

L'acido 5-aminolevulinico nella diagnosi dei tumori superficiali della vescica: miglioramento delle possibilità diagnostiche e della radicalità terapeutica in corso di TURB

Gli Autori riportano la prima esperienza in Italia sull'impiego dell'acido 5-aminolevulinico (5-ALA) nelle cistoscopie diagnostiche ed in corso di resezione transuretrale dei tumori superficiali della vescica (TURB). Il 5-ALA, instillato in vescica due ore prima della cistoscopia, rende selettivamente fluorescente il tessuto patologico quando illuminato con luce blu ($\lambda = 400$ nm). Ciò consente un migliore riconoscimento delle forme neoplastiche sia a fini diagnostici che terapeutici in corso di TURB. Dal Maggio '97 sono stati eseguiti 179 prelievi biotici di zone fluorescenti e non su 49 pazienti (~3.5 per paziente) per verificare l'efficacia della nuova metodica nei confronti della cistoscopia standard. Sono stati diagnosticati in totale 24 casi di neoplasia non altrimenti evidenziata, di questi 7 sono risultati essere *Ca in situ* (CIS). Non sono stati riscontrati effetti collaterali né locali né sistemici dovuti all'instillazione endovesicale della sostanza. L'impiego del 5-ALA migliora notevolmente le possibilità diagnostiche di *Ca in situ* e riduce i rischi delle recidive dovute a mancata visualizzazione del tessuto neoplastico o a TURB incompleta. (*Trends Med* 2001; 1:25-30).

Parole chiave

Neoplasia; Diagnostica; Vescica; Acido 5-aminolevulinico; Carcinoma *in situ*

Introduzione

Nell'ambito dei tumori superficiali della vescica, caratteristicamente multifocali e tendenti alla recidiva, è di particolare importanza poter determinare con la maggiore accuratezza possibile la presenza di lesioni neoplastiche, sia in fase diagnostica (tipizzazione e stadiazione della neoplasia), sia nei follow-up. Per queste ragioni si è cercato di mettere a punto metodiche diagnostiche complementari più sensibili sia della citologia urinaria, quali test con BTA, marcatori, ecc., sia della cistoscopia standard^(1,2,3).

C. de Dominicis, M. Liberti, P.M. Michetti, C. De Nunzio, P. Leone, S. Mariani, V. Di Nepi, F. Iori.

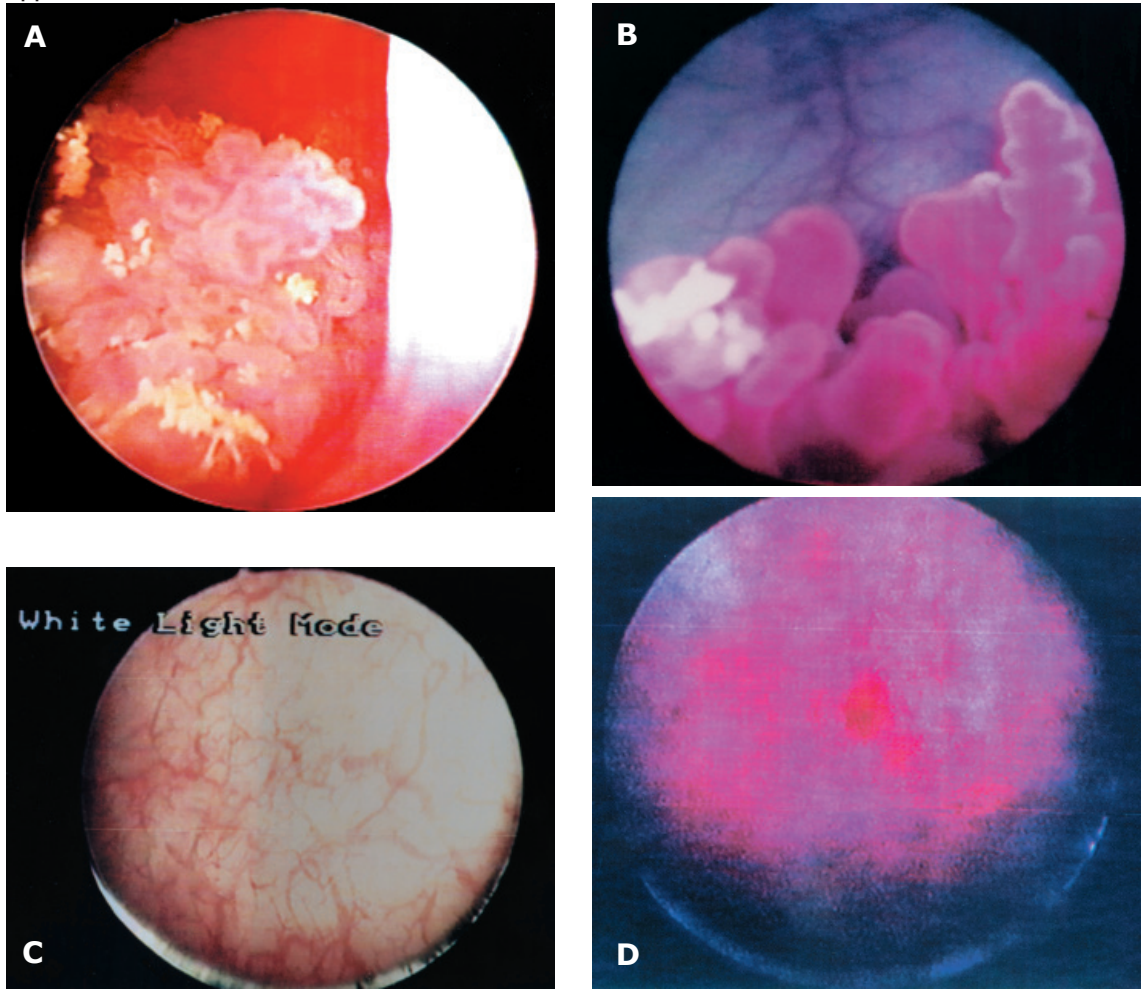
Dipartimento di Urologia "U. Bracci"
Università di Roma "La Sapienza"

✉ **Prof. Carlo de Dominicis**

Dipartimento di Urologia "U. Bracci"
Università di Roma "La Sapienza"
Viale del Policlinico, 12
00161 Roma
e-mail: cdedominicis@uniroma1.it

A tal fine, per rendere più evidente il tessuto neoplastico, non sempre visibile e/o di sicura interpretazione con la cistoscopia standard, sin dagli anni '60 sono stati utilizzati diversi fotosensibilizzatori della mucosa vescicale, allo scopo di creare un contrasto cromatico tra il tessuto sano e quello neoplastico^(4,5,6). La somministrazione di tali sostanze avveniva per via sistemica, provocando effetti collaterali frequenti e con una sensibilità diagnostica poco superiore a quella già disponibile. Negli anni '80 sono state utilizzate sempre per via sistemica le porfirine sintetiche. Queste, benché rendessero fluorescente il tessuto neoplastico quando irradiato con una luce di lunghezza d'onda specifica, non hanno fornito tuttavia risultati particolarmente incoraggianti. Nel 1994 a Monaco di Baviera, Kriegmair e collaboratori^(7,8,9) hanno ripreso questa tecnica utilizzando l'acido 5-aminolevulinico (5-ALA), un precursore della Protoporfirina IX (PPIX); instillandolo in vescica anziché somministrarlo per via sistemica, sono riusciti ad ottenere una fluorescenza ottimale del tessuto neoplastico attraverso l'illuminazione della mucosa vescicale con luce blu ($\lambda = 400$ nm) (figura 1). L'ausilio di tale sostanza ha permesso di aumentare la sensi-

Figura 1. Papilloma vescicale. (A) Cistoscopia standard. (B) Cistoscopia con 5-ALA. (C) Cistoscopia standard: zona di mucosa apparentemente integra. (D) Cistoscopia con 5-ALA: la stessa area di mucosa appare fluorescente.



bilità diagnostica nei confronti della cistoscopia standard a valori prossimi al 100% ⁽¹⁰⁾.

Convinti della ridotta accuratezza diagnostica della cistoscopia standard, soprattutto per i carcinomi *in situ* e le forme multifocali minute e diffuse, ed incoraggiati dai risultati riferiti in letteratura sull'impiego di tale metodica sia in fase diagnostica che in corso di resezioni endoscopiche vescicali (TURB), abbiamo voluto valutare l'effettiva efficacia e praticità della cistoscopia con 5-ALA rispetto a quella standard.

Materiali e metodi

Dal Maggio 1997, presso il Dipartimento di Urologia dell'Università di Roma "La Sapienza", abbiamo introdotto nella routine diagnostica delle neoplasie superficiali della vescica, sia in corso di prima diagnosi che nei follow-up, l'impiego del 5-ALA.

Tale sostanza deriva dal SuccinilCoA e dalla Glicina, è normalmente presente in tutte le cellule nucleate del nostro organismo e costituisce la prima tappa nella sintesi dell'Eme. Due molecole di 5-ALA portano alla formazione di PPIX, che viene convertita in Eme dall'enzima Ferrochelatasi con l'inserzione di una molecola di Ferro. Poiché nella cellule patologiche la Ferrochelatasi presenta una attività ridotta, l'apporto esogeno di 5-ALA produce un ulteriore accumulo di PPIX che rende tali cellule fluorescenti se stimulate da una luce blu ($\lambda=400$ nm).

La soluzione, da instillare in vescica circa due ore prima della cistoscopia, ha un pH finale di 4.8-5.0; è stata preparata sciogliendo 1.5g di 5-ALA in 50 cc di NaHCO_3 e sterilizzata per filtrazione. Ai pazienti che, per motivi funzionali e/o anatomici, non erano in grado di trattenere le urine per il tempo richiesto (2-3 ore), sono stati somministrati antispastici per ritardare

Tabella 1. Caratteristiche del gruppo di pazienti studiati.

Numero di pazienti	49
Età media (range)	60 (31-77)
Uomini/donne	42/ 7
Prima diagnosi	17
Follow-up	12
Recidive	20
Citologia Urinaria	
Positiva	23
Negativa	20
Dubbia	6

dare il più possibile lo stimolo minzionale. Durante l'esame cistoscopico, è stato impiegato il sistema di illuminazione PDD Storz, capace di emettere alternativamente luce acromatica bianca e luce blu.

Tale metodica è stata utilizzata sia in fase diagnostica, durante i prelievi biotici, che in corso di TURB, resecando tutte le zone rese fluorescenti. Sono stati eseguiti prelievi sia da zone fluorescenti che non, rilevando per tali zone anche l'aspetto alla luce acromatica, in modo da poter fare un confronto con i rispettivi rilievi istologici.

Sono stati eseguiti complessivamente 179 prelievi biotici, ~3.5 prelievi a paziente di media su un gruppo di 49 pazienti con diagnosi di neoplasia in prima istanza, o in corso di follow-up post-chemioterapia (tabella 1). In questo numero di prelievi non sono stati volutamente compresi quelli riguardanti tessuto francamente esofitico alla cistoscopia standard e riscontrato sempre fluorescente.

Risultati

I 179 prelievi di tessuto sono stati esaminati sia alla luce standard che a quella blu. Alla cistoscopia standard 155 prelievi sono risultati normali (biopsie random) e gli altri 24 sono apparsi sospetti; di questi ultimi 9 (37%) sono risultati successivamente positi-

vi (6 displasie, 3 carcinomi *in situ*); delle 155 biopsie random da tessuto apparentemente sano alla cistoscopia standard 43 (28%) sono risultati positivi (2 atipie nucleari, 10 carcinomi *in situ*, 13 displasie, 10 TaG2-3 e 8 T1G3).

Degli stessi 179 prelievi, 92 erano fluorescenti alla luce blu e 87 no (tabella 2). Questi ultimi sono stati eseguiti al fine di evidenziare eventuali falsi negativi. Esaminando la rispondenza tra tessuto fluorescente e positività istologica, abbiamo ottenuto i seguenti dati: su 92 prelievi di tessuto fluorescente, 45 (49%) presentavano istologia positiva (1 atipia nucleare, 10 carcinoma *in situ*, 16 displasia, 10 TaG2-3 e 8 T1G3); degli 87 presi da tessuto non fluorescente, 80 (91%) erano effettivamente negativi, mentre 7 (1 atipia nucleare, 3 displasie e 3 carcinoma *in situ*) sono risultati falsi negativi. Si è osservata una maggiore sensibilità (87%) ed una minore specificità (59 *versus* 82%) della cistoscopia con 5-ALA rispetto alla cistoscopia a luce standard (tabella 3).

Su 26 cistoscopie standard negative, 10 avevano una citologia positiva, 2 dubbia e 14 negativa. In tutti i casi con citologia positiva il test con 5-ALA è risultato positivo con uguale positività dell'esame istologico. Identico risultato si è ottenuto nei due casi con citologia dubbia. Dei 10 casi con cistoscopia standard e citologia negative, ben 8 hanno presentato una positività al test con 5-ALA, di cui 5 confermata dall'esame istologico (2 carcinoma *in situ* e 3 TaG2). L'impiego topico endovescicale del 5-ALA non ha provocato effetti collaterali né a livello locale né a livello sistemico.

Discussione

Questa iniziale esperienza di impiego della cistoscopia con 5-ALA, per la diagnosi e la terapia dei tumori superficiali della vescica, permette già di trarre sufficienti elementi di giudizio.

La cistoscopia con 5-ALA richiede un certo periodo di apprendistato da parte dell'operatore per una cor-

Tabella 2. Risultati della cistoscopia standard e con 5-ALA in relazione al reperto istologico.

Prelievi Totali	Cistoscopia Standard	Istologia	Cistoscopia 5 ALA	Istologia
179	Positivi 24 (13%)	Veri Positivi 9 Falsi positivi 15	Positivi 92 (52%)	Veri positivi 45 Falsi positivi 47
	Negativi 155 (87%)	Veri negativi 112 Falsi negativi 43	Negativi 87 (49%)	Veri negativi 80 Falsi negativi 7

Tabella 3. Efficacia delle due cistoscopie.

Efficacia della cistoscopia standard	68%
Sensibilità	18%
Specificità	82%
Valore predittivo positivo	49%
Efficacia della cistoscopia con 5 ALA	70%
Sensibilità	87%
Specificità	63%
Valore predittivo positivo	37%

retta interpretazione delle zone effettivamente fluorescenti e quindi da biopsizzare.

In corso di esame è infatti opportuno seguire alcuni accorgimenti per ridurre i margini di errore nella valutazione. Il grado di fluorescenza del tessuto varia con l'angolo di visuale: quanto più questa è radente, tanto più la mucosa vescicale, anche se sana, appare fluorescente; per ridurre i rischi di falsi positivi è quindi utile impiegare ottiche di 30°-70° ed osservare la mucosa il più perpendicolarmente possibile. Per questi motivi una maggiore fluorescenza la si può notare più frequentemente durante l'osservazione dell'uretra prostatica, del collo e del trigono, cosa che ha comportato, soprattutto nei primi casi studiati, il maggior riscontro di falsi positivi.

Un altro accorgimento per evitare osservazioni false è quello di mantenere la vescica ben distesa durante l'esame: infatti se lo strato superficiale della mucosa appare corrugato per un parziale riempimento, presenta un aumento fittizio della fluorescenza dovuto all'ispessimento degli strati superficiali della mucosa stessa.

E' altresì importante effettuare manovre accurate per evitare sanguinamenti durante l'indagine, così come in corso di TURB eseguire frequenti ed accurate emostasi, poiché la presenza del sangue nel liquido di lavaggio rende più difficoltoso riconoscere le zone fluorescenti.

Si è osservata, come già descritto da Kriegmair et al., una certa decadenza della fluorescenza in caso di indagini eseguite tardivamente (oltre le 3.5 ore dall'instillazione) o prolungatesi eccessivamente nel tempo: è perciò consigliabile non dilungarsi troppo nella visione con luce acromatica e dedicarsi maggiormente alla fase diagnostica e operativa con luce blu. Dall'esame istologico dei prelievi eseguiti sia su tessuto fluorescente che non, si è ottenuta una sensibilità dell'87% ed una specificità del 63% che, confrontate ai valori della cistoscopia standard (rispetti-

vamente 18% e 82%), mostrano un significativo vantaggio. Infatti, sebbene la specificità della cistoscopia con 5-ALA sia minore rispetto a quella standard (ciò che si vede ad occhio nudo come sospetto più facilmente corrisponde ad un'alterazione), tuttavia l'efficacia è a favore del 5-ALA, ancor più se consideriamo il notevole incremento della sensibilità, fondamentale per la corretta diagnosi delle neoplasie.

Volendo valutare nella casistica riportata, per ogni tipo di lesione vescicale neoplastica e non, la possibilità di identificazione rispettivamente alla cistoscopia standard ed alla cistoscopia con 5-ALA, notiamo un netto miglioramento della sensibilità nei confronti delle lesioni quali CIS, atipie nucleari e displasie, (rispettivamente dal 23% al 77%, dallo 0% al 50%, e dal 32% all'84%).

Come inizialmente specificato, l'accumulo selettivo della PPIX è caratteristico della cellula neoplastica. Tuttavia, oltre a questa, risultano sensibili allo stimolo del 5-ALA anche il tessuto con iperplasia uroteliale o metaplasia squamosa ed il tessuto flogistico (secondario a cistite, ecc.) o di granulazione dopo TURB. Ciò comporta il possibile riscontro di un maggior numero di zone fluorescenti riferibili non unicamente a tessuto neoplastico e porta ad un aumento dei cosiddetti "falsi positivi", se per "positivo" intendiamo esclusivamente il tessuto neoplastico abbassando la specificità della metodica. Tuttavia quest'aspetto non limita nè compromette la diagnosi di neoplasia.

Data l'alta sensibilità della metodica, si ritiene che la possibilità di identificare tessuto patologico non necessariamente neoplastico, non impedisca la corretta diagnosi delle neoplasie vescicali e contribuisca semmai, come conferma l'esperienza, a chiarire ulteriormente alcuni quadri clinici, quali cistiti abatteriche secondarie a metaplasia squamosa, allargandone quindi le indicazioni e le possibilità diagnostiche. E' comunque importante evitare di compiere l'indagine a breve distanza da episodi cistitici, da instillazioni con chemioterapici o da precedenti TURB (almeno dopo 3-4 settimane) per ridurre i rischi di incorrere in tessuto fluorescente molto probabilmente non neoplastico.

I "falsi negativi", cioè i prelievi non fluorescenti (5), istologicamente risultavano essere atipie nucleari, displasie e CIS. Va sottolineato però che tali lesioni erano sincrone ad altre risultate fluorescenti e correttamente evidenziate dalla metodica, senza perciò compromettere la sensibilità della tecnica per singolo paziente, e quindi la diagnosi finale. Un dato di rilievo è stato il riscontro di un alto numero di posi-

tività istologica grazie alle biopsie mirate con 5-ALA nei casi con cistoscopia standard negativa. In particolare tutti i prelievi citologici positivi hanno presentato anche positività istologica e, fatto ancor più importante, si sono riscontrate 4 positività all'istologia in 6 casi che avevano una negatività sia alla cistoscopia standard che alla citologia. Anche se questi ultimi casi riguardavano controlli in soggetti già con diagnosi di Ca vescicale dopo TURB o chemioterapia, ciò dimostra come le indagini finora attuate abbiano un'affidabilità diagnostica non elevata e come l'utilizzo del 5-ALA contribuisca nettamente all'aumento di questa.

Nonostante la possibilità, a cui si è accennato in precedenza, di un certo margine di errore nell'interpretare l'effettiva fluorescenza della zona in esame, si è notata un'omogeneità dei risultati ottenuti in confronto a quelli di altri Autori^(11,12). Ciò dimostra ulteriormente l'affidabilità della metodica e soprattutto la capacità di evidenziare con sicurezza tessuto neoplastico quando presente.

La mancanza di effetti collaterali, sia topici che sistemici, secondari alla somministrazione del farmaco rende tale metodica sicura ed affidabile, contrariamente all'esperienza del passato in cui i farmaci fotosensibilizzatori iniettati per via sistemica causavano fluorescenze indesiderate sulle mucose visibili. Infine è da notare che i costi, maggiori rispetto alla cistoscopia standard, sono dovuti alla fonte di luce, peraltro facilmente ammortizzabile, ed alla sostanza chimica il cui prezzo è di 60 Euro per esame, ma si ritiene parzialmente riducibile quando sarà maggiormente diffusa la metodica.

In definitiva lo studio condotto, anche se costituisce una prima esperienza non scevra di errori, ha consentito di verificare un notevole miglioramento delle capacità diagnostiche, con un totale di 7 diagnosi di CIS sfuggite alle biopsie standard.

Conclusioni

Si ritiene, a seguito dello studio effettuato, che l'impiego della cistoscopia con 5-ALA possa apportare un effettivo e significativo miglioramento nella diagnosi e nella terapia dei tumori superficiali della vescica. L'esperienza sinora condotta ci ha mostrato una tecnica di facile esecuzione, che tuttavia richiede l'acquisizione di una certa pratica per il riconoscimento delle zone di tessuto effettivamente fluorescenti. La metodica è risultata sicura per il paziente e di significativa efficacia, migliorando notevolmente la sensibilità diagnostica e l'accuratezza nell'asporta-

zione del tessuto neoplastico in corso di TURB. Tutto ciò sicuramente contribuirà ad una riduzione di parte delle recidive così frequenti in questa patologia, soprattutto di quelle dovute ad una multifocalità non identificata o ad una TURB incompleta. E' altresì importante evidenziare la possibilità di diagnosi di carcinoma *in situ*, finora impossibile da identificare alla cistoscopia standard e la cui diagnosi era affidata a prelievi "random". Per tutti questi motivi si ritiene che la cistoscopia con 5-ALA possa rientrare sia nel normale iter diagnostico dei tumori superficiali della vescica, contribuendo al loro esatto inquadramento, sia nel follow-up. Inoltre può risultare di particolare aiuto nei casi con citologie positive e cistoscopie standard negative e nella diagnosi dei carcinomi *in situ*.

Bibliografia

1. Flamm J. The significance of bladder quadrant biopsies in patients with primary superficial bladder cancer. *Eur Urol* 1989; 16:81.
2. Kiemeny LA, Witjies JA. Predictability of recurrent and progressive disease in individual patients with primary superficial bladder cancer. *J Urol* 1993; 150:60.
3. Klan R, Loy V. Residual tumor discovered on routine second transurethral resection in patients with stage T1 transitional cells carcinoma of the bladder. *J Urol* 1991; 146:316.
4. Lipson RL, Baldes EJ. The photodynamic properties of a particular hematoporphyrin derivative. *Arch Dermatol* 1960; 82:508.
5. Benson RC. Treatment of bladder cancer with hematoporphyrin derivatives and laser light. *Urology Suppl* 1998; 31:13.
6. Fukui I, Yokokawa G. In vivo staining test with methylene blue for bladder cancer. *J Urol* 1983; 130:252.
7. Kriegmair M, Baumgartner R, Knüchel R, Ehsan A, Steinbach P, Lumper W, Hofstädter F, Hofstetter A. Fluorescence photodetection of neoplastic urothelial lesions following intravesical instillation of 5-aminolevulinic. *Urology* 1994; 44:836.
8. Steinbach P, Kriegmair M, Baumgartner R, Hofstädter F, Knüchel R. Intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid: the fluorescent metabolite is limited to urothelial cells. *Urology* 1994; 44:676.
9. Kriegmair M, Baumgartner R. Detection of early bladder cancer by 5-aminolevulinic acid induced porphyrine fluorescence. *J Urology* 1995; 155:105.
10. Kriegmair M, Stepp H, Steinbach P, Lumper W, Ehsan A, Stepp HG, Rick K, Knüchel R, Baumgartner R, Hofstetter A. Fluorescence cystoscopy following intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid: a new procedure with high sensitivity for detection of hardly visible urothelial neoplasms. *Urol Int* 1995; 55:190.
11. Jichlinski P, Wagnières G, Forrer M, Mizeret J, Guillou L, Schmidlin F, Graber P, Van Den Bergh H, Leisinger

- HJ. Clinical value of fluorescence cystoscopy in the detection of superficial transitional cells carcinomas of the bladder. *Ann Urol* 1997; 31:43.
12. Kriegmair M, Zakk D, Stepp H, Baumgartner R, Knüchel R, Hofstetter A. Transurethral resection and surveillance of bladder cancer supported by 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence endoscopy. *Eur Urol* 1999; 36:386-392.

xenical

pellicola

scheda tecnica xenical

pellicola