

J. Kočárek, O. Kóhler, O. Bernard, J.
Poduška, M. Bartůněk, P. Drlík

Urologické oddělení
Ústřední vojenské nemocnice Praha
přednosta: MUDr. O. Kóhler, CSc.

NAŠE PRVNÍ ZKUŠENOSTI S FOTODYNAMICKOU DIAGNOSTIKOU POVRCHOVÝCH NÁDORŮ MOČOVÉHO MĚCHÝŘE

KLÍČOVÁ SLOVA

Povrchový nádor močového měchýře
Fluorescence
Fotodynamická diagnostika
5-aminolevulová kyselina
Protoporfyrin IX

KEY WORDS

Superficial bladder tumor
Fluorescency
Photodynamic endoscopy
5-aminolevulinic acid
Protoporphyrin IX

SOUHRN

Autoři prezentují své první zkušenosti s fotodynamickou diagnostikou povrchových nádorů močového měchýře (PDD).

V období od června 1999 do září 2000 bylo u 23 pacientů s podezřením na nádor močového měchýře provedeno endoskopické vyšetření s využitím fluorescence, indukované intravezikální instilací roztoku 5-aminolevulové kyseliny. U všech nemocných s intermitentní mikroskopickou hematurií a suspektní nebo pozitivní cytologií moče (PAP III-V) byla provedena vylučovací urografie s normálním nálezem a cystoskopické vyšetření v bílém světle bez nálezu tumoru.

Přestože předchozí cystoskopické vyšetření v bílém světle bylo negativní, fotodynamická diagnostika s následnou cílenou biopsií fluoreskujícího ložiska odhalila třikrát těžkou dysplazii urotelu, jedenkrát karcinom *in situ* (TIS), třikrát tumor močového měchýře Ta a jedenkrát T1. Nežádoucí účinky po intravezikální aplikaci 3% roztoku 5-aminolevulové kyseliny (5-ALA) jsme nepozorovali.

SUMMARY

OUR FIRST EXPERIENCES WITH PHOTODYNAMIC DIAGNOSTICS
OF SUPERFICIAL TUMOURS OF THE URINARY BLADDER

Authors present their first experiences with photodynamic diagnostics of the superficial tumours of the urinary bladder (PDD).

In the time period from June 1999 till September 2000, the endoscopic examination using fluorescence induced by intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid solution was provided in 23 patients with suspected urinary bladder tumour. All patients had intermittent microscopic haematuria and suspected or positive results of urine cytology (PAP III-IV) together with normal urogram findings and no tumour was identified by cystoscopic evaluation in pure light.

Although the cystoscopic evaluation in pure light gave negative results, the photodynamic diagnostics followed by targeted biopsy of the fluorescent focus identified 3 cases of severe urothel dysplasia, 1 case of carcinoma *in situ* (TIS), 3 cases of urinary bladder tumour Ta and 1 case of T1. We did not observe any adverse effects following the intravesical application of 3% solution of 5-aminolevulinic acid (5-ALA).

ÚVOD

Povrchové nádory močového měchýře jsou nádory neprorůstající do jeho svaloviny. Podle TNM klasifikace jde o nádory TIS, Ta, T1 NO MO, G 1-3.

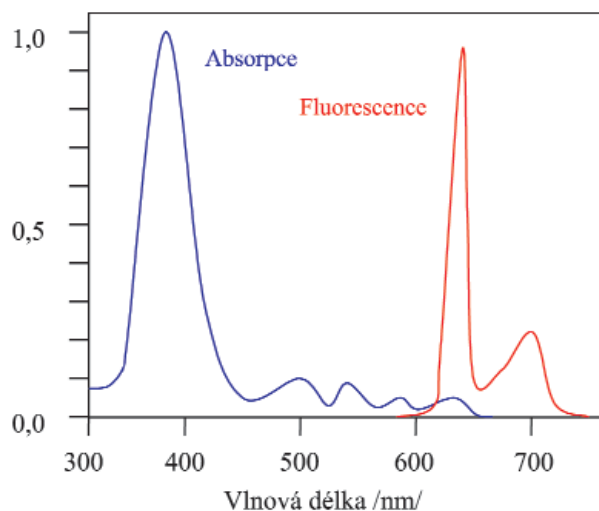
Včasná diagnostika povrchových nádorů močového měchýře a jeho recidiv je základní podmínkou pro jejich úspěšnou léčbu. Stejně významné jako včasná diagnostika je také správné roz-poznání rozsahu tumoru a z toho vyplývající jeho kompletní odstranění. Ponechání pozitivních okrajů nádorů a v bílém světle „neviditelných“ satelitních tumorů je podle Hofstettera [11] až u 20 % nemocných příčinou tzv. recidiv těchto tumorů. Ve skutečnosti však jde o reziduální tumorózní tkáň, kterou není možné při rutinním cystoskopickém vyšetření v bílém světle odhalit.

Dysplazie a TIS často nejsou detekovatelné vůbec.

Při fotodynamické diagnostice tumorů močového měchýře se snažíme nalézt suspektní léze podle červené fluorescence, vyvolané intravezikální aplikací roztoku 5-ALA.

5-ALA je endogenní přírodní substance, startovací produkt hemobiosyntézy. Vzniká sloučením glycinu a succinyl-CoA. 5-ALA je metabolizována na protoporphyrin IX, ze kterého působením enzymu ferrochelázy a Fe^{2+} vzniká hem (obr. 1). Protoporphyrin IX (PPIX) absorbuje světlo vlnové délky 400 nm (violet-blue) a tuto stimulační energii následně uvolňuje ve formě fluorescence emitované v červeném pásmu spektra vlnové délky 635 nm (obr. 2).

Exogenní aplikace 5-ALA indukuje několikanásobně vyšší akumulaci PPIX v buňkách tumoru. Po stimulaci modrým světlem PPIX produkuje fluorescenci a umožňuje pozorovat vysoce selektivní kontrast mezi normálními (modrými) buňkami urotelu a buňkami tumoru, které červeně fluoreskují.

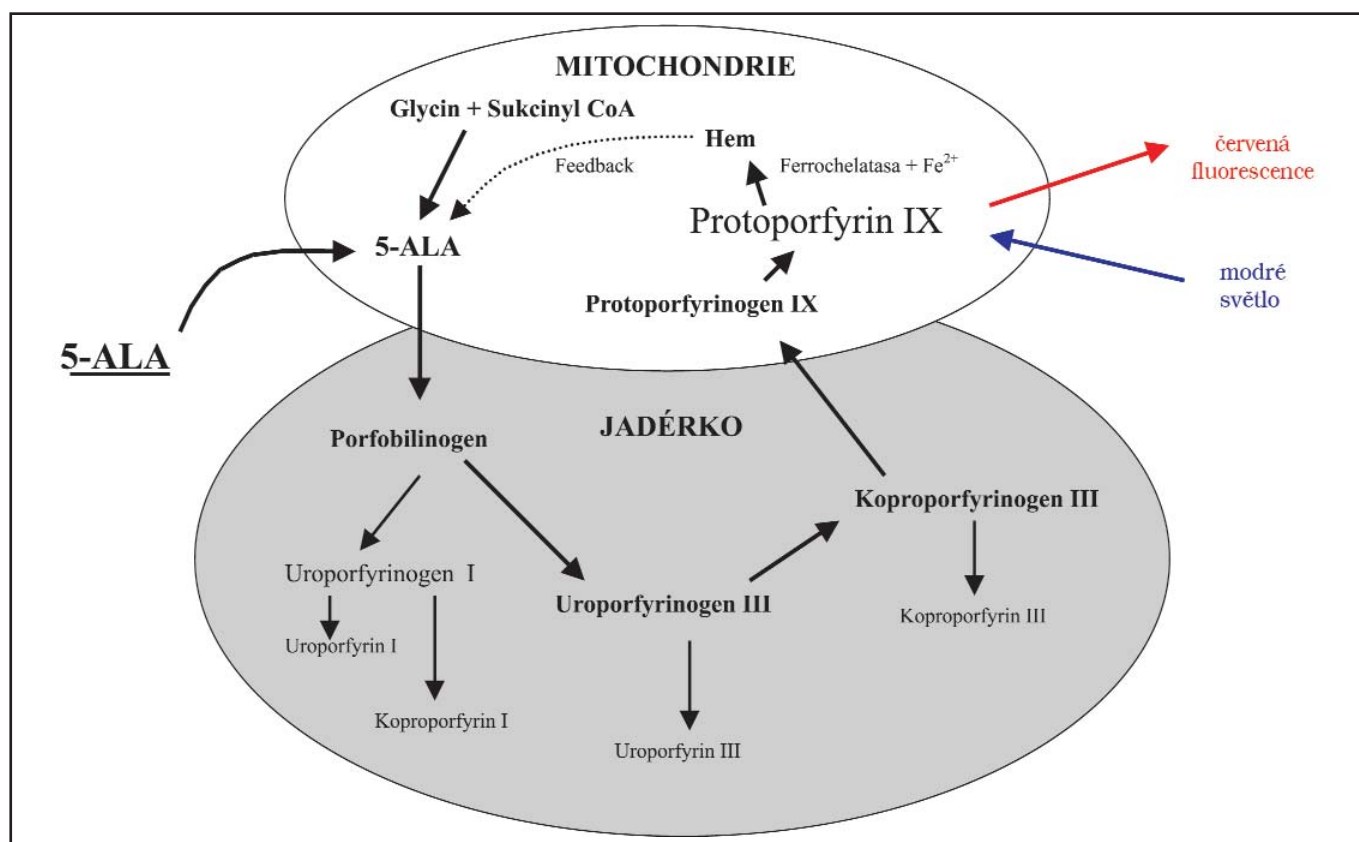


Obr. 2. Absorpce a fluorescence PPIX.

MATERIÁL A METODIKA

Fotodynamická diagnostika (PDD) zahrnuje proces o dvou krocích:

1. Pacientovi je aplikována látka (fotosenzitizér), která se selektivně naváže na tumor.
2. Poté, co se fotosenzitizér akumuluje do buněk tumoru, modré světlo umožní jeho zviditelnění červenou fluorescencí.



Obr. 1. Sukcinát glykokolový cyklus.

Dvě hodiny před endoskopickým výkonem aplikujeme 50 ml 3% roztoku 5-ALA (1,5 g 5-ALA v 50 ml 4,8% NaHCO₃, Lachema a.s. Brno, analytický certifikát č. 0179,0546/19/1999, nebo 1,5 g 5-ALA v 50 ml 4,8% NaHCO₃ Spectrilla fi Medac Hamburg) 14F cévkou do vyprázdněného močového měchýře. Roztok by měl mít dostatečný kontakt s celou sliznicí močového měchýře minimálně 1 hodinu, optimálně 2 hodiny.

Pro vlastní endoskopický výkon je klíčový speciální, silný světelný zdroj (xenonová lampa) pro excitaci fluorescence, speciální optika se žlutým filtrem v okulárovém konci, která zvýrazní červenou fluorescenci a nožní přepínač pro změnu barvy světla mezi bílým a modrým.

Vlastní výkon začínáme přehlednou endoskopií močového měchýře v bílém světle. Následně přepínáme nožním pedálem na světlo modré, excitační a hledáme červenou fluorescenci. Kontrast mezi modrým, excitačním světlem a červenou fluorescencí je zvýrazněn žlutým filtrem v okulárové části optiky speciálního endoskopu.

Na základě povolení MZ ČR ze dne 3. 1. 2000 č.j.: FAR 45736/99/241/6, po schválení etickou komisí a vědeckou radou ÚVN Praha a po podpisu informovaného souhlasu jsme v období od června 1999 do září 2000 touto technikou vyšetřili 23 pacientů (17 mužů a 6 žen) s podezřením na nádor močového měchýře. Všichni nemocní měli nález intermitentní mikroskopické hematurie a suspektní nebo pozitivní cytologii moči (PAP III-V). Nálezy na vylučovací urografii a při standardním uretroscystoskopickém vyšetření v bílém světle byly normální. Průměrný věk pacientů byl 57,9 let. Nejmladšímu nemocnému bylo 28 a nejstaršímu 72 let.

Průměrná doba retence 3% roztoku 5-ALA v močovém měchýři byla 141 min (30 - 240 minut). Všechna vyšetření byla provedena v celkové anestezii na operačním sále s možností současného ošetření případně nalezené léze.

VÝSLEDKY

Dva nemocné jsme z našeho souboru vyřadili pro nedostatečnou dobu působení roztoku 5-ALA v močovém měchýři (kratší doba retence než 60 minut).

U 7 pacientů jsme při osvětlení měchýře modrým světlem nepozorovali žádnou červenou fluorescenci. Proto jsme provedli R-biopsii. V histologickém nálezu byla 1x popsána lehká dysplazie a 6x nález normální sliznice.

U 14 pacientů jsme v měchýři pozorovali ložisko jasně červené fluorescence. Z každého ložiska jsme odebrali studenou biopsii a následně provedli jeho snesení klíčkou resektoskopu, případně jeho elektrokoagulaci. V histologických nálezech patolog vyhodnotil 5 x normální urotelové buňky, 1x zánětlivé změny, 3x dysplázií těžkého stupně, 1x TIS, 3x Ta a 1x T1 (tab. 1). Senzitivita PDD (počet nemocných s fluorescencí a zároveň s pozitivní histologií ze všech nemocných s pozitivní histologií) byla 88,9 % při 50,0% specifitě (počet nemocných bez fluorescence a bez pozitivní histologie ze všech nemocných bez pozitivní histologie).

Systémový nežádoucí účinek po instalační aplikaci 5-ALA jsme nepozorovali. Intravezikální aplikace 5-ALA neměla vliv na pooperační průběh. Cystoskopie po instalaci 5-ALA se technickou ani

časovou náročností významně nelišila od klasické „bílé“ cystoskopie. PDD endoskopie byla průměrně o 6 minut delší. Do tohoto času byla zahrnuta instilace 3% roztoku 5-ALA a vlastní endoskopie v modrém světle.

Ekonomická kalkulace výkonu v současné době není přesně možná, neboť není známa prodejní cena 5-ALA. Proto také v návrhu nového registračního listu výkonu PDD pro VZP je 5-ALA uvedena jako „ZUM“. Přibližná cena celého zařízení pro PDD od zahraničních výrobců (zdroj světla, kabel a optika pro PDD) je cca 500 000,- Kč.

DISKUSE

V Evropě a USA je 75 - 85 % nemocných s iniciální diagnózou karcinomu močového měchýře postiženo povrchovou formou, omezenou na sliznici (Ta nebo TIS) či podslizniční vazivo (T1) [14]. Podle údajů Ústavu zdravotnických informací a statistiky České republiky stoupla v České republice incidence nádorů močového měchýře z 13,9 mužů a 4,2 žen/100 000 obyvatel v roce 1980 na 23,5 mužů a 6,7 žen/100 000 v roce 1993 [16].

Stálé úsilí o screening a o nalezení nových, spolehlivých a jednoduchých metod k časnému odhalení neoplastických lézí vychází ze znalosti toho, že časná diagnóza je spojená s lepším přežitím pacientů s nádory močového měchýře [4].

Malé papilární tumory a ploché uroteliální léze jsou snadno přehlédnutelné během standardní cystoskopie v bílém světle. Již delší dobu existují snahy zviditelnit intraepiteliální neoplázie a zlepšit viditelnost počínajících změn papilárního charakteru. Jako velmi nadějná se jeví fluorescenční endoskopie [2].

První, kdo referoval o intravezikální instalaci 5-ALA vedoucí ke kumulaci protoporfirinu IX v nádorových buňkách močového měchýře, byl v roce 1993 Baumgartner [7]. Následující studie pak prokázaly, že 20 - 40 % všech recidiv tumoru močového měchýře přichází v období 6 - 9 měsíců po první transuretrální resekci [4, 9]. 60 - 70 % z těchto časných recidiv zapříčiňuje přehlédnutá reziduální tumorózní tkáň nebo satelitní tumor, tj. „nekompletně“ ošetřený primární tumor. Ve více než 1/3 případů recidiv lze pozorovat progresi tumoru [8]. 38 - 63 % pacientů má zjistitelný reziduální tumor 2 - 6 týdnů po první transuretrální resekci [12]. Tam, kde je diagnostikován solitární papilární tumor, lze ve 25 % případů při PDD detekovat další lézi [11, 13].

Fluorescenční endoskopie s použitím 5-aminolevulové kyseliny je metoda s vysokou senzitivitou pro detekci časných stadií nádorů močového měchýře [1]. Tato fluorescence je podmíněna vyšší akumulací protoporfirinu IX v urotelových buňkách se zvýšeným metabolismem [5, 3].

Během fluorescenční endoskopie intenzita červené fluorescence klesá s prodlužující se dobou ozařování modrým světlem [7]. Tam, kde biopsii z fluoreskujícího ložiska patolog klasifikuje jako benigní nález, genetik často nachází genové abnormality, které mohou indikovat maligní proliferaci v budoucnosti [7].

Při znalosti vysoké senzitivity fluorescenční endoskopie, (až 98 %), která je signifikantně vyšší než senzitivita bílé cystoskopie (72 %), bude možné snížit počet R-biopsií [3, 10, 15].

Tab. 1. Výsledky PDD.

	Histologie negat.	Zánět	Lehká dysplazie	Těžká dysplazie	TIS	Ta	T1
Fluorescence negat. (7 x)	6	0	1	0	0	0	0
Fluorescence pozit. (14 x)	5	1	0	3	1	3	1

Vývoj nových senzitivnějších testů pro diagnostiku povrchových nádorů močového měchýře je zásadní pro časnou a efektivní léčbu. Naše výsledky potvrzují výrazně vyšší senzitivitu fotodynamické endoskopie indukované 5-ALA ve srovnání s „bílou“ endoskopií. Tato metoda se zdá být velmi užitečná ke zlepšení výsledků endoskopických výkonů při léčbě nádorů močového měchýře, především pak při diagnostice TIS [1]. PPD je jednoduchá a velmi přínosná technika při diagnostice multifokálních povrchových lézí močového měchýře [6]. Fluorescenci asistovaná transuretrální resekce pak signifikantně snižuje počet reziduálních tumorů močového měchýře [11].

ZÁVĚR

Fotodynamická diagnostika je technika bezpečná pro pacienta i personál. Umožňuje efektivně najít tumor, přesně určit jeho hranice a provést kompletní resekci maligní i premaligní tkáně. Tím vytváří předpoklad pro snížení počtu časných recidiv.

Naše první zkušenosti s fluorescenční endoskopií ukazují velmi dobrou sezitivitu fotodynamické endoskopie u povrchových nádorů močového měchýře. Při srovnání se standardní „bílou“ endoskopií je fluorescenční endoskopie rychlá a vysoce citlivá technika bez nežádoucích účinků. Při znalosti vysoké senzitivity PPD pak při pozitivním cytologickém vyšetření moči vede ke snížení počtu R-biopsií.

Fluorescenční diagnostika se na našem pracovišti stává standardní součástí diagnostického algoritmu pro detekci nádorů močového měchýře a jejich následnou fluorescenci kontrolovanou resekci, především pak v diagnosticky nejasných nebo endoskopicky obtížných situacích, jako je karcinom *in situ*, multifokální tumory, mnohočetné předchozí resekce a předcházející léčebné instilace.

LITERATURA

1. Dhallevin M.A., Vanherzeele H., Baert L.: Fluorescence detection of flat transitional cell carcinoma after intravesical instillation of aminolevulinic acid, *Am. J. Clin. Oncol.*, 1998, Jun, s.223-225.
2. Dvořáček J., Babjuk M., Povýšil C.: Urologie díl.II., kap. Nádory močového měchýře, ISV, Praha 1998.

3. Fielbeck T., Roessler W., Knuechel R., Straub M., Kiel H.J., Wieland W.F.: Clinical Results of the Transurethral resection and Evaluation of Superficial Bladder Carcinomas by Means of Fluorescence Diagnosis after intravesical instillation of 5-Aminolevulinic Acid, *J. Endourol.*, 13, 1999, č. 2, s. 117-121.
4. Fielbeck T., Roessler W., Knuechel R., Straub M., Kiel H.J., Wieland W.F.: 5-Aminolevulinic acid-induced fluorescence endoscopy applied at secondary transurethral resection after conventional resection of primary superficial bladder tumors, *Urology*, 53, 1999, s.77-81.
5. Chang S.C., Buonaccorsi G., MacRobert A.J., Bown S.G.: 5- Aminolevulinic acid (ALA)-induced protoporphyrin IX fluorescence and photodynamic effects in the rat bladder, and in vivo study comparing oral and intravesical ALA administration, *Lasers Surg. Med.*, 1997, s.254-264.
6. Jichlinski P., Wagnières G., Forrer M., Mizeret J., Guillou L., Oswald M., Schmidlin F., Graber P., Va den Bergh H., Leisinger H.J.: Clinical assessment of fluorescence cystoscopy during transurethral bladder resection in superficial bladder cancer, *Urol. Res.*, 25, 1997, Suppl 1, s. 3-6.
7. Koenig F., McGovern F.J., Larne R., Enquist H., Schomacker K.T., Deutsch T.F.: Diagnosis of bladder carcinoma using protoporphyrin IX fluorescence induced by 5-aminolevulinic acid, *Br.J.Urol.*, 83, 1999, s.129-135.
8. Kriegmair M. et al.: Transurethral electroresection of superficial bladder cancer with or without 5-aminolevulinic induced endoscopy (AFE), *J.Urol.*, 1996, s.155 (DGU congress, Hamburg, Germany 1998).
9. Kriegmair M., Zaak D., Knuechel R., Baumgartner R., Hofstetter A. : Photodynamic Cystoscopy for Detection of Bladder Tumors, *Seminars in Laparoscopic Surgery*, 6, 1999, č. 2, s. 100-103.
10. 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.*, 155, 1999, s. 105-110.
11. Kriegmair M., Zaak D., Stepp H., Baumgartner R., Knuechel R., Hofstetter A.: Transurethral resection and surveillance of bladder cancer supported by 5- aminolevulinic acid-induced fluorescence endoscopy, *Eur. Urol.*, 1999, Nov, s. 386-392.
12. Petřík R., Jirsa M., Dvořák E., Škoda V., Stádník B.: Fluorescence cystoscopy in the diagnostics and treatment of bladder tumors, *Biomed. tech.*, 43, 1998, Suppl. s.74-75.
13. Riedl C.R., Plas E., Pflüger H.: Fluorescence detection of bladder tumor with 5-aminolevulinic acid, *J.Endourol.*, 1999, Dec, s. 755-759.
14. Sabra R., Urban M., Zachoval R.: Karcinom močového měchýře, Cover, Praha 1999
15. Schneeweiss S., Kriegmair M., Stepp H. :Is everything all Right if nothing seems wrong? A simple method of assessing the diagnostic value of endoscopic procedures when a gold standard is absent, *J. Urol.*, 161, 1999, s. 1116-1119 .
16. Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, 1996.

MUDr. J. Kočárek
U vojenské nemocnice 1200
169 02 Praha 6-Střešovice