zytologie ( $\geq 100$ Tage)		
	Positiv % (absolut)	Negativ % (absolut)	Insgesamt % (absolut)
<b>Histologie</b>			
Positiv (HG)	11,3 (32/284)	2,5 (7/284)	13,7 (39/284)
Negativ ( $\emptyset$ HG)	18,7 (53/284)	67,6 (192/284)	86,3 (245/284)
Insgesamt	29,9 (85/284)	70,1 (199/284)	100 (284/284)

Erläuterung: Zytologie positiv: *HGUC*, *SHGUC*; Zytologie negativ: *NHGUC*, *AUC*

Es gibt bereits Studien, die zytomorphologische Aberrationen für einige Monate aufgrund einer BCG-Therapie beschrieben haben [70, 71, 160]. Jedoch wurde bis jetzt in keiner Studie der direkte Zusammenhang des Zeitraums auf die diagnostische Qualität der urinzytologischen Diagnostik bestimmt. Daher haben wir in unserer Studie die Sensitivität, Spezifität und den positiven sowie negativen prädikativen Wert für ein Intervall unterhalb 100 Tagen, sowie für ein Intervall über 100 Tagen berechnet. Auffällig ist, dass im kürzeren Intervall ( $< 100$  Tage) die Sensitivität mit 62% (95% KI: 41-83%) insgesamt um 20% geringer als im Zeitraum über 100 Tagen, mit einer Sensitivität von 82% (95% KI: 70-94%), ist. Auch der negative prädikativen Wert liegt im direkten Vergleich 17% unterhalb der Kohorte mit einem Zeitraum mehr als 100 Tagen. Hinsichtlich der Spezifität und des positiven prädikativen Werts, lassen sich kleine Unterschiede feststellen. Für einen Zeitraum unter, beziehungsweise über 100 Tagen, beträgt die Spezifität jeweils 82% (95% KI: 73-90%) und 78% (95% KI: 73-84%) und der PPV 48% (95% KI: 29-67%) und 38% (95% KI: 27-48%). Eine kürzlich stattgehabte BCG-Therapie scheint die Urinzytologie folglich negativ zu beeinflussen. In unserer Studie hat sich dies insbesondere über eine vermehrte Anzahl falsch-negativer Befunde bemerkbar gemacht.

**Tabelle 24: Einfluss des Zeitpunktes der letzten BCG-Instillation auf die diagnostische Aussagekraft der Urinzytologie**

Zeit zwischen letzter BCG-Instillation und Zytologie/TUR-B (1)	Sensitivität % (95% KI)	Spezifität % (95% KI)	PPV % (95% KI)	NPV % (95% KI)
< 100 Tage	62 (41-83)	82 (73-90)	48 (29-67)	80 (81-96)
≥ 100 Tage	82 (70-94)	78 (73-84)	38 (27-48)	97 (94-99)

(1) Dargestellt ist die Sensitivität, Spezifität, der PPV und NPV für Patienten die ihre letzte BCG-Therapie <100 oder ≥100 Tage vor der TUR- B/Zytologie erhalten haben.

### 4.3 Interobserverübereinstimmung und -variabilität nach BCG-Instillation

Betrachtet man alle Fälle der Kohorte, die zur Bestimmung der Interobservervariabilität zur Verfügung standen, so stimmten die beiden Untersucher (G.B.S und S.T.) in 93,2% ihrer Diagnosen bezüglich einer negativen beziehungsweise positiven zytologischen Befundung überein. Aufgrund der bisherigen Ergebnisse wurden die Gruppen der Pariser Klassifikation *NHGUC* und *AUC* als negativ und *SHGUC* und *HGUC* als positiv definiert. Eliminiert man den Fehler zufälliger Übereinstimmung nach der Methode Cohens, ergibt sich ein *kappa* von 0,660. Dies gilt nach Landis und Koch als substantielle Übereinstimmung [159]. Das Ergebnis ist statistisch signifikant ( $p=3,251^{-38}$ ).

**Tabelle 25: Kreuztabelle: Übereinstimmung der beiden Untersucher**

	Untersucher 1	
	Positiv % (absolut)	Negativ % (absolut)
Untersucher 2		
Positiv	7,8 (30/383)	3,9 (15/383)
Negativ	2,9 (11/383)	85,4 (327/383)

Erläuterung: Zytologie positiv: *HGUC*, *SHGUC*; Zytologie negativ: *NHGUC*, *AUC*.

**Tabelle 26: Interobserverübereinstimmung und -variabilität nach stattgehabter BCG-Instillationstherapie**

Interobserver	Anzahl in % (absolut)
Übereinstimmung	93,2 (357/383)
Ø Übereinstimmung	6,8 (26/383)
Cohens <i>kappa</i>	0,660 ( $p=3,251^{-38}$ )

Erläuterung: Übereinstimmung: positiv/positiv, negativ/negativ; Ø Übereinstimmung: positiv/negativ, negativ/positiv.

#### 4.4 Reaktive Atypie und Zelldegeneration können diagnostische Qualität einschränken

Im Rahmen der urinzytologischen Diagnostik befinden sich aufgrund der durch BCG induzierten Inflammation, neben Urothelzellen oftmals auch Lymphozyten, Granulozyten, Bakterien und Erythrozyten in den Proben. Diese wurden von unseren zwei Untersuchern in jeweils 80 (20,9%), 88 (23%), 6 (1,6%) und 16 (4,2%) der 383 Fälle dokumentiert. Hierbei konnte jedoch keine Korrelation bezüglich alle-falscher, falsch-positiver oder falsch-negativer zytologischer Befunde nachgewiesen werden. Ebenfalls die nach BCG spezifischen zytomorphologischen Aberrationen der reaktiven Atypie und Zelldegeneration wurden in 13,6% (52/383) und 6,8% (26/383) der Fälle von den Untersuchern festgestellt. Interessanterweise konnte hierbei eine positive Korrelation hinsichtlich falsch-positiver Befunde festgestellt werden. Die Odds Ratio belief sich bei diesen Fällen auf jeweils 4,155 (95% KI: 2,136-8,085) beziehungsweise 5,050 (95% KI: 2,094-12,175).

**Tabelle 27: Auswirkungen *BCG*-spezifischer und -unspezifischer zytologischer Nebenbefunde auf die urinzytologische Diagnostik**

Variablen	Odds Ratio	(95% KI)	P
Falsche zytologische Befunde			
Erythrozyten	1.287	0.331-5.006	0.716
Lymphozyten	1.013	0.450-2.282	0.974
Bakterien	1.385	0.147-13.030	0.776
Granulozyten	0.585	0.254-1.348	0.208
Reaktive Atypie	<b>2.945</b>	1.544-5.618	0.001a
Zelldegeneration	<b>5.818</b>	2.498-13.551	<0.001a
Falsch-negative zytologische Befunde			
Erythrozyten	1.179	0.134-10.364	0.882
Lymphozyten	1.670	0.405-6.891	0.478
Granulozyten	1.194	0.283-5.044	0.809
Zelldegeneration	3.448	0.883-13.469	0.075
Falsch-positive zytologische Befunde			
Erythrozyten	1.244	0.253-6.109	0.788
Lymphozyten	0.846	0.335-2.138	0.724
Bakterien	2.184	0.244-21.293	0.501
Granulozyten	0.479	0.183-1.251	0.133
Reaktive Atypie	<b>4.155</b>	2.136-8.085	<0.001a
Zelldegeneration	<b>5.050</b>	2.094-12.175	<.0001a

a Diese P Werte zeigen einen signifikanten Unterschied an.

b Für die falsch-negative Subgruppe, gab es keine Patienten mit Bakteriurie beziehungsweise einer reaktiven Atypie.

## 4.5 Rezidivrisiko nach falsch-positivem zytologischen Befund

Wird in der urinzytologischen Probe bei unauffälligem histopathologischem Befund dennoch ein *HGUC* nachgewiesen, stellt dies ein bis jetzt in den Studien diskutiertes Dilemma der Nachsorge dar [161]. Daher haben wir, soweit verfügbar, das onkologische *follow up* der Patienten mit falsch-positiven Befunden retrospektiv analysiert. Dies stand für insgesamt 38 der 50 (76%) Patienten zur Verfügung. Davon entwickelten 44,7% in einem medianen Nachbeobachtungszeitraum von 227 Tagen ein *HGUC*-Rezidiv. Nach T-Stadium aufgeschlüsselt handelte es sich bei den Rezidiven in 2 von 17 Fällen um einen Tumor im muskelinvasiven Stadium, in 2 von 17 Fällen um ein metastasiertes Urothelkarzinom, in 8 von 17 um ein *Carcinoma in situ*, jeweils 2 von 17 um ein pTa beziehungsweise pT1, sowie 1 von 17 um einen Tumor im oberen Harntrakt. Insgesamt lässt sich ein erhöhtes Risiko für ein Rezidiv bei Patienten mit falsch-positivem Befund ableiten.

**Tabelle 28: Rezidivrisiko von Patienten mit falsch-positivem zytologischen Befund**

Parameter	Absolut (Prozentual-%)
Patienten ( <i>Follow Up</i> verfügbar)	38/50 (76)
Median	227
<i>HGUC</i> Rezidiv	17/38 (44,7)
Tumorstadien	
<i>MIBC</i>	2/17 (11,8)
Metastasiertes Urothelkarzinom	2/17 (11,8)
<i>Carcinoma in situ</i>	8/17 (47,1)
pTa <i>HGUC</i>	2/17 (11,8)
pT1 <i>HGUC</i>	2/17 (11,8)
<i>HGUC</i> im oberen Harntrakt	1/17 (5,9)

## 5. Diskussion

### 5.1 Hintergrund

Die Therapie des nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinoms mit einer intravesikalen Therapie mit *BCG* konnte in Studien durch eine Reduzierung der Rezidiv- und Progressionsrate überzeugen. Jedoch besteht weiterhin insbesondere in der *high-risk* Gruppe nach dem Risikokalkulator des *Spanish Club for Oncological Treatment (CUETO)* über 5 Jahre betrachtet ein bis zu 67,7% hohes Risiko, ein Rezidiv eines Urothelkarzinoms zu erleiden [61, 62]. Auch ein Progress in ein muskelinvasives Stadium ist möglich [100]. Da auch in diesen Fällen kurative Therapieoptionen, wie die radikale Zystektomie, zur Verfügung stehen, ist ein rechtzeitiges Erkennen der Krankheit essenziell für das onkologische Outcome. Dazu hat sich eine Kombination aus Zystoskopie, Bildgebung und Zytologie etabliert [42]. Aufgrund einer konsekutiv ausgelösten inflammatorischen Reaktion in der Harnblase nach Applikation von *BCG*, welches bei *high-risk NMIBC* als Standardtherapie eingesetzt wird, ist die Differenzierung zwischen makroskopisch reaktiv und maligne verändertem Urothel zytoskopisch kompromittiert. Auch ergänzende zytoskopische Techniken wie die fluoreszenzunterstützte photodynamische Diagnostik sind aufgrund der reaktiven erythematösen Läsionen bei Entzündung eingeschränkt verwendbar [32, 38, 39]. Hier kommt der Zytologie als diagnostische Ergänzung eine entscheidende Bedeutung zu. Da jedoch eine mögliche Beeinflussung der diagnostischen Qualität der Urinzytologie nach *BCG*-Therapie bislang in Studien nur vereinzelt untersucht worden ist, wurde in der vorliegenden Studie diese unter Anwendung der Kriterien der Pariser Klassifikation reevaluiert.

### 5.2 Abhängigkeit der diagnostischen Qualität der Urinzytologie von der Definition des Cutoff

Dazu wurde zunächst der Einfluss der Wahl des *Cutoff* eines positiven zytologischen Befundes untersucht. Wurden lediglich zytologische *HGUC*-Befunde als positiv definiert, ergab sich eine Sensitivität von 45% (95% KI: 32-58%) und eine Spezifität von 91% (95% KI: 88-94%). Im Vergleich der Studienlage, die die Zytologie unter dem Gesichtspunkt der Pariser Klassifikation evaluierten, eine Therapie mit *BCG* jedoch nicht genauer eingeschlossen haben, weicht die Sensitivität, mit Werten zwischen 70,5% und 84% ab. Die Spezifität liegt im Vergleich dazu im *Range* von 78,5% bis 94% [49, 50, 54]. Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangte eine Arbeitsgruppe um Gupta et al, die für ihre Analyse insgesamt 90 Fälle rekrutieren konnte. Diese errechnete eine Sensitivität von 53% und eine Spezifität von 95% für die Zytologie nach stattgehabter *BCG*-Instillation. Jedoch wand sie nicht durchgängig die Pariser Klassifikation an, sondern verwendete neben dieser die John Hopkins Template Klassifikation. Zudem standen für die Biopsieentnahme lediglich Weißlichtbedingungen zur Verfügung [73].

Nurminen et al untersuchten die Qualität der Zytologie nach *BCG* im Kontext des makroskopischen Zystoskopiebefundes. Dazu stand eine Kohorte aus 367 Fällen zur Verfügung. Die Mehrzahl der durchgeführten Biopsien (78,5%) wurden unter Weißlicht entnommen. Bei zystoskopisch sichtbaren Erythemen ermittelte die Arbeitsgruppe einen negativen prädikativen Wert von 94% der Zytologie. Sie folgerte daraus, dass bei dieser zystoskopischen Erscheinung und gleichzeitiger negativer Zytologie mit großer Sicherheit ein Tumor ausgeschlossen werden kann. Wurden alle untersuchten zystoskopischen Morphologien miteinbezogen, war die Sensitivität und Spezifität jedoch vergleichbar mit den Ergebnissen unserer Studie. Diese belief sich auf 39% beziehungsweise 77%. Anzumerken ist, dass in dieser Studie nicht die Pariser Klassifikation verwendet wurde und somit auch nicht zwischen unterschiedlichen *Cutoffs* unterschieden wurde [72].

Guy et al, die die Notwendigkeit einer routinemäßigen Biopsie nach erfolgter *BCG*-Induktionstherapie eruiert haben, ermittelten eine Sensitivität und Spezifität von jeweils 56% und 92%. Hierbei wurden 130 Patienten untersucht. Die Urinzytologien wurde jedoch ebenfalls nicht nach den Kriterien der Pariser Klassifikation befundet [162].

Klinisch relevant ist jedoch der Anstieg der Sensitivität um 30% auf 75% (95% KI: 64-86%) in unseren Berechnungen, wenn der *Cutoff* um eine positive Definition des zytologischen Befundes der *SHGUC*-Gruppe erweitert wurde. Dabei fiel die Spezifität nur leicht auf 79% (95% KI: 75-84%). Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen von Gupta et al, die den *Cutoff* ebenfalls in ihren Analysen berücksichtigten. Hier stieg die Sensitivität um 14% auf 67% an. Die Spezifität wurde hierbei mit 88% angegeben [73].

Der Einfluss des *Cutoff* auf die diagnostische Validität ist jedoch nicht nur bei Kohorten nach stattgehabter *BCG*-Therapie zu beobachten, sondern wurde unter anderem von einer Arbeitsgruppe um Moulavasilis et al beschrieben, die eine Therapie mit *BCG* nicht explizit mit in die Untersuchungen einbezogen haben [163]. Sie beobachteten einen Anstieg der Sensitivität von 70% auf 90,9%, wenn die *AUC*-Gruppe zusätzlich als positiv klassifiziert wurde. Ähnliche Ergebnisse wurden durch eine Studie um Rohilla et al veröffentlicht [49]. In Bezug auf unsere Studie war jedoch die zusätzliche positive Definition von *AUC* neben einem lediglich marginalen Anstieg der Sensitivität um 3% auf insgesamt 78% (95% KI: 68-89%) mit einem deutlichen Abfall der Spezifität auf 55% (95% KI: 50-61%) verbunden. Hierbei steigt die Gefahr einer invasiven Überdiagnostik. Folglich legen unsere Ergebnisse nahe, die Diagnosegruppen *NHGUC* und *AUC* als negativ und die Gruppen *SHGUC* und *HGUC* als positiv für eine *high grade* Karzinom für den klinischen Alltag zusammenzufassen.

Gestärkt wird die Hypothese durch die Auswertung der Interobservervariabilität. In einer Studie von Raitanen aus dem Jahr 2002 wurde eine substantielle Interobservervariabilität von einem *kappa* von 0,67 für *high grade* Karzinome berichtet. Dazu wurden insgesamt 575 Fälle einbezogen, die jedoch nicht unter Verwendung der Kriterien der Pariser Klassifikation evaluiert wurden [53]. Dies deckt sich mit dem Ergebnis mit einem *kappa* von 0,660 unserer Studie. Zwei aktuelle

Studien (2017/2019), die die Interobservervariabilität unter Berücksichtigung der Pariser Klassifikation evaluierten, kamen jedoch lediglich auf mäßige Ergebnisse. In der Studie von Bakkar et al wurden 100 zytologische Fälle von insgesamt sechs unabhängigen Zytopathologen evaluiert. Hieraus ergab sich ein Interobservervariabilität von  $\kappa$  gleich 0,36 [77]. Bei Long et al wurden 357 Proben untersucht, welche von insgesamt vier Untersuchern ausgewertet wurden. Hier ergab sich ein  $\kappa$  von 0,32 [76]. Im Vergleich zu unserer Studie ist bei beiden jedoch jede Diagnosegruppe der Klassifikation für sich betrachtet worden. Da bei uns jedoch die Gruppe *NHGUC* und *AUC* als negativ und *SHGUC* und *HGUC* als positiv zusammengefasst in die Analysen eingegangen sind und damit vergleichbare Werte, mit denen von Raitanen erzielt worden sind, ist es unseren Ergebnissen zufolge sinnvoll, die Gruppen in dieser Konstellation zusammenzufassen. Aufgrund der mitunter mikroskopisch schwierigen Differenzierung zwischen der *SHGUC* - und *HGUC*-Gruppe, bei nur geringfügigen Abweichung der Kriterien der Pariser Klassifikation, sowie einer hohen Rate Biopsie bestätigter *HGUC*-Fälle bei zytologischer *SHGUC*-Befundung, spricht sich die Arbeitsgruppe um Bakkar et al ebenfalls für die gleichgerichtete Interpretation der beiden Gruppen aus. Nach Zusammenführung beider Diagnosegruppen berichtet die Arbeitsgruppe ebenfalls von einer Besserung der Interobservervariabilität auf  $\kappa$  von 0,411 [77].

### **5.3 Diagnostische Qualität insbesondere kurz nach der BCG-Instillation beeinträchtigt**

Insgesamt ist ein Vergleich zwischen den einzelnen Studien unter dem Gesichtspunkt der Verwendung unterschiedlicher Klassifikationssysteme, *Cutoffs* und Kohorten nur eingeschränkt beurteilbar. Um auf die Frage der Beeinflussung einer zuvor stattgehabten *BCG*-Instillation auf die diagnostische Qualität der Urinzytologie näher einzugehen, haben wir die Kohorte daher nach dem Zeitraum der letzten Instillation und der Abnahme der Zytologie aufgeteilt. Interessanterweise war insbesondere in Bezug auf die Sensitivität ein deutlicher Unterschied festzustellen. Während diese bei Patienten bei denen der Zeitraum mehr als 100 Tagen betragen hat, mit Werten von 82% (95% KI: 70-94%), mit denen der Literatur ohne explizite Berücksichtigung einer *BCG*-Therapie vergleichbar sind, ist diese in einem unmittelbaren Zeitraum nach *BCG*-Applikation mit 62% (95% KI: 41-83%) um 20% deutlich verringert. In Bezug auf die Spezifität lassen sich keine eindeutigen Unterschiede ableiten. Da keine anderen Einflussfaktoren zu eruieren waren, folgerten wir eine Beeinträchtigung der Urinzytologie insbesondere im unmittelbaren Intervall nach Applikation.

### **5.4 Reaktive Atypie und Zelldegeneration können diagnostische Qualität einschränken**

Um mögliche Ursachen für die Beeinträchtigung der Zytologie nach *BCG*-Applikation abzuleiten, muss man zunächst die Wirkungsweise von *BCG* betrachten. Auch wenn diese nach 40 Jahren erfolgreichem Gebrauch noch nicht vollständig geklärt ist, wird davon ausgegangen, dass die

Aufnahme von *BCG* in die Zellen einen erheblichen Zellschaden auslösen kann. Zusätzlich wird eine Entzündungsreaktion induziert, die eine Ausschüttung von Chemokinen und Zytokinen zur Folge hat. Diese wiederum lockt Zellen des nativen und adaptiven Immunsystems an, wodurch die Urothelien zusätzlichem inflammatorischen Stress ausgesetzt werden und konsekutiv morphologisch aberrieren können [69]. Bislang gibt es wenige Studien, die morphologische Veränderungen von Zellen nach *BCG*-Therapie untersucht haben. Takashi und Kollegen untersuchten in diesem Kontext die zytologischen Proben von 22 Patienten, die im Rahmen ihrer Therapie zuvor eine Instillationstherapie mit *BCG* erhalten haben und verglichen diese mit Zytologien ohne Vorbehandlung mit *BCG*. Voraussetzung hierbei war eine bioptisch gesicherte Tumorfreiheit. Hierbei konnten statistisch signifikante Veränderungen wie durchscheinende und prominente Zellkerne, Vakuolisierung und eosinophile Einschlüsse des Zytoplasmas sowie ein Anstieg der Anzahl der Granulozyten beobachtet werden. Diese Veränderungen erschienen insbesondere innerhalb der ersten drei Monate [70]. Ähnliche Beobachtungen machten ebenfalls Mack et al, die neben einem starken Anstieg von Entzündungszellen insbesondere zu Beginn der Therapie mit *BCG* vergrößerte Zellkerne, hyperchromatische und vergrößerte Nukleoli, eine Anisokaryose und ein verzerrtes Kern-Plasma-Verhältnis beobachteten. Ab dem zweiten Jahr nach initialer Instillation nahmen diese Veränderungen in dreimonatigen Abständen kontinuierlich ab. Bis zum Verschwinden war die zytologische Interpretation jedoch beeinträchtigt. Grundlage dieser Studie war die Auswertung der Zytologien von insgesamt 20 Patienten [71].

Eine Arbeitsgruppe um Betz et al beschrieb den Höhepunkt der Veränderungen ebenfalls innerhalb der ersten drei Monate. Diese beinhalteten einen Anstieg der Neutrophilen und Lymphozyten. Zudem wurde die Präsenz von freien Histozyten und Histozytenaggregaten beschrieben. Diese verschwanden durchschnittlich wieder nach insgesamt 9 bis 12 Monaten [160].

Auffällig war auch die Beobachtung einer Studie, bei der das Malignitätsrisiko der *SHGUC*- und *HGUC*-Gruppe der Pariser Klassifikation evaluiert wurde. Von insgesamt 29 Fällen, bei denen bioptisch keine Neoplasie nachgewiesen worden war, jedoch zytologisch entweder die Diagnose *SHGUC* oder *HGUC* gestellt wurde, hatten 24 Patienten eine Vorgeschichte mit *BCG* oder Mitomycin Instillationen. Insgesamt wurden hierbei 189 Zytologien untersucht [164].

Interessant sind in diesem Kontext auch die Beobachtungen von Bakkar sowie Northrup et al, die im Rahmen einer Studie zur Evaluierung der Pariser Klassifikation einen Anstieg von Biopsie bestätigten *HGUC*-Karzinomen beobachtet haben, die zytologisch fälschlicherweise als *NHGUC* klassifiziert wurden [77, 165]. Als ursächlich dafür stellten diese unter anderem die Hypothese einer im Hintergrund ablaufenden Entzündungsreaktion, beziehungsweise Zelldegeneration, auf.

In unserer Studie haben wir uns daher die Frage gestellt, ob die Begleitumstände, die mit einer *BCG*-Instillation einhergehen können, mit einer von der Biopsie abweichenden Befundung assoziiert sind. Zum einen wurde die Korrelation mit dem unspezifischem vermehrten Vorkommen von Granulozyten, Lymphozyten und Erythrozyten in der urinzytologischen Probe erhoben. Da diese Zellen oftmals numerisch die urothelialen Zellen übertreffen können, könnte somit die Befundung

eingeschränkt sein. In unserer Studie zeigte sich diesbezüglich jedoch keine Korrelation für falsche zytologische Befunde, sowie unterteilt in falsch-positive und falsch-negative Befunde. Interessanterweise wurde jedoch ein Zusammenhang zwischen falsch-positiven Befunden und einer reaktiven Atypie sowie einer zellulären Degeneration nachgewiesen. Die reaktive Atypie ist ein Phänomen, bei dem durch inflammatorischen Stress die Zellen morphologisch aberrieren können. Diese ist zytologisch oftmals nicht von malignen Veränderungen zu unterscheiden. Ebenfalls können Zeichen der zellulären Degeneration, wie eine Vakuolisierung oder Lyse des Zellkerns, dysplastische Zellen imitieren.

Folglich ist eine Wiederholung der Zytologie bei vermehrtem Vorkommen von Entzündungszellen nicht nötig, da diese die Qualität der Befundung nicht beeinflussen. Jedoch erschweren morphologische Aberrationen der reaktiven Atypie und Zelldegeneration die Differenzierung zwischen maligne und reaktiv veränderten Urothelzellen.

## 5.5 Hohes Rezidivrisiko bei falsch-positivem zytologischem Befund

Schließlich haben wir uns mit dem onkologischen *follow up* der Patienten auseinandergesetzt, bei denen zytologisch ein *HGUC* diagnostiziert wurde, der bioptische Befund jedoch unauffällig war. Diese falsch-positiven Befunde stellen eine Herausforderung für die Planung der Nachsorge dar [161]. Wichtig ist, dass bei knapp der Hälfte der Patienten, die die Nachsorge im Klinikum der Universität München wahrgenommen haben, ein *high grade* Tumor im Rahmen folgender Nachuntersuchungen bioptisch gesichert wurde. Bei den meisten hat es sich hierbei um *Carcinoma in situ* gehandelt. Dies ist bemerkenswert, da fast 90% der Biopsien photodynamisch unterstützt entnommen wurden. Diese kann jedoch insbesondere durch entzündlich verändertes Gewebe nach *BCG*-Instillationstherapie kompromittiert werden [32, 38, 39]. Den Ergebnissen folgend, sollten Patienten mit positiver Zytologie und negativer Biopsie einer engmaschigen Nachsorge, bestehend aus regelmäßigen Zystoskopien mit möglicher Biopsieentnahme und Abklärungen des oberen Harntrakts, empfohlen werden.

## 5.6 Fazit

Schlussendlich lassen sich aus der vorliegenden Studie drei wesentliche Aspekte für den klinischen Umgang der Urinzytologie bei Patienten nach Therapie mit *Bacillus Calmette-Guérin* ableiten.

Erstens sollte neben der *HGUC*- die *SHGUC*-Gruppe als positiv interpretiert werden, da hierbei die Sensitivität maßgeblich gesteigert werden kann, bei nur geringen Verlusten der Spezifität. Hierdurch kann die Diagnostik rechtzeitig erweitert werden, um gegebenenfalls eine Therapie einzuleiten. Zusätzlich wird eine invasive Überdiagnostik vermieden.

Zweitens ist die Kenntnis des Untersuchers bezüglich einer *BCG*-Instillationstherapie unabdingbar, da insbesondere im unmittelbaren Intervall der Applikation die diagnostische Validität der Urinzytologie kompromittiert ist.

Schließlich sollten Patienten mit unauffälligem histopathologischen Befund nach Biopsie, jedoch auffälliger Zytologie, einer engmaschigen Nachsorge, aufgrund eines hohen Rezidivrisikos, unterzogen werden.

Insgesamt ist eine besondere Stärke der vorliegenden Studie, dass sie bis heute die größte Kohorte für die Untersuchung der Urinzytologie nach *BCG*-Therapie abbilden kann. Zudem wurde konsistent für die Befundung aller zytologischen Proben die Pariser Klassifikation angewandt. Außerdem lässt sich in der Literatur bislang keine Studie finden, die unterschiedliche Zeitintervalle zwischen *BCG*-Applikation und Entnahme der Zytologie in den Kontext der Qualität der Zytologie setzt. Neben den Stärken sind jedoch auch die Schwächen der Studie zu nennen. Diese beinhalten insbesondere das retrospektive Design der Studie, sowie der Tatsache, dass nicht für alle falsch-positiven Fälle ein onkologisches *follow up* zur Verfügung stand.

Aufgrund der Einschränkungen der Zytologie werden aktuell Urinmarker auf der Grundlage von RNA, DNA und extrazellulären Bestandteilen untersucht [166]. Solange diese jedoch noch nicht für den breiten klinischen Gebrauch von den Leitlinien empfohlen werden, sowie im Setting nach stattgehabter *BCG*-Therapie nicht ausreichend untersucht sind, bleibt die Urinzytologie eine essenzielle Säule in der Nachsorge des nicht muskelinvasiven Harnblasenkarzinoms.

## 6. Zusammenfassung

Für das nicht-muskelinvasive Harnblasenkarzinom ist eine effiziente Nachsorge essenziell, um ein Rezidiv rechtzeitig zu erkennen und einen Progress in das prognostisch schlechtere muskelinvasive Harnblasenkarzinom zu verhindern [61, 62, 100]. Ein Eckpfeiler der Nachsorge ist die Urinzytologie. Es gibt jedoch bislang wenig Daten, die eine mögliche Beeinträchtigung der diagnostischen Validität nach stattgehabter *BCG*-Installation unter Verwendung der 2016 eingeführten Pariser Klassifikation untersuchen.

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass für eine bestmögliche diagnostische Validität die Diagnosegruppen *SHGC* und *HGUC* als positiv für ein *high grade* Urothelkarzinom zusammengefasst werden sollten.

Weiterhin konnten insbesondere im zeitnahen Intervall (< 100 Tage) nach letzter *BCG*-Installation, Einschränkungen der diagnostischen Validität beobachtet werden. Dies betrifft insbesondere die Sensitivität.

Eine Korrelation zwischen einem Infektgeschehen im Rahmen einer signifikanten Anzahl von Lymphozyten, Bakterien, Granulozyten und Erythrozyten und einer fehlerhaften Urinzytologie ließ sich nicht eruieren. Jedoch korreliert eine reaktive Atypie sowie Zelldegeneration statistisch signifikant mit falsch-positiven Befunden.

Schließlich wurde eine erhöhte Rezidivrate nach falsch-positiven zytologischen Befunden beobachtet. Hier empfiehlt sich eine engmaschige Nachsorge.

## Literaturverzeichnis

1. Robert Koch-Institut, G.d.e.K.i.D.e.V., *Krebs in Deutschland für 2013/2014, 11. Ausgabe*. 2017: p. 104-107.
2. Schulz, G.B., et al., *Bladder Cancer Stage Development, 2004-2014 in Europe Compared With the United States: Analysis of European Population-based Cancer Registries, the United States SEER Database, and a Large Tertiary Institutional Cohort*. Clin Genitourin Cancer, 2020. **18**(3): p. 162-170.e4.
3. Henning, A., et al., *Do differences in clinical symptoms and referral patterns contribute to the gender gap in bladder cancer?* BJU Int, 2013. **112**(1): p. 68-73.
4. Teoh, J.Y., et al., *Global Trends of Bladder Cancer Incidence and Mortality, and Their Associations with Tobacco Use and Gross Domestic Product Per Capita*. Eur Urol, 2020. **78**(6): p. 893-906.
5. Marcus, P.M., et al., *Cigarette smoking, N-acetyltransferase 2 acetylation status, and bladder cancer risk: a case-series meta-analysis of a gene-environment interaction*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2000. **9**(5): p. 461-7.
6. Reulen, R.C., et al., *A meta-analysis on the association between bladder cancer and occupation*. Scand J Urol Nephrol Suppl, 2008(218): p. 64-78.
7. Vineis, P. and R. Pirastu, *Aromatic amines and cancer*. Cancer Causes Control, 1997. **8**(3): p. 346-55.
8. Rushton, L., et al., *Occupation and cancer in Britain*. Br J Cancer, 2010. **102**(9): p. 1428-37.
9. Kaufman, J.M., et al., *Bladder cancer and squamous metaplasia in spinal cord injury patients*. J Urol, 1977. **118**(6): p. 967-71.
10. Bedwani, R., et al., *Schistosomiasis and the risk of bladder cancer in Alexandria, Egypt*. Br J Cancer, 1998. **77**(7): p. 1186-9.
11. Fairchild, W.V., et al., *The incidence of bladder cancer after cyclophosphamide therapy*. J Urol, 1979. **122**(2): p. 163-4.
12. Chaturvedi, A.K., et al., *Second cancers among 104,760 survivors of cervical cancer: evaluation of long-term risk*. J Natl Cancer Inst, 2007. **99**(21): p. 1634-43.
13. Aben, K.K., et al., *Familial aggregation of urothelial cell carcinoma*. Int J Cancer, 2002. **98**(2): p. 274-8.
14. Guey, L.T., et al., *Genetic susceptibility to distinct bladder cancer subphenotypes*. Eur Urol, 2010. **57**(2): p. 283-92.
15. Gu, J., et al., *Effects of N-acetyl transferase 1 and 2 polymorphisms on bladder cancer risk in Caucasians*. Mutat Res, 2005. **581**(1-2): p. 97-104.
16. Kiemenev, L.A., et al., *A sequence variant at 4p16.3 confers susceptibility to urinary bladder cancer*. Nat Genet, 2010. **42**(5): p. 415-9.
17. Kantor, A.F., et al., *Epidemiological characteristics of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the bladder*. Cancer Res, 1988. **48**(13): p. 3853-5.
18. Klosterhalfen, B. and P. Röttger, *Das nichtneoplastische Übergangsepithel der ableitenden Harnwege*, in *Urinzytologie und Sedimentanalyse: Praxis und Atlas*, P. Rathert, et al., Editors. 2018, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 7-13.
19. Humphrey, P.A., et al., *The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours*. Eur Urol, 2016. **70**(1): p. 106-119.
20. Epstein, J.I., et al., *The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder*. Bladder Consensus Conference Committee. Am J Surg Pathol, 1998. **22**(12): p. 1435-48.
21. Sylvester, R.J., et al., *High-grade Ta urothelial carcinoma and carcinoma in situ of the bladder*. Urology, 2005. **66**(6 Suppl 1): p. 90-107.

22. Kausch, I., et al., *Photodynamic diagnosis in non-muscle-invasive bladder cancer: a systematic review and cumulative analysis of prospective studies*. Eur Urol, 2010. **57**(4): p. 595-606.
23. Ramirez, D., et al., *Microscopic haematuria at time of diagnosis is associated with lower disease stage in patients with newly diagnosed bladder cancer*. BJU Int, 2016. **117**(5): p. 783-6.
24. Shephard, E.A., et al., *Clinical features of bladder cancer in primary care*. Br J Gen Pract, 2012. **62**(602): p. e598-604.
25. Witjes, J.A., et al., *European Association of Urology Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer: Summary of the 2020 Guidelines*. Eur Urol, 2021. **79**(1): p. 82-104.
26. Holmäng, S. and V. Ströck, *Should follow-up cystoscopy in bacillus Calmette-Guérin-treated patients continue after five tumour-free years?* Eur Urol, 2012. **61**(3): p. 503-7.
27. Soukup, V., et al., *Follow-up after surgical treatment of bladder cancer: a critical analysis of the literature*. Eur Urol, 2012. **62**(2): p. 290-302.
28. Mariappan, P. and G. Smith, *A surveillance schedule for G1Ta bladder cancer allowing efficient use of check cystoscopy and safe discharge at 5 years based on a 25-year prospective database*. J Urol, 2005. **173**(4): p. 1108-11.
29. Walker, L., T.G. Liston, and L.L.-D. RW, *Does flexible cystoscopy miss more tumours than rod-lens examination?* Br J Urol, 1993. **72**(4): p. 449-50.
30. Denholm, S.W., et al., *Morbidity following cystoscopy: comparison of flexible and rigid techniques*. Br J Urol, 1990. **66**(2): p. 152-4.
31. Seklehner, S., et al., *Prospective multi-institutional study analyzing pain perception of flexible and rigid cystoscopy in men*. Urology, 2015. **85**(4): p. 737-41.
32. Mowatt, G., et al., *Photodynamic diagnosis of bladder cancer compared with white light cystoscopy: Systematic review and meta-analysis*. Int J Technol Assess Health Care, 2011. **27**(1): p. 3-10.
33. Jocham, D., H. Stepp, and R. Waidelich, *Photodynamic diagnosis in urology: state-of-the-art*. Eur Urol, 2008. **53**(6): p. 1138-48.
34. Filbeck, T., et al., *Do patients profit from 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence diagnosis in transurethral resection of bladder carcinoma?* Urology, 2002. **60**(6): p. 1025-8.
35. Fukuda, H., S. Paredes, and A.M. Batlle, *Tumour-localizing properties of porphyrins. In vivo studies using free and liposome encapsulated aminolevulinic acid*. Comp Biochem Physiol B, 1992. **102**(2): p. 433-6.
36. Navone, N.M., et al., *Heme biosynthesis in human breast cancer—mimetic “in vitro” studies and some heme enzymic activity levels*. International Journal of Biochemistry, 1990. **22**(12): p. 1407-1411.
37. Burger, M., et al., *Photodynamic diagnosis of non-muscle-invasive bladder cancer with hexaminolevulinate cystoscopy: a meta-analysis of detection and recurrence based on raw data*. Eur Urol, 2013. **64**(5): p. 846-54.
38. Doehn, C., *[Endourological imaging with narrow band imaging]*. Urologe A, 2012. **51**(6): p. 784-90.
39. Chang, S.S., et al., *Diagnosis and Treatment of Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: AUA/SUO Guideline*. Journal of Urology, 2016. **196**(4): p. 1021-1029.
40. Witjes, J.A., et al., *Clinical and cost effectiveness of hexaminolevulinate-guided blue-light cystoscopy: evidence review and updated expert recommendations*. Eur Urol, 2014. **66**(5): p. 863-71.
41. Babjuk, M., et al., *European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (TaT1 and Carcinoma In Situ) - 2019 Update*. European Urology, 2019. **76**(5): p. 639-657.

42. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, D.K. and AWMF, *Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Harnblasenkarzinoms*. 2020. **Langversion 2.0**.
43. Naselli, A., et al., *A randomized prospective trial to assess the impact of transurethral resection in narrow band imaging modality on non-muscle-invasive bladder cancer recurrence*. *Eur Urol*, 2012. **61**(5): p. 908-13.
44. Cauberg, E.C., et al., *Narrow band imaging cystoscopy improves the detection of non-muscle-invasive bladder cancer*. *Urology*, 2010. **76**(3): p. 658-63.
45. Zheng, C., et al., *Narrow band imaging diagnosis of bladder cancer: systematic review and meta-analysis*. *BJU Int*, 2012. **110**(11 Pt B): p. E680-7.
46. Harving, N., H. Wolf, and F. Melsen, *Positive urinary cytology after tumor resection: an indicator for concomitant carcinoma in situ*. *J Urol*, 1988. **140**(3): p. 495-7.
47. Rathert, I. and S. Roth, *Urinzytologische Arbeitstechniken*, in *Urinzytologie und Sedimentanalyse: Praxis und Atlas*, P. Rathert, et al., Editors. 2018, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 39-67.
48. Vom Dorp, F., et al., *Correlation of pathological and cytological-cytometric grading of transitional cell carcinoma of the urinary tract*. *Urol Int*, 2011. **86**(1): p. 36-40.
49. Rohilla, M., et al., *Cytohistological correlation of urine cytology in a tertiary centre with application of the Paris system*. *Cytopathology*, 2018. **29**(5): p. 436-443.
50. Yafi, F.A., et al., *Prospective analysis of sensitivity and specificity of urinary cytology and other urinary biomarkers for bladder cancer*. *Urol Oncol*, 2015. **33**(2): p. 66.e25-31.
51. Raisi, O., et al., *The diagnostic reliability of urinary cytology: a retrospective study*. *Diagn Cytopathol*, 2012. **40**(7): p. 608-14.
52. Mowatt, G., et al., *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*, 2010. **14**(4): p. 1-331, iii-iv.
53. Raitanen, M.P., et al., *Differences between local and review urinary cytology in diagnosis of bladder cancer. An interobserver multicenter analysis*. *Eur Urol*, 2002. **41**(3): p. 284-9.
54. Meilleroux, J., et al., *One year of experience using the Paris System for Reporting Urinary Cytology*. *Cancer Cytopathol*, 2018. **126**(6): p. 430-436.
55. Lokeshwar, V.B., et al., *Bladder tumor markers beyond cytology: International Consensus Panel on bladder tumor markers*. *Urology*, 2005. **66**(6 Suppl 1): p. 35-63.
56. Yafi, F.A., et al., *Is the performance of urinary cytology as high as reported historically? A contemporary analysis in the detection and surveillance of bladder cancer*. *Urol Oncol*, 2014. **32**(1): p. 27.e1-6.
57. Lotan, Y. and C.G. Roehrborn, *Sensitivity and specificity of commonly available bladder tumor markers versus cytology: results of a comprehensive literature review and meta-analyses*. *Urology*, 2003. **61**(1): p. 109-18; discussion 118.
58. Glas, A.S., et al., *Tumor markers in the diagnosis of primary bladder cancer. A systematic review*. *J Urol*, 2003. **169**(6): p. 1975-82.
59. van Rhijn, B.W., H.G. van der Poel, and T.H. van der Kwast, *Urine markers for bladder cancer surveillance: a systematic review*. *Eur Urol*, 2005. **47**(6): p. 736-48.
60. Wiener, H.G., G.P. Vooijs, and B. van't Hof-Grootenboer, *Accuracy of urinary cytology in the diagnosis of primary and recurrent bladder cancer*. *Acta Cytol*, 1993. **37**(2): p. 163-9.
61. Fernandez-Gomez, J., et al., *Predicting nonmuscle invasive bladder cancer recurrence and progression in patients treated with bacillus Calmette-Guerin: the CUETO scoring model*. *J Urol*, 2009. **182**(5): p. 2195-203.
62. CUETO, S.U.C.f.O.T., *CUETO Bladder Cancer Risk Calculator*. Accessed June 1, 2021.
63. Seitz, M., et al., *Harnblasentumoren*. *Der Urologe*, 2005. **44**(9): p. 1073-1086.
64. Murphy, W.M., *What's the trouble with cytology?* *J Urol*, 2006. **176**(6 Pt 1): p. 2343-6.

65. Rosenthal, D.L., E.M. Wojcik, and D.F. Kurtycz, *The Paris system for reporting urinary cytology*. 2016: Springer.
66. München, U.K.u.P.d.L.-M.U. 2019.
67. Busch, Y., et al., [*Effect of disturbing factors on the specificity of exfoliative urinary cytology*]. *Urologe A*, 2007. **46**(9): p. 1141-4.
68. Rathert, P. and S. Roth, *Indikationen zur Urinzytologie*, in *Urinzytologie und Sedimentanalyse: Praxis und Atlas*, P. Rathert, et al., Editors. 2018, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 1-6.
69. Pettenati, C. and M.A. Ingersoll, *Mechanisms of BCG immunotherapy and its outlook for bladder cancer*. *Nat Rev Urol*, 2018. **15**(10): p. 615-625.
70. Takashi, M., et al., *Cytological changes induced by intravesical bacillus Calmette-Guérin therapy for superficial bladder cancer*. *Urol Int*, 2000. **64**(2): p. 74-81.
71. Mack, D. and J. Frick, *Diagnostic problems of urine cytology on initial follow-up after intravesical immunotherapy with Calmette-Guerin bacillus for superficial bladder cancer*. *Urol Int*, 1994. **52**(4): p. 204-7.
72. Nurminen, P., et al., *Urine cytology is a feasible tool for assessing erythematous bladder lesions after bacille Calmette-Guerin (BCG) treatment*. *BJU Int*, 2019. **123**(2): p. 246-251.
73. Gupta, M., et al., *Impact of intravesical therapy for non-muscle invasive bladder cancer on the accuracy of urine cytology*. *World Journal of Urology*, 2019. **37**(10): p. 2051-2058.
74. Hermans, J., et al., *Impact of bacillus Calmette-Guerin intravesical therapy on the diagnostic efficacy of The Paris System for Reporting Urinary Cytology in patients with high-grade bladder cancer*. *Cancer Cytopathol*, 2021.
75. Glatz, K., et al., *An international telecytologic quiz on urinary cytology reveals educational deficits and absence of a commonly used classification system*. *Am J Clin Pathol*, 2006. **126**(2): p. 294-301.
76. Long, T., et al., *Interobserver reproducibility of the Paris system for reporting urinary cytology*. *Cytojournal*, 2017. **14**: p. 7.
77. Bakkar, R., et al., *Impact of the Paris system for reporting urine cytopathology on predictive values of the equivocal diagnostic categories and interobserver agreement*. *Cytojournal*, 2019. **16**: p. 21.
78. Sahai, R., et al., *Interobserver reproducibility of The Paris System of Reporting Urine Cytology on cytocentrifuged samples*. *Diagn Cytopathol*, 2020. **48**(11): p. 979-985.
79. Maas, M., et al., *Can urinary biomarkers replace cystoscopy?* *World Journal of Urology*, 2019. **37**(9): p. 1741-1749.
80. Xylinas, E., et al., *Urine markers for detection and surveillance of bladder cancer*. *Urol Oncol*, 2014. **32**(3): p. 222-9.
81. Kassouf, W., et al., *Follow-up in non-muscle-invasive bladder cancer-International Bladder Cancer Network recommendations*. *Urol Oncol*, 2016. **34**(10): p. 460-8.
82. Schmitz-Dräger, B.J., et al., *Considerations on the use of urine markers in the management of patients with low-/intermediate-risk non-muscle invasive bladder cancer*. *Urol Oncol*, 2014. **32**(7): p. 1061-8.
83. Chou, R., et al., *Urinary Biomarkers for Diagnosis of Bladder Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis*. *Ann Intern Med*, 2015. **163**(12): p. 922-31.
84. Trinh, T.W., et al., *Bladder cancer diagnosis with CT urography: test characteristics and reasons for false-positive and false-negative results*. *Abdom Radiol (NY)*, 2018. **43**(3): p. 663-671.
85. Millán-Rodríguez, F., et al., *Upper urinary tract tumors after primary superficial bladder tumors: prognostic factors and risk groups*. *J Urol*, 2000. **164**(4): p. 1183-7.
86. Palou, J., et al., *Multivariate analysis of clinical parameters of synchronous primary superficial bladder cancer and upper urinary tract tumor*. *J Urol*, 2005. **174**(3): p. 859-61; discussion 861.

87. Wang, L.J., et al., *Multidetector computerized tomography urography is more accurate than excretory urography for diagnosing transitional cell carcinoma of the upper urinary tract in adults with hematuria*. J Urol, 2010. **183**(1): p. 48-55.
88. Schulz, G.B., et al., *Wertigkeit der Bildgebung bei Tumoren des oberen Harntraktes*. Der Urologe, 2019. **58**(1): p. 5-13.
89. Hilton, S. and L.P. Jones, *Recent advances in imaging cancer of the kidney and urinary tract*. Surg Oncol Clin N Am, 2014. **23**(4): p. 863-910.
90. Sylvester, R.J., et al., *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*. European Urology, 2006. **49**(3): p. 466-477.
91. Fernandez-Gomez, J., et al., *The EORTC tables overestimate the risk of recurrence and progression in patients with non-muscle-invasive bladder cancer treated with bacillus Calmette-Guérin: external validation of the EORTC risk tables*. Eur Urol, 2011. **60**(3): p. 423-30.
92. Mariappan, P., A. Zachou, and K.M. Grigor, *Detrusor muscle in the first, apparently complete transurethral resection of bladder tumour specimen is a surrogate marker of resection quality, predicts risk of early recurrence, and is dependent on operator experience*. Eur Urol, 2010. **57**(5): p. 843-9.
93. Brausi, M., et al., *Variability in the recurrence rate at first follow-up cystoscopy after TUR in stage Ta T1 transitional cell carcinoma of the bladder: a combined analysis of seven EORTC studies*. Eur Urol, 2002. **41**(5): p. 523-31.
94. Baltaci, S., et al., *Significance of the interval between first and second transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with high-risk non-muscle-invasive bladder cancer treated with maintenance intravesical Bacillus Calmette-Guerin*. BJU Int, 2015. **116**(5): p. 721-6.
95. von Schmelting, I.K., *Urothelkarzinom der Harnblase: Transurethrale Resektion und photodynamische Verfahren*, in *Die Urologie*, M.S. Michel, et al., Editors. 2016, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 721-730.
96. Sylvester, R.J., W. Oosterlinck, and A.P. van der Meijden, *A single immediate postoperative instillation of chemotherapy decreases the risk of recurrence in patients with stage Ta T1 bladder cancer: a meta-analysis of published results of randomized clinical trials*. J Urol, 2004. **171**(6 Pt 1): p. 2186-90, quiz 2435.
97. Sylvester, R.J., et al., *Systematic Review and Individual Patient Data Meta-analysis of Randomized Trials Comparing a Single Immediate Instillation of Chemotherapy After Transurethral Resection with Transurethral Resection Alone in Patients with Stage pTa-pT1 Urothelial Carcinoma of the Bladder: Which Patients Benefit from the Instillation?* Eur Urol, 2016. **69**(2): p. 231-44.
98. Malmstrom, P.U., et al., *An individual patient data meta-analysis of the long-term outcome of randomised studies comparing intravesical mitomycin C versus bacillus Calmette-Guerin for non-muscle-invasive bladder cancer*. Eur Urol, 2009. **56**(2): p. 247-56.
99. Bohle, A. and P.R. Bock, *Intravesical bacille Calmette-Guerin versus mitomycin C in superficial bladder cancer: formal meta-analysis of comparative studies on tumor progression*. Urology, 2004. **63**(4): p. 682-6; discussion 686-7.
100. Sylvester, R.J., M.A. van der, and D.L. Lamm, *Intravesical bacillus Calmette-Guerin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials*. J Urol, 2002. **168**(5): p. 1964-70.
101. Sylvester, R.J., W. Oosterlinck, and J.A. Witjes, *The schedule and duration of intravesical chemotherapy in patients with non-muscle-invasive bladder cancer: a systematic review of the published results of randomized clinical trials*. Eur Urol, 2008. **53**(4): p. 709-19.

102. Kaasinen, E., et al., *Factors explaining recurrence in patients undergoing chemoimmunotherapy regimens for frequently recurring superficial bladder carcinoma*. Eur Urol, 2002. **42**(2): p. 167-74.
103. Bouffieux, C., et al., *Intravesical adjuvant chemotherapy for superficial transitional cell bladder carcinoma: results of 2 European Organization for Research and Treatment of Cancer randomized trials with mitomycin C and doxorubicin comparing early versus delayed instillations and short-term versus long-term treatment*. European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Group. J Urol, 1995. **153**(3 Pt 2): p. 934-41.
104. Redelman-Sidi, G., M.S. Glickman, and B.H. Bochner, *The mechanism of action of BCG therapy for bladder cancer—a current perspective*. Nature Reviews Urology, 2014. **11**(3): p. 153-162.
105. Wiker, H.G. and M. Harboe, *The antigen 85 complex: a major secretion product of Mycobacterium tuberculosis*. Microbiol Rev, 1992. **56**(4): p. 648-61.
106. Abou-Zeid, C., et al., *Characterization of fibronectin-binding antigens released by Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium bovis BCG*. Infect Immun, 1988. **56**(12): p. 3046-51.
107. Zhao, W., et al., *Role of a bacillus Calmette-Guérin fibronectin attachment protein in BCG-induced antitumor activity*. Int J Cancer, 2000. **86**(1): p. 83-8.
108. Aslanzadeh, J., et al., *Characterization of soluble fibronectin binding to Bacille Calmette-Guérin*. J Gen Microbiol, 1989. **135**(10): p. 2735-41.
109. Ratliff, T.L., L.R. Kavoussi, and W.J. Catalona, *Role of fibronectin in intravesical BCG therapy for superficial bladder cancer*. J Urol, 1988. **139**(2): p. 410-4.
110. Mulvey, M.A., et al., *Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic Escherichia coli*. Science, 1998. **282**(5393): p. 1494-7.
111. Martinez, J.J., et al., *Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells*. Embo j, 2000. **19**(12): p. 2803-12.
112. Teppema, J.S., et al., *Morphological aspects of the interaction of Bacillus Calmette-Guérin with urothelial bladder cells in vivo and in vitro: relevance for antitumor activity?* Urol Res, 1992. **20**(3): p. 219-28.
113. Redelman-Sidi, G., et al., *Oncogenic activation of Pak1-dependent pathway of macropinocytosis determines BCG entry into bladder cancer cells*. Cancer Res, 2013. **73**(3): p. 1156-67.
114. Bisiaux, A., et al., *Molecular analyte profiling of the early events and tissue conditioning following intravesical bacillus calmette-guerin therapy in patients with superficial bladder cancer*. J Urol, 2009. **181**(4): p. 1571-80.
115. Bevers, R.F., et al., *BCG-induced interleukin-6 upregulation and BCG internalization in well and poorly differentiated human bladder cancer cell lines*. Eur Cytokine Netw, 1998. **9**(2): p. 181-6.
116. de Boer, E.C., et al., *Role of interleukin-8 in onset of the immune response in intravesical BCG therapy for superficial bladder cancer*. Urol Res, 1997. **25**(1): p. 31-4.
117. de Boer, E.C., et al., *Leukocytes in the urine after intravesical BCG treatment for superficial bladder cancer. A flow cytofluorometric analysis*. Urol Res, 1991. **19**(1): p. 45-50.
118. Brandau, S., et al., *NK cells are essential for effective BCG immunotherapy*. Int J Cancer, 2001. **92**(5): p. 697-702.
119. Wang, M.H., et al., *Cellular cytotoxicity of human natural killer cells and lymphokine-activated killer cells against bladder carcinoma cell lines*. Immunol Lett, 1991. **27**(3): p. 191-7.
120. Ratliff, T.L., et al., *T-cell subsets required for intravesical BCG immunotherapy for bladder cancer*. J Urol, 1993. **150**(3): p. 1018-23.

121. Suttman, H., et al., *Neutrophil granulocytes are required for effective Bacillus Calmette-Guérin immunotherapy of bladder cancer and orchestrate local immune responses*. *Cancer Res*, 2006. **66**(16): p. 8250-7.
122. Rosevear, H.M., et al., *The role of neutrophils and TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in bacillus Calmette-Guérin (BCG) immunotherapy for urothelial carcinoma of the bladder*. *Cancer Metastasis Rev*, 2009. **28**(3-4): p. 345-53.
123. Luo, Y. and M.J. Knudson, *Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin-induced macrophage cytotoxicity against bladder cancer cells*. *Clin Dev Immunol*, 2010. **2010**: p. 357591.
124. Leitch, A.E., C.D. Lucas, and A.G. Rossi, *Editorial: Neutrophil apoptosis: hot on the TRAIL of inflammatory resolution*. *J Leukoc Biol*, 2011. **90**(5): p. 841-3.
125. Ludwig, A.T., et al., *Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand: a novel mechanism for Bacillus Calmette-Guérin-induced antitumor activity*. *Cancer Res*, 2004. **64**(10): p. 3386-90.
126. Simons, M.P., M.A. O'Donnell, and T.S. Griffith, *Role of neutrophils in BCG immunotherapy for bladder cancer*. *Urol Oncol*, 2008. **26**(4): p. 341-5.
127. Kresowik, T.P. and T.S. Griffith, *Bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for urothelial carcinoma of the bladder*. *Immunotherapy*, 2009. **1**(2): p. 281-8.
128. Suttman, H., et al., *Mechanisms of bacillus Calmette-Guerin mediated natural killer cell activation*. *J Urol*, 2004. **172**(4 Pt 1): p. 1490-5.
129. Saint, F., et al., *[Mechanisms of action of BCG: towards a new individualized therapeutic approach?]*. *Prog Urol*, 2000. **10**(6): p. 1118-26.
130. Pryor, K., et al., *Bacillus Calmette-Guerin (BCG) enhances monocyte- and lymphocyte-mediated bladder tumour cell killing*. *Br J Cancer*, 1995. **71**(4): p. 801-7.
131. Prescott, S., et al., *HLA-DR expression by high grade superficial bladder cancer treated with BCG*. *Br J Urol*, 1989. **63**(3): p. 264-9.
132. Mitropoulos, D.N., *Novel insights into the mechanism of action of intravesical immunomodulators*. *In Vivo*, 2005. **19**(3): p. 611-21.
133. Stefanini, G.F., et al., *Class I and class II HLA antigen expression by transitional cell carcinoma of the bladder: correlation with T-cell infiltration and BCG treatment*. *J Urol*, 1989. **141**(6): p. 1449-53.
134. Zuiverloon, T.C., et al., *Markers predicting response to bacillus Calmette-Guérin immunotherapy in high-risk bladder cancer patients: a systematic review*. *Eur Urol*, 2012. **61**(1): p. 128-45.
135. Shelley, M.D., et al., *Intravesical bacillus Calmette-Guerin is superior to mitomycin C in reducing tumour recurrence in high-risk superficial bladder cancer: a meta-analysis of randomized trials*. *BJU Int*, 2004. **93**(4): p. 485-90.
136. Shelley, M.D., et al., *A systematic review of intravesical bacillus Calmette-Guerin plus transurethral resection vs transurethral resection alone in Ta and T1 bladder cancer*. *BJU Int*, 2001. **88**(3): p. 209-16.
137. Bohle, A., D. Jocham, and P.R. Bock, *Intravesical bacillus Calmette-Guerin versus mitomycin C for superficial bladder cancer: a formal meta-analysis of comparative studies on recurrence and toxicity*. *J Urol*, 2003. **169**(1): p. 90-5.
138. Han, R.F. and J.G. Pan, *Can intravesical bacillus Calmette-Guerin reduce recurrence in patients with superficial bladder cancer? A meta-analysis of randomized trials*. *Urology*, 2006. **67**(6): p. 1216-23.
139. Sylvester, R.J., et al., *Long-term efficacy results of EORTC genito-urinary group randomized phase 3 study 30911 comparing intravesical instillations of epirubicin, bacillus Calmette-Guerin, and bacillus Calmette-Guerin plus isoniazid in patients with intermediate- and high-risk stage Ta T1 urothelial carcinoma of the bladder*. *Eur Urol*, 2010. **57**(5): p. 766-73.
140. Oddens, J., et al., *Final results of an EORTC-GU cancers group randomized study of maintenance bacillus Calmette-Guerin in intermediate- and high-risk Ta, T1 papillary*

- carcinoma of the urinary bladder: one-third dose versus full dose and 1 year versus 3 years of maintenance.* Eur Urol, 2013. **63**(3): p. 462-72.
141. Lamm, D.L., et al., *Maintenance bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for recurrent TA, T1 and carcinoma in situ transitional cell carcinoma of the bladder: a randomized Southwest Oncology Group Study.* J Urol, 2000. **163**(4): p. 1124-9.
142. Brausi, M., et al., *Side effects of Bacillus Calmette-Guerin (BCG) in the treatment of intermediate- and high-risk Ta, T1 papillary carcinoma of the bladder: results of the EORTC genito-urinary cancers group randomised phase 3 study comparing one-third dose with full dose and 1 year with 3 years of maintenance BCG.* Eur Urol, 2014. **65**(1): p. 69-76.
143. Badalato, G.M., et al., *Immediate radical cystectomy vs conservative management for high grade cT1 bladder cancer: is there a survival difference?* BJU Int, 2012. **110**(10): p. 1471-7.
144. Weiss, C., et al., *Radiochemotherapy after transurethral resection for high-risk T1 bladder cancer: an alternative to intravesical therapy or early cystectomy?* J Clin Oncol, 2006. **24**(15): p. 2318-24.
145. Stein, J.P. and D.G. Skinner, *Surgical atlas. Radical cystectomy.* BJU Int, 2004. **94**(1): p. 197-221.
146. Cody, J.D., et al., *Urinary diversion and bladder reconstruction/replacement using intestinal segments for intractable incontinence or following cystectomy.* Cochrane Database Syst Rev, 2012(2): p. Cd003306.
147. Kamat, A.M., et al., *The case for early cystectomy in the treatment of nonmuscle invasive micropapillary bladder carcinoma.* J Urol, 2006. **175**(3 Pt 1): p. 881-5.
148. Willis, D.L., et al., *Clinical outcomes of cT1 micropapillary bladder cancer.* J Urol, 2015. **193**(4): p. 1129-34.
149. Raj, G.V., et al., *Treatment paradigm shift may improve survival of patients with high risk superficial bladder cancer.* J Urol, 2007. **177**(4): p. 1283-6; discussion 1286.
150. Madersbacher, S., et al., *Radical cystectomy for bladder cancer today--a homogeneous series without neoadjuvant therapy.* J Clin Oncol, 2003. **21**(4): p. 690-6.
151. Nagele, U., et al., *The rationale for radical cystectomy as primary therapy for T4 bladder cancer.* World J Urol, 2007. **25**(4): p. 401-5.
152. von der Maase, H., et al., *Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer.* J Clin Oncol, 2005. **23**(21): p. 4602-8.
153. De Santis, M., et al., *Randomized phase II/III trial assessing gemcitabine/carboplatin and methotrexate/carboplatin/vinblastine in patients with advanced urothelial cancer who are unfit for cisplatin-based chemotherapy: EORTC study 30986.* J Clin Oncol, 2012. **30**(2): p. 191-9.
154. Balar, A.V., et al., *Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial.* Lancet, 2017. **389**(10064): p. 67-76.
155. Moslehi, J.J., et al., *Increased reporting of fatal immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis.* Lancet, 2018. **391**(10124): p. 933.
156. Balar, A.V., et al., *First-line pembrolizumab in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and unresectable or metastatic urothelial cancer (KEYNOTE-052): a multicentre, single-arm, phase 2 study.* Lancet Oncol, 2017. **18**(11): p. 1483-1492.
157. Powles, T., et al., *Atezolizumab versus chemotherapy in patients with platinum-treated locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (IMvigor211): a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial.* Lancet, 2018. **391**(10122): p. 748-757.
158. Bellmunt, J., et al., *Pembrolizumab as Second-Line Therapy for Advanced Urothelial Carcinoma.* N Engl J Med, 2017. **376**(11): p. 1015-1026.
159. Landis, J.R. and G.G. Koch, *The measurement of observer agreement for categorical data.* Biometrics, 1977. **33**(1): p. 159-74.

- 
160. Betz, S.A., W.A. See, and M.B. Cohen, *Granulomatous inflammation in bladder wash specimens after intravesical bacillus Calmette-Guerin therapy for transitional cell carcinoma of the bladder*. *Am J Clin Pathol*, 1993. **99**(3): p. 244-8.
  161. Palou, J., M. Brausi, and J.W.F. Catto, *Management of Patients with Normal Cystoscopy but Positive Cytology or Urine Markers*. *Eur Urol Oncol*, 2020. **3**(4): p. 548-554.
  162. Guy, L., et al., *Should bladder biopsies be performed routinely after bacillus Calmette-Guerin treatment for high-risk superficial transitional cell cancer of the bladder?* *Eur Urol*, 2006. **50**(3): p. 516-20; discussion 520.
  163. Moulavasilis, N., et al., *Risk of malignancy assessment for the Paris System for reporting urinary cytology*. *Diagn Cytopathol*, 2020. **48**(12): p. 1194-1198.
  164. Nguyen, L., et al., *Should "suspicious for high-grade urothelial carcinoma" and "positive for high-grade urothelial carcinoma" remain separate categories?* *Cancer Cytopathol*, 2021. **129**(2): p. 156-163.
  165. Northrup, V., et al., *Clinical follow up and the impact of the Paris system in the assessment of patients with atypical urine cytology*. *Diagnostic Cytopathology*, 2018. **46**(12): p. 1022-1030.
  166. Ng, K., et al., *Urinary biomarkers in bladder cancer: A review of the current landscape and future directions*. *Urol Oncol*, 2021. **39**(1): p. 41-51.

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen danken, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

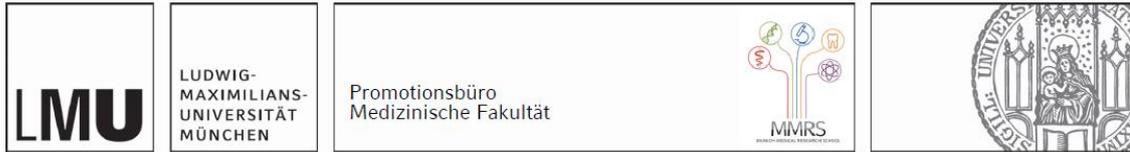
Mein besonderer Dank gilt PD Dr. med. Gerald Schulz für die ausgezeichnete Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung und Umsetzung der gesamten Arbeit.

Außerdem möchte ich mich bei Prof. Dr. med. Christian Stief und Prof. Dr. med. Stefan Tritschler für die Ermöglichung und Umsetzung des Projektes bedanken.

Des Weiteren möchte ich zudem Roswitha Fischer und Prof. Dr. med. Buchner meinen Dank äußern, die meine Arbeit durch ihre Unterstützung wesentlich vereinfacht haben.

Schließlich möchte ich meiner Familie für ihre Geduld und Zusprüche während der Arbeit an dieser Dissertation danken.

## Affidavit



### Eidesstattliche Versicherung

Hermans, Julian Sebastian Robert

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

***Einfluss der BCG-Instillationstherapie auf die diagnostische Validität der Urinzytologie bei der Detektion von high grade Urothelkarzinomen der Harnblase***

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 01.11.2023

Ort, Datum

Julian Sebastian Robert Hermans

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

## **Lebenslauf**



## Publikationsliste

**Hermans J**, Jokisch F, Volz Y, Eismann L, Pfitzinger P, Ebner B, Weinhold P, Schlenker B, Stief CG, Tritschler S, Schulz GB. Impact of bacillus Calmette-Guerin intravesical therapy on the diagnostic efficacy of The Paris System for Reporting Urinary Cytology in patients with high-grade bladder cancer. *Cancer Cytopathol.* 2021 Dec 17.