

M. Babjuk, R. Petřík, V. Soukup, M. Jirsa,
J. Sedláček, J. Dvořáček

Urologická klinika VFN a 1. LF UK v Praze,
Katedra urologie IPVZ
přednosta: prof. MUDr. J. Dvořáček, DrSc.

FLUORESCENČNÍ CYSTOSKOPIE S INTRAVEZIKÁLNÍ INSTILACÍ KYSELINY 5-AMINOLEVULOVÉ A JEJÍ VYUŽITÍ K DIAGNOSTICE NÁDORŮ MOČOVÉHO MĚCHÝŘE - VÝSLEDKY 125 VYŠETŘENÍ

KLÍČOVÁ SLOVA

Uroteliální nádory močového měchýře
Kyselina 5-aminolevulová
Fluorescenční cystoskopie
Protoporfyryr IX

SOUHRN

Cílem práce je zhodnotit roli fluorescenční cystoskopie při diagnostice nádorů močového měchýře.

Od roku 1997 bylo na našem pracovišti provedeno celkem 125 fluorescenčních cystoskopií u 105 pacientů s podezřením na nádor močového měchýře. Kyselina 5-aminolevulová byla aplikována intravezikálně tenkým katétrem 1,5 - 3 hodiny před operací, k vyšetření byl použit zdroj excitačního světla firem Delong Instruments, respektive Olympus. Pacienti byli vyšetřeni v bílém i fialovém světle, exofytické tumory byly resekovány a ze suspektních ložisek v obou zobrazeních byly odebrány biopsie. Celkem bylo histologicky vyšetřeno 437 vzorků tkáně.

Fluorescenční cystoskopie dosáhla senzitivity 96,5 %, což bylo signifikantně více než 75,6 % u konvenčního vyšetření. Pouze díky fluorescenční cystoskopii se podařilo zachytit uroteliální nádor u 10 a dysplazie u 5 nemocných. Specifická vyšetření v bílém světle činila 79,2 % oproti 65,7 % u fluorescenční cystoskopie.

Fluorescenční cystoskopie představuje účinné doplnění konvenčního vyšetření při diagnostice uroteliálních papilokarcinomů močového měchýře.

KEY WORDS

Urothelial tumour of urinary bladder
5-aminolevulinic acid
Fluorescence cystoscopy
Protoporphyrin IX

SUMMARY

FLUORESCENCE CYSTOSCOPY WITH INTRAVESICULAR INSTILLATION
OF 5-AMINOLEVULIC ACID AND ITS USE FOR THE DIAGNOSIS OF URINARY
BLADDER TUMOURS. THE RESULTS OF 125 EXAMINATIONS

The aim of the study is to evaluate the role of fluorescence cystoscopy in the diagnosis of urinary bladder tumours.

125 fluorescence cystoscopies altogether were done in 105 patients with suspected urinary bladder tumour in our hospital since 1997. 5-aminolevulinic acid was instilled intravesically by a thin catheter 1,5-3 hours before the procedure, the source of excitation light used for investigations was produced by Delong Instruments resp. Olympus companies. Patients were investigated in both white and violet light, exophytic tumours were removed and biopsies were taken from suspected areas in both investigations. 437 specimens of the tissue were investigated.

Fluorescence cystoscopy reached the sensitivity of 96.5%, which is significantly higher than 75.6 % in conventional investigation. Urothelial tumour was detected in 10 and dysplasia in 5 patients thanks fluorescence cystoscopy only. The specificity of white light investigation was 79.2% compared to 65.7 % in fluorescence cystoscopy.

Fluorescence cystoscopy represents an effective supplement of conventional investigation in the diagnosis of urothelial papilocarcinomas of urinary bladder.

ÚVOD

Základním diagnostickým krokem u nádorů močového měchýře je endoskopie spojená s resekcí viditelných tumorů a s biopsiemi ze suspektních ložisek [1]. Senzitivita běžné cystoskopie však bohužel není dostatečná. Je to způsobeno charakterem růstu uroteliálních nádorů, pro který je typická multifokalita a častá přítomnost plošných intraepiteliálních lézí, jako jsou dysplazie nebo *carcinoma in situ* (Tis). Přehlédnutí nádoru při endoskopickém vyšetření může mít za následek nepřesně stanovenou diagnózu, ale i neúplnou resekci a ponechání reziduální malignity [2, 3].

Fluorescenční cystoskopie s předchozí intravezikální aplikací kyseliny 5-aminolevulové (5-ALA) byla poprvé popsána v roce 1994 a již první práce ukázaly její vysokou senzitivitu při detekci drobných papilárních tumorů i intraepiteliálních lézí [4, 5]. V České republice poprvé provedl toto vyšetření doc. Petřík v roce 1997 na Urologické klinice 1. lékařské fakulty UK [6] a zprávy o úspěšném použití metody v poslední době přicházejí i z dalších pracovišť [7].

Cílem práce je zhodnotit výsledky fluorescenční cystoskopie při diagnostice nádorů močového měchýře, respektive posoudit její přínos jako doplňku standardního vyšetření.

METODIKA

Od roku 1997 jsme na naší klinice provedli celkem 125 fluorescenčních cystoskopií u 105 pacientů. Indikací k vyšetření bylo ve 38 případech podezření na primární nádor močového měchýře podložené anamnézou hematurie, pozitivní cytologií moči nebo suspektním ultrasonografickým nebo rentgenologickým nálezem. Zbylých 87 cystoskopií bylo provedeno u pacientů s anamnézou povrchového uroteliálního nádoru při podezření na recidivu nebo jako součást dispenzarizačního programu. U 46 z nich se jednalo o kontrolní vyšetření po ukončení nebo v průběhu léčby BCG vakcínou, přičemž cystoskopie následovala nejdříve 5 týdnů po poslední instilaci. Detailní charakteristika souboru je uvedena v tab. 1.

Věk nemocných v době výkonu	20 – 82 let (průměr 68,53)
Distribuce pohlaví	26 žen, 79 mužů
Počet vyšetření u jednotlivých pacientů	91×; 1 vyšetření 10×; 2 vyšetření 3×; 3 vyšetření 1×; 5 vyšetření
Indikace k výkonu	38 podezření na primární tumor, 87 na recidivu

Tab. 1. Charakteristika souboru.

Kyselina 5-aminolevulová (výrobce Lachema Brno, respektive VÚFB) byla aplikována intravezikálně tenkým katétrem 1,5–3 hodiny před operací. Její roztok byl připraven vždy těsně před instilací rozpuštěním 1,0 g hydrochloridu kyseliny 5-aminolevulové ve 20 ml fyziologického roztoku a bikarbonátu sodného. Výsledné pH bylo kontrolováno indikátorovým papírkem a jeho hodnota se pohybovala mezi 5,5–6,0. Pacientům s přítomnými iritačními příznaky, kde jsme měli obavy o udržení roztoku v měchýři, jsme podali spazmolytika.

Během cystoskopie byl použit systém pro fluorescenční cystoskopii. U 83 vyšetření se jednalo o výrobek české firmy Delong Instruments z Brna, u 42 pak o soupravu firmy Olympus. V obou případech je tento systém tvořen zdrojem světla umožňujícím

střídání bílého světla pro konvenční cystoskopii, respektive modrého excitačního světla, a optikou s korespondujícím absorpčním filtrem.

Vzhledem k plánovanému odběru vzorků byl výkon proveden vždy v celkové nebo spinální anestezii. Byl zahájen přehlednou cystoskopií při bílém světle s pečlivou dokumentací nálezu. Přítomnost exofytických tumorů byla hodnocena jako pozitivní, plošná zarudlá ložiska jako suspektní a normálně vyhlížející sliznice jako negativní nález.

Po přepnutí na modré světlo byla registrována a dokumentována ložiska fluorescence a zaznamenána jejich korelace s obrazem při konvenčním vyšetření.

Exofytické tumory byly resekovány běžným způsobem resekční kličkou při bílém nebo fialově-modrém světle. Na konci resekce každého jednotlivého nádoru byly okraje resekční plochy a její okolí vždy kontrolovány v obou zobrazeních. Z plošných ložisek suspektních v konvenčním nebo fluorescenčním obraze a pro kontrolu i z oblastí normálně vyhlížející sliznice byly odebrány biopsie.

Celkem bylo resekci nebo studenou biopsií odebráno 437 vzorků tkáně (2–7 na jedno vyšetření, průměrně 3,5). Suspektní plošná ložiska byla na konci výkonu koagulována.

Endoskopický obraz v bílém i modrém světle byl srovnán s výsledkem histologického vyšetření každého jednotlivého vzorku. Histologický nález byl považován za pozitivní v případě nálezu malignity nebo dysplazie.

Na základě vyhodnocení vzhledu a patologického nálezu v jednotlivých vzorcích byla pro oba způsoby zobrazení stanovena senzitivita, specifická, pozitivní a negativní predikční hodnota, respektive správnost. Ke statistickému srovnání výsledků byl použit dvou-výběrový test shody relativních četností (*relative frequency equality two-sample test*).

Současně byl hodnocen přínos použití fluorescenční cystoskopie pro každého jednotlivého pacienta; jinými slovy, zda případný záchyt tumoru díky fluorescenční cystoskopii změnil výslednou diagnózu nebo klasifikaci nádoru.

VÝSLEDKY

U žádného z pacientů jsme nezaznamenali vedlejší účinky spojené s intravezikální aplikací 5-ALA. Většina z nich dokázala udržet náplň v močovém měchýři až do operačního výkonu. Pouze 6 nemocných vymočilo vzhledem k silné urgenci část obsahu po 45–75 minutách retence, ve všech případech však byla následně při cystoskopii pozorována fluorescence, jejíž intenzita se významně nelišila od zbytku souboru. Z celkového počtu 125 vyšetření byla v močovém měchýři histologicky potvrzena přítomnost uroteliálního nádoru v 77 a dysplazií v 9 případech.

Solitární nebo mnohočetné exofytické tumory jednoznačně viditelné v bílém světle byly přítomny při 64 vyšetřeních. Vzhledem k tomu, že nálezy byly často mnohočetné, bylo takto zachyceno celkem 133 nádorů, které až na 3 výjimky fluoreskovaly. Ve 2 případech nebyla fluorescence zachycena u infiltrujících solidních tumorů (pT3G3), první byl na povrchu nekrotický, druhý vytvářel exofytické ložisko kryté makroskopicky normální sliznicí. U 1 pacientky byl viditelný typický drobný exofytický nádor, který nefluoreskoval, a histologický nález potvrdil pouhé benigní pseudopolypózní vyklenutí *lamina propria* benigního charakteru.

U 24 nemocných s exofytickými nádory bylo díky biopsiím ze suspektních míst v bílém nebo modrém světle zachyceno dalších 31 histologicky pozitivních satelitních ložisek, 26 z nich (16× dysplazie, 2× pTis, 5× pTaG1, 1× pTaG2, 1× pT1G2, 1× pT1G3) pouze díky fluorescenční cystoskopii.

Během 24 vyšetření jsme v bílém světle pozorovali pouze suspektní zarudlá ložiska bez jednoznačného exofytického nádoru. U 8 z těchto nemocných byl zachycen patologický histologický nále (4× dysplazie, 2× pTis, 2× pT3G3). S výjimkou jediné pacientky s dysplazií 1. stupně všechna tato ložiska fluoreskovala.

U 23 nemocných s negativním nálezem při konvenčním zobrazení jsme při následném vyšetření v modrém světle pozorovali ložiska pozitivní fluorescence. Histologicky byl u 15 z nich prokázán patologický nále (5× dysplazie, 4× pTis, 4× pTaG1, 1× pT1G2, 1× pT2G2).

Při 14 vyšetřeních jsme zaznamenali negativní obraz jak v bílém, tak ve fialově-modrém světle. Odebrané biopsie nepotvrdily u žádného z nich přítomnost dysplazie nebo uroteliálního papilokarcinomu.

Diagnostické charakteristiky obou zobrazení byly stanoveny na základě histologických výsledků jednotlivých vzorků a jejich korelace s obrazem biotopovaného místa v bílém, respektive fialově-modrém světle (tab. 2). Celkem bylo v průběhu 125 vyšetření získáno 437 vzorků, z nichž bylo 201 histologicky pozitivních (32 dysplazií a 169 uroteliálních papilokarcinomů) a 236 histologicky benigních.

Z 201 histologicky pozitivních ložisek bylo 152 viditelných v bílém světle v podobě exofytického nádoru nebo zarudlých ploch a 194 fluoreskovalo. Kromě dvou již zmíněných infiltrujících nádorů nezachytila fluorescenční cystoskopie pouze 4 ložiska dysplazií a 1 satelitní nádor pTaG1. Naopak pouze díky zobrazení ve fialově-modrém světle jsme detekovali 24 dysplazií 1. nebo 2. stupně a 25 uroteliálních nádorů, které při běžné cystoskopii nebyly patrné nebo byly přehlédnuty. Z 236 histologicky benigních vzorků bylo 49 odebráno ze suspektních ložisek v bílém světle a 81 z fluoreskujících oblastí. Všechny 126 biopsií získaných z normální sliznice v obou zobrazeních bylo histologicky benigních.

Diagnostické charakteristiky konvenční i fluorescenční cystoskopie jsou uvedeny v tab. 3. Fluorescenční cystoskopie vykazovala signifikantně vyšší senzitivitu než vyšetření v bílém světle, které však mělo naopak vyšší specifitu.

DISKUSE

Fotodynamická neboli fluorescenční diagnostika využívá fluorescence k průkazu nádorového ložiska. V případě fluorescenční

cystoskopie je hodnocen endoskopický obraz na základě nálezu fluorescence protoporfyrinu IX (PPIX), který je selektivně akumulován v nádorové tkáni po předchozí intravezikální aplikaci 5-ALA a který intenzivně červeně fluoreskuje při osvětlení excitacím fialově-modrým světlem.

K provedení fluorescenční cystoskopie používáme aparaturu, jejíž součástí je zdroj excitačního světla a optiky s odpovídajícími absorpčními filtry [8]. Na naší klinice jsme kromě aparatury firmy Olympus hodnotili rovněž domácí prototyp firmy Delong, který přináší obdobnou výslednou informaci při jinak barevně odstupňovaném obrazu.

Naše zkušenosti jednoznačně prokazují selektivní fluorescenci uroteliálních nádorů po předchozí intravezikální aplikaci 5-ALA. Počet detekovaných nádorových ložisek se v našem souboru zvýšil díky použití fluorescenční cystoskopie o 24,4 %, což je v souladu s 38%, respektive 18% navýšením popisovaným jinými autory v podobně koncipovaných studiích [9, 10].

Část nádorových ložisek zachycených díky fluorescenční cystoskopii jsou samozřejmě pouze satelitní tumory, kde nále nemění zásadně výslednou diagnózu ani další léčbu. V našem souboru by však u 15 nemocných, tedy u 17,4 % pacientů s pozitivním histologickým výsledkem, nebyla správná diagnóza nádoru nebo dysplazie bez fluorescenční cystoskopie vůbec stanovena. Toto číslo je dokonce menší, než uvádí Zaak na základě hodnocení 1 012 endoskopií s použitím bílého i fluorescenčního zobrazení. Nádorové ložisko zachytil celkem u 552 pacientů, přičemž u 189 (34,2 %) se podařilo tumor nalézt pouze díky fluorescenční cystoskopii [11].

Hlavní přínos metody spočívá v usnadnění detekce intraepiteliálních ložisek charakteru dysplazií nebo Tis. Zvláště včasný záchyt Tis je nesmírně významný, protože nemocní jsou ohroženi rychlým vznikem invazivního tumoru. V našem souboru byl Tis diagnostikován ve 12 odebraných vzorcích, z nichž plných 9 nebylo v bílém světle viditelných. Nále by byl úplně přehlédnut u 4 pacientů se všemi důsledky pro jejich další osud. I v tomto ohledu jsou naše výsledky v souladu s jinými autory. Budeme-li uvažovat pouze dysplazie a Tis, zvýšila dle údajů v literatuře fluorescenční cystoskopie počet detekovaných ložisek o 50 – 140 % [9, 10] a dle Jichlinski nebyla žádná z intraepiteliálních lézí prostým okem viditelná [12].

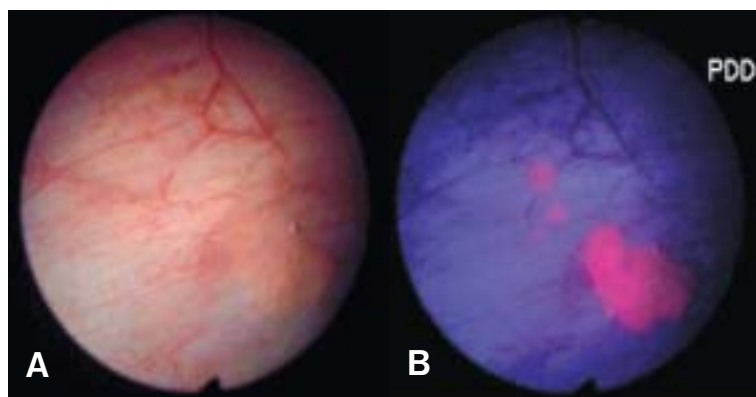
Bílé světlo	Fluorescence	D1	D2	pTis	pTa	pT1	pT2-4	Benigní	Celkem biopsií
Exofytické tumory	+	0	0	0	80	47	3	0	130
	-	0	0	0	0	0	2	1	3
Suspektní	+	2	2	3	6	0	2	20	35
	-	2	2	0	1	0	0	28	33
Negativní	+	12	12	9	13	2	1	61	110
	-	0	0	0	0	0	0	126	126

Poznámka: D1 = dysplazie 1. stupně, D2 = dysplazie 2. stupně

Tab. 2. Histologické nálezy u 437 biopsií a jejich korelát s obrazem při fluorescenční a konvenční cystoskopii.

	Fluorescenční cystoskopie	Konvenční cystoskopie	P
Senzitivita	96,5 %	75,6 %	< 0,0001
Specifita	65,7 %	79,2 %	< 0,0316
PV+	70,5 %	75,6 %	NS
PV-	95,7 %	79,2 %	< 0,0007
Správnost	79,9 %	77,6 %	NS

Tab. 3. Diagnostické charakteristiky fluorescenční a konvenční cystoskopie (CI 95 %).



Obr. Uroteliální papilokarcinom pTaG2 s drobnými satelitními ložisky
A. Konvenční zobrazení
B. Fluorescenční cystoskopie

Pozitivem metody je možnost pečlivé peroperační kontroly úplnosti transuretrální resekce. Díky fluorescenční cystoskopii lze totiž snadno zahlédnout a ošetřit droboučké části nádoru perzistující na okrajích resekční plochy, které v bílém světle nevidíme.

Diskutovaným problémem fluorescenční cystoskopie jsou časté nesprávně pozitivní nálezy. Naše výsledky, ve shodě s jinými autory, potvrzují nižší specifitu fluorescenční cystoskopie ve srovnání s konvenčním vyšetřením [9, 10]. V této souvislosti je však třeba vzít v úvahu několik skutečností.

V 58 % fluoreskujících ložisek hodnocených běžným patologickým vyšetřením jako benigní, a tedy jako nesprávně pozitivní, byly prokázány chromozomální odchylky shodné s nálezem v papilárních tumorech u téhož pacienta [13]. Je tedy možné, že se vlastně jedná o premaligní léze, které standardní histologické vyšetření prokázat nedokáže.

Významnou příčinou nesprávně pozitivních nálezů jsou změny patrné několik týdnů po předchozí transuretrální resekci, kdy specifita klesá až na 30 % [14]. Vysvětlením jsou zřejmě intenzivní regenerační procesy spojené s proliferací v hojící se tkáni. Naše pozorování tuto skutečnost potvrzují, a proto nedoporučujeme využívat fluorescenční cystoskopii dříve než 6 týdnů po předchozí resekci.

Zvýšení specifity by v budoucnu mohla přinést kvantifikace intenzity fluorescence. Předpokládáme totiž, a první výsledky to potvrzují, že intenzita fluorescence je v nesprávně pozitivních místech nižší než v nádorových ložiscích [15].

Je třeba si rovněž uvědomit, že ani specifita konvenční cystoskopie není stoprocentní. Platí to zvláště v některých výjimečných situacích, například po předchozí terapii BCG vakcínou, kde je hodnocení konvenční cystoskopie obtížné až nemožné pro iritační změny, které mohou imitovat Tis nebo dysplazie [16]. U těchto nemocných jsme v našem souboru dosáhli při fluorescenční cystoskopii dokonce vyšší specifity než u vyšetření v bílém světle.

V každém případě musíme zdůraznit, že fluorescenční cystoskopii považujeme za doplnění konvenčního vyšetření, a nikoliv za samostatnou metodu. Její význam spočívá v naprosto odlišném charakteru informací, které poskytuje a které doplňuje běžný cystoskopický obraz.

ZÁVĚR

Fluorescenční cystoskopie představuje účinné doplnění konvenčního vyšetření při diagnostice uroteliálních papilokarcinomů močového měchýře umožňující signifikantní zvýšení počtu zachycených nádorových ložisek.

Poděkování

Autoři děkují společnosti Science for Life s.r.o. za podporu projektu fotodynamické diagnostiky v ČR.

Práce byla provedena za podpory projektů IGA MZ ČR ND6854-3 a MSM 111100005.

LITERATURA

1. Ondruš D et al. Nádory močového mechúra. Diagnostika a léčba. Martin, SR, Osveta 2000, 256.
2. Klän R, Loy V, Huland H. Residual tumor discovered in routine second transurethral resection in patients with stage T1 transitional cell carcinoma of the bladder. J Urol 1991; 146: 316-318.
3. Herr HW. The value of a second transurethral resection in evaluating patients with bladder tumors. J Urol 1999; 162: 74-76.
4. Kriegmair M, Baumgartner R, Knüchel R, Steinbach P, Ehsan A, Lumper W, Hofstädter F, Hofstetter A. Fluorescence photodetection of neoplastic urothelial lesions following intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid. Urology 1994; 44: 836-841.
5. Kriegmair M, Baumgartner R, Knüchel R, Stepp H, Hofstädter F, Hofstetter A. Detection of early bladder cancer by 5-aminolevulinic acid induced porphyrin fluorescence. J Urol 1996; 155: 105-110.
6. Petřík R, Jirsa M, Dvořák E, Škoda V, Stádník B. Fluorescence cystoscopy in the diagnostics and treatment of bladder tumors. Biomed Tech 1998; 43 (Suppl): 74-75.
7. Kočárek J, Köhler O, Bernard O, Poduška J, Bartůněk et al. Naše první zkušenosti s fotodynamickou diagnostikou povrchových nádorů močového měchýře. Česká urologie 2001; 5: 13-16.
8. Babjuk M, Petřík R, Jirsa M. Fluorescenční diagnostika nádorů močového měchýře. Triton, Praha, 2001, 126.
9. Kriegmair M, Baumgartner R, Knüchel R, Stepp H, Hofstädter F. et al. Detection of early bladder cancer by 5-aminolevulinic acid induced porphyrin fluorescence. J Urol 1996; 155: 105-110.
10. Koenig F, McGovern FJ, Larne R, Enquist H, Schomacker KT et al. Diagnosis of bladder carcinoma using protoporphyrin IX fluorescence induced by 5-aminolevulinic acid. Br J Urol Int 1999; 83: 129-135.
11. Zaak D, Kriegmair M, Stepp H, Baumgartner R et al. Endoscopic detection of transitional cell carcinoma with 5-aminolevulinic acid: results of 1012 fluorescence endoscopies. Urology 2001; 57: 690-694.
12. Jichlinski P, Forrer M, Mizeret J, Glanzmann T, Braichotte D et al.: Clinical evaluation of a method for detecting superficial transitional cell carcinoma of the bladder by light-induced fluorescence of protoporphyrin IX following topical application of 5-aminolevulinic acid: preliminary results. Laser Surg Med 1997; 20: 402-408.
13. Knüche R, Kutz H, Hofstädter F, Hofstetter A, Kriegmair M. Photodynamic diagnostics with 5-ALA in bladder cancer: biology of false positive lesions. Urol Res 1997; 25: 94-95.
14. Filbeck T, Roessler W, Knuechel R., Straub M, Kiel HJ, Wieland WF. 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence endoscopy applied at secondary transurethral resection after conventional resection of primary superficial bladder tumors. Urology 1999; 53: 77-81.
15. Zaak D, Frimberger D, Stepp H, Wagner S, Baumgartner R. et al. Quantification of 5-aminolevulinic acid induced fluorescence improves the specificity of bladder cancer detection. J Urol 2001; 166: 1665-1669.
16. Pacík D, Vít V, Turjanica M. Intravezikální imunoterapie povrchového karcinomu močového měchýře BCG vakcínou. Rozhl Chir 1997; 76: 482-485.