

VYUŽITÍ KVANTITATIVNÍ DETEKCE PROTEINU BLÍZKÉHO FAKTORU H KOMPLEMENTU (BTA TRAK) V MOČI KE SLEDOVÁNÍ PACIENTŮ S Ta a T1 UROTELIÁLNÍMI NÁDORY MOČOVÉHO MĚCHÝŘE

M. Babjuk¹, M. Pešl¹, V. Soukup¹, M. Koštířová², E. Drncová³, L. Pecen⁴, J. Dvořáček¹

¹Urologická klinika Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK, Katedra urologie IPVZ, Praha

²Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK, Praha

³Oddělení nukleární medicíny, Nemocnice na Homolce, Praha

⁴Ústav informatiky, Akademie věd ČR

Souhrn

Úvod: Cílem naší práce je definovat potenciální roli a přínos testu BTA TRAK při dispenzarizaci pacientů s Ta a T1 nádory močového měchýře.

Soubor a metodika: Do studie bylo zařazeno 81 nemocných s primárním uroteliálním karcinomem močového měchýře kategorie Ta a T1 léčených transuretrální resekci (TUR). Pacienti byli sledováni obvyklým způsobem pomocí pravidelných cystoskopických kontrol. Moč na stanovení BTA TRAK testu byla odebrána před vstupní TUR a dále před každou kontrolní cystoskopií. Hodnota BTA TRAK testu byla korelována s výsledkem endoskopického vyšetření. Ke korelaci jsme použili nejen absolutní hodnotu testu, ale i dva indexy, které uvažují hodnotu testu před vstupní TUR (Index 1), respektive před první kontrolní cystoskopií (Index 2).

Výsledky: V průběhu sledování bylo provedeno 252 cystoskopií u 81 pacientů, recidiva nádoru byla zachycena v 80 případech (31,7%) u 47 nemocných. Průměrné hodnoty BTA TRAK, Indexu 1 a Indexu 2 byly vyšší u pacientů s recidivou onemocnění než u pacientů bez recidivy. Při použití prahové hodnoty nastavené na 95% specifitu dosáhla senzitivita BTA TRAK 27,5%. Použití Indexu 1 ani Indexu 2 nevedlo ke zvýšení senzitivity. Při prahové hodnotě 0,91 U/ml dosáhla senzitivita 90% (metoda zachytí všechny invazivní a špatně diferencované tumory) a specifita 28,8%.

Závěr: Průměrná hodnota BTA TRAK testu byla signifikantně vyšší u pacientů s recidivou uroteliálního nádoru než u nemocných bez recidivy. U vybraných pacientů s nízkou hodnotou markeru lze uvažovat o prodloužení intervalu do příští cystoskopické kontroly.

Klíčová slova: Ta a T1 uroteliální karcinomy močového měchýře, dispenzarizace, cystoskopie, BTA TRAK.

UTILIZATION OF QUANTITATIVE DETECTION OF COMPLEMENT FACTOR H-RELATED PROTEIN (BTA TRAK) IN URINE TO MONITOR PATIENTS WITH TA AND T1 UROTHELIAL BLADDER CARCINOMA

Summary

Introduction: Our objective was to define the possible role and benefit of the BTA TRAK test in the surveillance of patients with Ta and T1 bladder tumours.

Material and methods: Eighty-one patients with primary Ta and T1 urothelial cell carcinoma of the bladder treated by transurethral resection (TUR) were included in the study. The patients were followed routinely with cystoscopy at regular intervals. Urine samples for BTA TRAK testing were collected prior to initial transurethral resection and then prior to each check cystoscopy. The value of the BTA TRAK test was correlated to the result of the endoscopic investigation. Correlation was performed using the absolute value of the test as well as two indexes which take into account the value of the test prior to both the initial TUR and the first check cystoscopy (Index 1 and Index 2, respectively).

Results: During follow-up, 252 cystoscopies were performed in 81 patients with 80 cases (31.7%) of tumour recurrence detected in 47 patients. The mean values of BTA TRAK, Index 1, and Index 2 were higher in patients with recurrence of disease as compared to those without recurrence. When a cutoff value set at 95% specificity was used, BTA TRAK sensitivity reached 27.5%. The use of Index 1 and Index 2 did not result in an increase in sensitivity. At a cutoff value of 0.91 U/ml, sensitivity and specificity reached 90% (all invasive and poorly differentiated tumours are detected) and 28.8%, respectively.

Conclusion: The mean value of BTA TRAK was significantly higher in patients with recurrence of urothelial carcinoma than in those without recurrence. In selected patients with a low level of the marker, prolonging of the interval until the next check cystoscopy may be considered.

Key words: Ta and T1 urothelial cell carcinoma of the bladder, surveillance, cystoscopy, BTA TRAK.

Česká urologie 2006; 3: 5–9

Úvod

Dle údajů Národního onkologického registru České republiky nově onemocnělo v roce 1999 nádorem močového měchýře 1 459 mužů a 554 žen. Představuje to stan-

dardizovanou incidenci 20/100 000 u mužů a 5,4/100 000 u žen, což jsou zhruba dvojnásobné hodnoty oproti údajům z roku 1970 (1).

Zhruba 70% uroteliálních karcinomů je v době diagnózy klasifikováno jako Ta, T1 nebo Tis (2). Společným rysem těchto nádorů je absence invaze do svaloviny detruzoru. Jejich léčení spočívá v transuretrální resekci (TUR), kterou v individuálních případech doplňujeme o následnou intravezikální imunoterapii nebo chemoterapii.

Typickým rysem Ta a T1 nádorů jsou časté recidivy, které se objevují až u 80% pacientů (3). V případě recidivy může dojít i k progresi, kdy opakovaně vzniklý tumor infiltruje svalovinu detruzoru. Toto riziko kolísá mezi 2% a 50% dle typu primárního nádoru (4).

Nezbytnou součástí péče je proto pečlivá dispenzarizace, jejímž cílem je včasná detekce případné recidivy. V současné době spočívá dispenzarizace v pravidelných cystoskopických kontrolách, které jsou dle možností pracoviště doplňovány o cytologické vyšetření moči. Přes technický pokrok v podobě flexibilních přístrojů zůstává cystoskopie invazivní a pro pacienta nepříjemnou metodou.

V posledních letech byla popsána celá řada neinvazivních metod založených na vyšetření moči, jejichž cílem je detekovat nebo vyloučit přítomnost uroteliálního nádoru (5). Přes velký pokrok nedokáže v současné době žádná ze studovaných metod cystoskopii zcela nahradit.

Cílem naší práce je definovat potenciální roli a přínos testu BTA TRAK při dispenzarizaci pacientů s Ta a T1 nádory močového měchýře. Princip BTA TRAK testu spočívá v kvantitativní detekci antigenu, který byl identifikován jako protein blízký faktoru H komplementu. Tento protein je schopen urychlit degradaci faktoru C3b v přítomnosti faktoru I a přerušit tak komplementovou kaskádu. Předpokládáme, že snížení aktivity komplementu umožní nádorovým buňkám překonat imunitní systém hostitele, což přináší určitou selektivní výhodu pro jejich růst (6).

Materiál a metodika

Do studie byli zařazeni nemocní s primárním uroteliálním karcinomem kategorie Ta a T1, u kterých byla provedena v období od května 2002 do března 2006 TUR. Vyřazeni byli všichni pacienti, u kterých byla indikována adjuvantní intravezikální imunoterapie nebo chemoterapie s výjimkou jednorázové aplikace chemoterapeutika ihned po výkonu. Charakteristika souboru 81 nemocných zařazených do studie je uvedena v tabulce 1.

Tabulka 1. Charakteristika souboru v době zařazení do studie

Pohlaví	63 mužů	18 žen
Věk	33–90 let (průměrný 66,2 roku)	
Kategorie T	48 Ta	33 T1
Grade	33 G1	48 G2
Četnost nádorů	31 solitárních	50 mnohočetných

Tabulka 2. Způsob výpočtu jednotlivých indexů použitých k hodnocení

Označení indexu	Vzorec výpočtu	Vysvětlivky
Index 1	aktuální hodnota / hodnota před vstupní TURB	
Index 2	aktuální hodnota / bazální hodnota	bazální hodnota je definována jako kvantita BTA TRAK před první kontrolní cystoskopií, v případě její velmi nízké hodnoty je nahrazena polovinou standardně používaných prahových hodnoty (tedy 6 U/ml)

Pacienti byli dále sledováni obvyklým způsobem pomocí pravidelných cystoskopických kontrol. První kontrola byla u všech zařazených provedena 3–4 měsíce po TUR. Další cystoskopie probíhaly v 3–6měsíčních intervalech dle charakteristiky primárního nádoru. V případě suspektního nálezu následovala endoskopie v narkóze s odběrem biopsií a transuretrální resekci. Všechny recidivy byly histologicky potvrzeny a byla u nich stanovena kategorie T a stupeň histologické diferenciaci.

Vzorek moči byl odebrán ne déle než 48 hodin před vstupní TUR a dále vždy před každou cystoskopickou kontrolou. Moč byla odeslána do biochemické laboratoře, ve které byl proveden BTA TRAK test přesně dle instrukcí výrobce. Pracovník hodnotící výsledek testu nebyl informován o nálezu při endoskopickém vyšetření. V případě klinického podezření na přítomnost uroinfekce byla část vzorku odeslána do mikrobiologické laboratoře k provedení běžného kultivačního vyšetření. V těchto případech následoval opakovaný odběr vzorku a cystoskopie až po přeléčení uroinfekce.

Hodnota BTA TRAK testu byla korelována s výsledkem endoskopického vyšetření, respektive s kategorií a stupněm diferenciaci tumoru v případě nálezu recidivy. Ke korelaci jsme použili nejen absolutní hodnotu proteinu blízkému faktoru H komplementu, ale i dva indexy, které uvažují hodnotu testu před vstupní TUR (Index 1), respektive před první kontrolní cystoskopií (Index 2). Způsob výpočtu indexů je uveden v tabulce 2.

Vzhledem k teoretickému riziku nesprávně negativního cystoskopického nálezu krátce po stanovení markeru jsme posuzovali rovněž vztah hodnoty BTA TRAK v době první kontrolní cystoskopie s rizikem vzniku recidivy v průběhu následujících 12 měsíců.

Tabulka 3. Charakteristiky nádorů v době recidivy

Kategorie T	51 Ta	21 T1	5 Tis	3 T2
Grade	42 G1	28 G2	10 G3	

Tabulka 4. Průměrná kvantita BTA TRAK, respektive průměrné hodnoty Indexu 1 a Indexu 2 u pacientů dle přítomnosti recidivy onemocnění

	Pozitivní cystoskopie	Negativní cystoskopie	P (ANOVA)
Průměrná hodnota BTA (U/ml)	34,4	9,7	< 0,0001
Průměrná hodnota Indexu 1	16,1	4,6	NS
Průměrná hodnota Indexu 2	2,0	0,6	< 0,0001

Ke statistickému zhodnocení byl použit statistický software S.A.S. verze 9.1 („Statistical Analyses Software, SAS Institute Inc., Cary, USA“).

Výsledky

Do studie bylo primárně zařazeno celkem 109 nemocných. Dvacet osm bylo následně vyřazeno pro jinou kategorii tumoru než Ta nebo T1, respektive pro indikaci adjuvantní intravezikální imunoterapie nebo chemoterapie.

V průběhu sledování bylo provedeno 252 cystoskopií u 81 pacientů, přičemž recidiva nádoru byla zachycena v 80 případech (31,7%) u 47 nemocných. Histologické charakteristiky nádorů v době recidivy jsou uvedeny v tabulce 3.

Průměrné hodnoty kvantity proteinu blízkému faktoru H komplementu, Indexu 1 a Indexu 2 byly vyšší u pacientů s recidivou onemocnění než u pacientů bez cystoskopicky prokázané recidivy (tabulka 4).

Pro posouzení senzitivity jsme použili prahové hodnoty nastavené na kvantitu dosahující 90% respektive 95% specifity (tabulka 5). Je patrné, že Index 1 uvažující výsledek testu před první resekci dosahuje nižší senzitivity než absolutní hodnota BTA TRAK. Určité, byť nevýznamné zlepšení přináší Index 2 uvažující hodnotu před první kontrolní cystoskopií. Senzitivita BTA TRAK stoupala v závislosti na hloubce invaze a na gradu recidivy (tabulka 6).

U 76 pacientů bylo možno hodnotit riziko vzniku recidivy během 12 měsíců následujících po stanovení markeru před první cystoskopickou kontrolou. Průměrná hodnota markeru u 39 pacientů, u kterých se v tomto období objevila recidiva, činila 26,1 U/ml oproti pouhým 7,9 U/ml u 37 nemocných bez recidivy ($p = 0,02$). Senzitivita pro předpověď recidivy činila 20,5% při 95% senzitivitě (prahová hodnota 54,8 U/ml).

Tabulka 5. Senzitivita BTA TRAK a Indexu 1, respektive Indexu 2 pro záchyt recidivy onemocnění

	Prahová hodnota nastavená na 90% specifitu	Senzitivita (%)	Prahová hodnota nastavená na 95% specifitu	Senzitivita (%)	AUC („Area under the curve“)
BTA	21,1 U/ml	42,5	56,2 U/ml	27,5	0,752
Index 1 BTA	2,9	28,8	6,2	13,8	0,685
Index 2 BTA	1,0	36,3	1,5	28,8	0,737

Tabulka 6. Senzitivita BTA TRAK pro záchyt recidiv dle jejich kategorie a histologické diferenciace. Prahové hodnoty nastaveny na 90%, respektive 95% specifitu

	Senzitivita (Prahová hodnota nastavena na 90% specifitu)	Senzitivita (Prahová hodnota nastavena na 95% specifitu)
Ta	35,4 %	16,7 %
T1	47,4 %	26,3 %
Tis	4/5 = 80 %	3/5 = 60 %
T2	2/3 = 66,7 %	2/3 = 66,7 %
G1	34,1 %	14,6 %
G2	44,0 %	24,0 %
G3	75 %	62,5 %

Diskuze

Cílem dispenzarizace pacientů s Ta a T1 uroteliálními nádory močového měchýře je záchyt recidivy onemocnění. Recidivu musíme detekovat co možná nejdříve v situacích, kdy je spojená s progresí do invazivní formy a kdy oddálení radikální léčby významně zhoršuje výsledky a ohrožuje život pacienta (7). Stejně tak bychom měli včas detekovat recidivy vysoce rizikových povrchových nádorů, u kterých lze včasným zahájením intravezikální imunoterapie BCG vakcínou snížit riziko progresse onemocnění (8). Naopak drobné a dobře diferencované neinvazivní tumory pacienta bezprostředně neohrožují, a jejich okamžitá detekce proto není nezbytným předpokladem úspěšné terapie (9).

Riziko recidivy a hlavně progresse povrchového nádoru lze předem odhadnout na základě prognostických faktorů, které umožňují zařazení do rizikových skupin a dle nejnovějších informací i vyslovení individuální prognózy (10, 11). Konkrétní dispenzarizační program je definován metodami použitými k detekci recidivy a frekvencí jednotlivých vyšetření. V běžné praxi je dispenzarizace realizována pomocí pravidelných cystoskopií a cytologických vyšetření moči. Intervaly mezi jednotlivými kontrolami jsou zpočátku tříměsíční a po určité době jsou prodloužovány v závislosti na nálezech a na charakteru primárního tumoru.

V ideálním případě by však strategie měla být volena individuálně. Musí snižovat na minimum riziko pozdní

diagnózy nebezpečné recidivy, ale nesmí být ani zbytečně agresivní v případech, kde pacient ohrožen není.

Přínos lze očekávat od použití biomarkerů, obdobně jako jsou využívány při sledování pacientů s jinými typy maligních tumorů, například karcinomu prostaty. Žádný ze současně dostupných neinvazivních uroteliálních markerů nedokáže zcela nahradit cystoskopii, protože nemá 100% senzitivitu a specifitu. Přesto lze očekávat jejich klinické využití, které však musí být přesně definováno.

Přínosem může být test, který sníží riziko přehlédnutí nádoru, například ložisek carcinoma in situ (Tis), a jehož pozitivní výsledek bude indikací k provedení biopsií. Takový test by měl mít vysokou specifitu a senzitivitu zvláště pro záchyt Tis, což v současné době nejlépe splňuje cytologické vyšetření (5, 12).

Přínosem by však byla i metoda umožňující prodloužení intervalu mezi cystoskopickými kontrolami. Podmínkou je, aby byla vysoce senzitivní, tedy aby její negativní výsledek prakticky vylučoval přítomnost uroteliálního nádoru (5, 12). V této indikaci není cytologické vyšetření vhodné, nabízí se však využití některé z kvantitativních metod, kde lze snížením prahové hodnoty dosáhnout požadované senzitivity.

V naší práci jsme se zaměřili na hodnocení již řadu let komerčně dostupného BTA TRAK testu. Na rozdíl od dříve publikovaných studií jsme zvolili metodiku, která je zaměřena na zevrubné posouzení role testu během sledování. Do studie jsme záměrně nezařadili pacienty, kterým byla aplikována intravezikální léčba, s výjimkou jednorázového podání chemoterapeutika ihned po TUR. Důvodem byl předpokládaný vliv instilační léčby na výsledek testu.

Naše výsledky potvrdily závislost koncentrace proteinu blízkého faktoru H komplementu na přítomnosti recidivy uroteliálního nádoru. Průměrná hodnota u pacientů s pozitivním histologickým nálezem byla nižší než v jiných studiích, což je způsobeno minimem invazivních a špatně diferencovaných nádorů (13). Senzitivita pro záchyt recidivy odpovídá výsledkům jiných studií, které zahrnovaly i primozáchyty nádorů (5, 13).

Vzhledem k opakovanému a průběžnému sledování hodnot BTA TRAK jsme mohli posoudit jejich dynamiku v jednotlivých případech. Z matematického hlediska se

při volbě individuální prahové hodnoty markeru nabízí možnost zohlednění hodnoty markeru v době, kdy pacient prokazatelně měl nádor měchýře (tedy před první TUR), respektive zohlednění první hodnoty dosažené po ukončení primární terapie (tedy v tomto případě při první kontrolní cystoskopii). Dle našich výsledků se zdá být přínosnější druhá možnost, byť ani ta nezvyšuje významně citlivost pro záchyt recidivy ve srovnání s použitím absolutní hodnoty markeru.

Jakým způsobem lze tedy test prakticky využít? Při použití prahové hodnoty 0,91 U/ml dosahuje v našem souboru test 90% senzitivity a 28,8% specifity. Jestliže u nemocných s podprahovým výsledkem odložíme cystoskopii, riskujeme pozdější záchyt 10% recidiv, konkrétně se v našem souboru jednalo o 7 neinvazivních tumorů G1 nebo G2. Z tohoto postupu naopak profituje téměř 30% pacientů, u kterých recidiva přítomna není a které tak ušetříme zbytečné cystoskopii. Jestliže prahovou hodnotu snížíme až na 0,06 U/ml, dosáhneme téměř 18% specifity při riziku pouhých 3 přehlédnutých tumorů. Nejnižší hodnota BTA TRAK u nádoru G3 činila 8,0 U/ml, při použití této prahové hodnoty diagnostikujeme opožděně 35% recidiv, ale žádnou invazivní nebo G3, profitovat naopak bude 76,5% nemocných bez recidivy. Rutinní použití některého z těchto schémat však bude muset předcházet prospektivní posouzení bezpečnosti takového postupu.

Závěr

Průměrná hodnota BTA TRAK testu byla signifikantně vyšší u pacientů s recidivou uroteliálního nádoru než u nemocných bez recidivy. Nebyl prokázán přínos stanovení individuálních prahových hodnot vycházejících z hladiny markeru před zahájením primární léčby, respektive po jejím ukončení. U vybraných pacientů s nízkou hodnotou markeru lze uvažovat o prodloužení intervalu do příští cystoskopické kontroly.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ 8095-3.

doc. MUDr. Marko Babjuk, CSc.

Urologická klinika Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK,
Katedra urologie IPVZ, Praha
Ke Karlovu 6, 128 00 Praha 2
e-mail: marko.babjuk@lf1.cuni.cz

Literatura

1. Údaje NOR ČR.
2. Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, Algaba F, Busch Ch et al.: Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology* 2005; 66 (Suppl 6A): 4–34.

3. Lamm DL. Long-term results of intravesical therapy for superficial bladder cancer. *Urol Clin North Am* 1992; 19: 573–580.
4. Kurth KH, Bouffieux C, Sylvester R et al. Treatment of superficial bladder tumors: achievements and needs. *Eur Urol* 2000; 37 (Suppl 3): 1–9.

5. Lokeshwar VB, Habuchi T, Grossman HB, Murphy WM, Hautmann SH et al. Bladder tumor markers beyond cytology: international consensus panel on bladder tumor markers. *Urology* 2005; 66 (Suppl 6A): 35–63.
6. Kinders R, Jones T, Root R, Bruce C, Murchison H. et al. Complement factor H or a related protein is a marker for transitional cell cancer of the bladder. *Clinical Cancer Res* 1998; 4: 2511–2520.
7. Sanchez-Ortiz RF, Huang WC, Mick R, van Arsdalen KN, Wein AJ et al. An interval longer than 12 weeks between the diagnosis of muscle invasion and cystectomy is associated with worse outcome in bladder carcinoma. *J Urol* 2003; 169: 110–115.
8. Sylvester R, van der Meijden A, Lamm D. 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: 1964–1970.
9. Soloway MS, Bruck DS, Kim SS. Expectant management of small, recurrent, noninvasive papillary bladder tumors. *J Urol* 2003; 170: 438–441.
10. Oosterlinck W, Lobel B, Jakse G, Malmström P-U, Stöckle M et al. Guidelines on bladder cancer. *Eur Urol* 2002; 41: 105–112.
11. Sylvester RJ, van der Meijden APM, Oosterlinck W, Witjes JA, Bouffoux C 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. *Eur Urol* 2006; 49: 466–475.
12. Babjuk M, Košťířová M, Mudra K, Pecher S, Smolová H et al. Místo neinvazivních testů (BTA STAT, BTA TRAK, UBC RAPID, UBC IRMA) a cytologie při sledování pacientů s povrchovými nádory močového měchýře. *Česká urologie* 2001; 5: 9–13.
13. Babjuk M, Košťířová M, Mudra K, Pecher S, Smolová H et al. Stanovení proteinu blízkého faktoru H komplementu (BTA TRAK a BTA STAT), fragmentů cytokeratinů 8a18 (UBC IRMA a UBC Rapid) a cytologie moči při neinvazivní detekci nádorů močového měchýře. *Česká urologie* 2001; 5: 4–8.