

BEVEZETÉS

A hólyagdaganatok diagnosztikája, terápiája a mindennapi urológiai munkában kiemelkedő jelentőséggel bír, mivel a hólyagdaganatos betegek képezik az egyik legnagyobb urológiai betegcsoportot. A hólyagdaganat a második leggyakoribb malignóma a férfi urogenitális traktuson belül és a leggyakoribb urológiai daganatos megbetegedés a nők esetében. Közel háromszor több férfi betegszik meg, mint nő, férfiaknál a negyedik, nőknél a nyolcadik leggyakoribb daganatos halálok. Incidenciája folyamatosan növekszik (évente mintegy 2%-al) és jelenleg az Egyesült Államokban a középkorú, illetve idős férfi populáció második leggyakoribb daganatos megbetegedése.

A húgyhólyagot felépítő szövetekből kiinduló daganatok döntő többsége (95%) epitheliális eredetű. Ezen elváltozások 90-92%-a urotheliumból indul ki. A primer hólyagdaganatok 5-6 %-a laphám eredetű, bár itt meg kell jegyezni, hogy nagy különbségek vannak a földrajzi elhelyezkedés szerint. Schistosoma endémiás területeken (közel-kelet) a laphámrákok teszik ki a hólyagdaganatok mintegy 75%-át. Az esetek kevesebb, mint 2%-ban találkozunk adenocarcinomával. Az egyes epithelium eredetű malignus elváltozások egyszerre, tehát kevert carcinoma (mixed carcinoma) formájában is jelentkezhetnek. A nem epitheliális eredetű daganatok ritkák, myosarcoma, osteogen sarcoma, lymphoma, pheochromocytoma fordulhat elő.

A hólyagdaganatok mélységi terjedése alapján a folyamatokat két nagy csoportra, felületes és invazív folyamatokra oszthatjuk. Konvencionálisan a Ta, Tis, T1 folyamatok tartoznak a felületes hólyagdaganatok, míg a T2-T4 mélységi terjedésűek az invazív daganatok csoportjába.

A hólyagdaganatok többgócúságát, panurotheliális természetét bizonyítja, hogy a tumor az urotheliummal borított húgyúti traktus bármelyik pontján, egy helyen, vagy több helyen egyszerre, vagy akár évekkel a primer daganat eltávolítása után ismételtlen is kialakulhat. Polikronotópiának nevezzük a hólyagdaganatok térbeli és időbeli multicentricitását. A frissen felismert daganatok 55-60%-a jól, vagy közepesen differenciált, felületes folyamat, 40-45%-a rosszul differenciált daganat, melyeknek a fele izominvazív. Az urotheliális daganatoknak magas a recidíva aránya (75-80%) és a felületes daganatok mintegy 20%-a progrediál.

A hólyagdaganatok magas száma, a növekvő incidencia, a magas recidíva és progresszióarány ismeretében érthető, milyen fontos szerepet tölt be az urológiai gyakorlatban a hólyagdaganatok diagnosztikája és nyomon követése, valamint a minél tökéletesebb diagnosztikai eljárások kifejlesztésére irányuló törekvések.

CÉLKITŰZÉSEK

A fluoreszcens cisztoszkópiáról szóló irodalom áttekintése és összefoglalása, különös tekintettel a különböző fluorókrómok alkalmazásának összehasonlítására.

A különböző fotoszenzitivizáló anyagok vizsgálata fluoreszcens cisztoszkópia során és a különböző fluorókrómokkal végzett beavatkozások szenzitivitási, specificitási adatainak összehasonlítása.

Egy új diagnosztikus eljárás kidolgozása, ami a későbbiekben a hólyagtumoros betegek nyomonkövetésében a cisztoszkópiás beavatkozásokat kiváltaná, illetve azok számát csökkentené.

A különböző fluorókrómok vizsgálata és összehasonlítása fluoreszcens citológia során.

HÓLYAGDAGANATOK IN-VIVO FOTODINÁMIÁS DIAGNOSZTIKÁJA

Irodalmi áttekintés

Az 5-ALA indukálta fluoreszcens cisztoszkópia klinikai alkalmazása

Kriegmair 1992-es közleménye óta a világon széles körben elterjedt diagnosztikus módszer az 5-ALA instillációja utáni protoporfirin IX indukálta fluoreszcencia detektálásán alapuló cisztoszkópia.

Az instillációhoz 50 ml 3%-os 5-ALA oldat a legáltalánosabban elfogadott, az intravezikális retenció idejét a szerzők többsége 2 órában határozza meg, és minden szerző az instillációt követően 4 órán belül javasolja a vizsgálat végrehajtását. Minden cisztoszkópia és fluoreszcens cisztoszkópia során gyanús terület reszekcióját, illetve biopsziáját tartják a követendő eljárásnak. Minden szerző rendkívül magas szenzitivitásról számol be, de a specificitás megítélésében nagy változatosságot találunk az egyes szerzők által publikált adatok között. A vizsgálat szenzitivitása 83-100% között, specificitása 42-84% között mozog (Izd. 2.számú táblázat). Az igen eltérő specificitási adatokat, a vizsgálatot végző személy gyakorlottságával, fluoreszcens cisztoszkóppal szerzett tapasztaltságával magyarázhatjuk. Nagy beteganyaggal rendelkező centrumokból származó 65-80% körüli specificitást tarthatjuk reálisnak. Magyarországi tapasztalataikról Székely, Somogyi és munkatársai, valamint Sapanidis, Kovács és munkatársai számoltak be. Jelenleg folynak kutatások a specificitás javítására, a fluoreszcencia kvantitatív meghatározásával.

	5-ALA indukálta fluoreszcens cystoscopia szenzitivitása	5-ALA indukálta fluoreszcens cystoscopia specificitása
Zaak	92,4%	65,3%
Kriegmair	100%	68,5%
Jichlinski	82,9%	81,3%
Ehsan	98%	65%
Jeon	98%	42,9%
Matveev	98%	76,3%
Cheng	89,1%	83,8%

A H-ALA indukálta fluoreszcens cisztoszkópia klinikai alkalmazása

Az 5-ALA észterifikálásával a szabad savnál lipofilebb vegyületet sikerült előállítani, melynek sejtpenetrációja sokkal jobb a hidrofil tulajdonságú eredeti vegyületnél. A jobb penetráció miatt nagyobb protoporfirin IX akkumuláció és jobban detektálható fluoreszcencia várható. Az 5-ALA észterei közül a hexil-aminolevulinsav váltotta be kísérletes körülmények között a hozzáfűzött reményeket. Jelenleg is folynak multicentrikus tanulmányok az új, második generációs protoporfirin IX prekursor alkalmazásával. Jichlinski és munkatársai, valamint a Hexvix PCB 301/01 Study Group adatai alapján a hexyl-ALA indukálta fluoreszcens cystoscopia specificitási, szenzitivitási értékei az első generációs protoporfirin IX prekursorokéhoz hasonló.

Hypericin indukálta fluoreszcens cisztoszkópia klinikai alkalmazása

A gyógyászatban régóta ismert növényi eredetű (orbáncfű) fluorokrómról Kamuhabwa vizsgálatai igazolták, hogy urotheliális carcinoma sejtek akkumulálják. D'Hallewin számolt be először hypericin instillálása utáni fluoreszcens cisztoszkópiával szerzett tapasztalatairól. Bevezető tanulmányában 40 beteget vizsgált, és a módszerrel 93%-os szenzitivitás mellett, igen figyelemreméltó 98,5 %-os specificitást ért el. Ugyanő később nagyobb beteganyagonszerzett tapasztalatok alapján 94%-os szenzitivitás mellett 93%-os specificitásról számolt be. Mindeztáig az irodalomban senki más nem számolt be hypericin indukálta fluoreszcens cisztoszkópiával szerzett tapasztalatokról, a további vizsgálatoknak kell eldönteni a vizsgálat valódi értékét.

Saját tapasztalatok

Anyag és módszer

A vizsgálatokat a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvosi Kar Urológiai Klinikáján, valamint a salzburgi St. Johannis Spital Urológiai és Andrológiai Osztályán, 2000 júniusa és 2003 decembere között 89 betegnél végeztük el. Transurethrális mintavételt hajtottunk végre minden fluoreszcens cisztoszkópia során pozitívítást mutató hólyagterületről, minden hagyományos cisztoszkópia során daganatra gyanús elváltozásból és válogatott esetekben (cisztoszkópia negatív, fluoreszcens cisztoszkópia negatív, vizeletcitológia pozitív) térképbiopsziás mintavételt végeztünk. Összesen 342 mintavételt végeztünk.

A betegek átlag életkora 65,2 év (41-84 év) volt. 51 beteg anamnézisében szerepelt hólyag tumor miatti reszekció és közülük 28 részesült korábban intravezikális kezelésben (BCG,

mytomycin). A vizeletüledék vizsgálat 29 esetben negatív volt, 45 betegnek volt mikroszkópikus és 15 betegnek makroszkópos hematuriája.

A betegeknek transurethrális műtétük előtt 10 Ch-s katéteren keresztül instilláltuk a hólyagjukba a fotoszenzitivizáló anyagot.

59 esetben 1.5 g 5-amino-levulinsavat 50 ml 1,4%-os nátriumbikarbonát oldatban, 18 esetben 40 ml 8 mikromolos hypericin oldatot (0.16 mg hypericin, 4 mikromol polivinilpirrolidon 10 (PVP 10), 4 mikromol polivinilpirrolidon 40 (PVP 40) 40 ml 0.9%-os nátriumklorid oldatban) és 12 esetben 1 g hexil-aminolevulinsavat (Hexvix®) 50 ml 1,4 %-os nátriumbikarbonát oldatban instilláltunk. Az intravezikális retenció ideje 60 és 120 perc között változott.

Műtéti körülmények között hagyományos cisztoszkópiát, majd fluoreszcens cisztoszkópiát végeztünk a tumorgyanús területek detektálása céljából. Ezt követően a hagyományos, majd fluoreszcens cisztoszkóp vezérelte biopsziás mintavételt, illetve transurethrális reszekciót elvégeztük.

A fluoreszcens cisztoszkópia során a Storz cég által gyártott D-light® fényforrást, fénykábelt, 30 és 70 fokos PDD optikát és Urocam® PDD kamerát használtunk.

5-aminolevulinsav indukálta fluoreszcens cisztoszkópia

59 betegnél 205 biopsziás mintavételt végeztünk. A szövettani vizsgálat 93 esetben nem igazolt malignitást. 112 biopsziás minta bizonyított hólyagdaganatot.

TxGIII:	1	T1GI:	4	T2aGII:	2	Negatív:	93
<hr/>							
TaG0:	5	T1GII:	9	T2aGIII:	8		
<hr/>							
TaGI:	37	T1GIII:	21	T3aGIII:	3		
<hr/>							
TaGII:	9	CIS:	10	T4aGIII:	2		
<hr/>							
TaGIII:	1						

A 112 szövettanilag igazolt daganatos minta közül, 109 elváltozás mutatott indukált fluoreszcenciát a fotodinamias diagnosztika során. Három TaGI uroepitheliális carcinoma esetében nem észleltünk indukált fluoreszcenciát.

A 93 szövettanilag malignitás szempontjából negatív minta közül 14 mutatott pozitívítást fluoreszcens cisztoszkópia alkalmazásakor. Ezen esetekben a betegek anamnézisében intravezikális instillációs kezelés szerepelt.

Hagyományos cisztoszkópia során 17 daganatos elváltozás nem került felismerésre. 79 hagyományos cisztoszkópia vezérelte biopszia felesleges volt.

Vizsgálati anyagunkban az 5-ALA indukálta fluoreszcens cisztoszkópia szenzitivitása 98%, specificitása 82% volt.

Hexil-aminolevulinsav által indukált fluoreszcens cisztoszkópia

12 beteg esetében 61 biopsziás mintavételt hajtottunk végre. A szövettani vizsgálat 22 esetben malignitást nem igazolt. 39 esetben a hólyagtumor szövettanilag is igazolódott.

Diszplázia:	5	T1GI:	1	Negatív:	22
TaGI:	22	T1GIII:	3		
TaGII:	1	TxGI:	1		
TaGIII:	1	CIS:	5		

A 39 daganatos elváltozás közül 38 mutatott indukált fluoreszcenciát, fluoreszcens cisztoszkópia során. Egy diszplasztikus elváltozás esetében nem észleltünk indukált fluoreszcenciát.

A 22 malignitás szempontjából negatív minta közül 6 esetben észleltünk pozitív fotodinámiás diagnosztika során. Az álpozitív elváltozások esetében a betegek korábban intravezikális recidíva profilaxisban részesültek.

Konvencionális cisztoszkópia során 8 daganatos elváltozás nem került felismerésre. 4 diszplasztikus elváltozást és 4 in situ carcinomát sikerült fluoreszcens cisztoszkóppal detektálnunk.

16 hagyományos cisztoszkóppal végrehajtott biopszia felesleges volt.

A hexil-ALA indukálta fluoreszcens cisztoszkópia szenzitivitása 97 %, specificitása 72 % volt.

Hypericin indukálta fluoreszcens cisztoszkópia

18 betegnél 76 biopsziás mintavételt hajtottunk végre. 43 esetben a szövettani vizsgálat malignitást nem igazolt, 33 mintában sikerült malignitást kimutatni.

Diszplázia:	2	T1GI:	2	T2aGII:	1	Negatív:	43
TaGI:	15	T1GII:	3				
TaGII:	2	T1GIII:	1				
TaGIII:	1	CIS:	6				

Az összes hisztológiailag igazolt tumoros terület pozitív volt fluoreszcens cisztoszkópia során. A 43 negatív szövettani minta közül 8 esetben észleltünk indukált fluoreszcenciát a fotodinámiás vizsgálat során. Ezek a betegek is intravezikális terápián estek át korábban.

Nyolc tumoros területet nem sikerült cisztoszkópia során detektálni. Fluoreszcens cisztoszkóppal 1 TaGI, 1 T1GI daganatot, valamint 6 in situ carcinomát sikerült felismernünk.

Vizsgálataink során a hypericin indukálta fluoreszcens cisztoszkópia szenzitivitása 100 %, specificitása 81 % volt.

Az eredmények összegzése

Vizsgálati anyagunkban 89 betegnél 342 mintavételt hajtottunk végre. 184 minta szövettani vizsgálata igazolt urotheliális daganatos elváltozást, míg 158 minta vizsgálata során malignitás nem igazolódott. Összesen 208 indukált fluoreszcenciát mutató területből történt mintavétel, ezek közül 145 elváltozás hagyományos cisztoszkópia során is tumorgyanús volt. 133 biopsziás mintavételi hely nem mutatott indukált fluoreszcenciát.

Diszplázia:	7	T1GI:	7	T2aGIII	8	Negatív	158
TaG0:	5	T1GII:	12	T3aGIII:	3		
TaGI:	74	T1GIII:	25	T4aGIII:	2		
TaGII:	12	CIS:	21	TxGI:	1		
TaGIII:	3	T2aGII:	3	TxGIII:	1		

184 igazolt daganatos elváltozás közül 180 mutatott indukált fluoreszcenciát, míg 158 negatív területből 29 mutatott al pozitivitást a fotodinámiás diagnosztika során. Minden beteg, akinél álpozitivitást észleltünk a fotodinámiás vizsgálat során, korábban intravezikális terápiában részesült. Vizsgálati anyagunkban három TaGI daganatot és egy diszplasztikus elváltozást nem sikerült fluoreszcens cisztoszkópia során detektálnunk. A diszpláziát (low grade intraurotheliális neoplázia) a tanulmányunk során tumoros elváltozásként vettük figyelembe.

Hagyományos cisztoszkópia során 33 daganatos elváltozás (6 diszplázia, 19 CIS, 4 TaGI, 1 T1GI, 1 T1GII, 2 T1GIII) nem került felismerésre, ezeket a fluoreszcens cisztoszkópia során sikerült detektálnunk.

129 hagyományos cisztoszkóp által vezérelt mintavétel felesleges volt.

A fluoreszcens cisztoszkópia összesített szenzitivitása vizsgálati anyagunkban 98%, specificitása 82% volt.

Megbeszélés

Vizsgálatainkkal az irodalomban publikált szenzitivitási és specificitási adatokkal összevethető, azoknak megfelelő értékeket igazoltunk. A három különböző fotoszenzitivizáló anyaggal végzett vizsgálataink során szenzitivitásbeli lényeges különbséget nem észleltünk. Specificitási adataink közül a hexil-ALA indukálta fluoreszcens cisztoszkópia specificitása szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az 5-ALA és a hypericin indukálta fluoreszcens

cisztoszkópia specificitása, bár az alacsony esetszám miatt ennek értékelhetősége kérdéses. Megfigyelhető volt anyagunkban, hogy a vizsgálat specificitását a korábbi intravezikálisan alkalmazott terápia (BCG, mitomycin) jelentősen rontotta. Hypericin indukálta fluoreszcens cisztoszkópiáról tudomásunk szerint mindezidáig egy munkacsoport tanulmányai kerültek publikálásra. Beteganyagunkon nem sikerült D'Hallewin által közölt kiváló specificitási értéket reprodukálni, szignifikáns különbség a hypericin és az 5-aminolevulinsav indukálta fluoreszcens cisztoszkópia specificitása között nem volt, korábbi intravezikális kezelés a hypericin indukálta fluoreszcencia specificitását is rontotta. Fotoszenzitivizáló anyagtól függetlenül kiváló szenzitivitásúnak bizonyult a fluoreszcens cisztoszkópia. Saját anyagunkban 184 szövettanilag igazolt tumoros folyamatból 180 elváltozás mutatott indukált fluoreszcenciát, 3 TaGI daganatot és egy diszplastikus elváltozást hagyományos cisztoszkópia vezérelte mintavétel során sikerült detektálnunk. Ezzel szemben 129 cisztoszkóp vezérelte mintavételt feleslegesen végeztünk el, és a cisztoszkópia során a tumoros folyamatok jelentős hányadát (18%) nem sikerült felismerni. Külön figyelmet érdemel hogy 21 in situ carcinoma közül fluoreszcens cisztoszkópia nélkül csak 3 került detektálásra (14%). 4 beteg esetében a CIS diagnosztizálása terápiai terv módosítását jelentette.

A fluoreszcens endoszkópiák során jól ismert fotoelhalványulást saját anyagunkban is észleltük aminolevulinsav és észterének instillációját követően végzett fluoreszcens cisztoszkópia során, de ez a fenomén nem volt olyan mértékű, hogy a diagnosztikát jelentősen befolyásolta volna. Multiplex elváltozásoknál javasoljuk először a cisztoszkópia során nem, vagy nehezen vizualizálható területek reszekcióját elvégezni. Hypericin alkalmazása során a fotoelhalványulást nem észleltük.

Instillációból származó nem kívánatos mellékhatást, szövődményt nem észleltünk.

Következtetések

A fluoreszcens cisztoszkópia biztonságos, igen magas szenzitivitású módszer. Segítségével a nehezen felismerhető, nem exofitikus daganatok is diagnosztizálhatók, így szükség esetén a korábbi kezelési stratégia megváltoztatható.

Nyilvánvaló exofitikus folyamatok mellett elhelyezkedő kisebb folyamatok, malignus, lapos folyamatok diagnosztizálásával és kezelésével, a reszekciós szél pozitivitásának megítélésével a recidíva és progresszió arány javítható.

A kiváló szenzitivitási adatok alapján kimondható, hogy a vakon végzett térkép biopsziák elkerülhetők, így a feleslegesen elvégzett mintavételek száma csökkenthető.

Intravezikális terápian átesett betegeknél számolni kell a magasabb álpozitív esetszámmal.

HÓLYAGDAGANATOK IN-VITRO FOTODINÁMIÁS DIAGNOSZTIKÁJA

Anyag és módszer

A tanulmányt a salzburgi Landeskrankenhaus St.Johanns Spitalban az Urológiai és Andrológiai Osztályon végeztük el 2001 áprilisa és 2002 februárja között. Összesen 78 beteget vizsgáltunk meg, akik a fluoreszcens citológiai vizsgálat után transurethrális reszekción estek át. Csak olyan beteget vontunk be a tanulmányba, akiknél a korábbi ambuláns vizsgálatok (cisztoszkópia, citológia, UH) hólyagdaganat alapos gyanúját vetették fel.

A betegek átlag életkora 66,7 év (47-84 év) volt. 42 beteg anamnézisében már szerepelt hólyag tumor miatti reszekció és közülük 23 részesült intravezikális kezelésben korábban (BCG, mitomycin). A vizeletüledék vizsgálat 25 esetben negatív volt, 39 betegnek volt mikroszkópos és 14 betegnek makroszkópos hematuriaja. A betegeknek transurethrális műtétük előtt 10 Ch-s katéteren keresztül instilláltuk a hólyagjukba a fotoszenzitivizáló anyagot.

48 esetben 1.5 g 5-amino-levulinsavat 50 ml 1,4%-os nátriumbikarbonát oldatban, 18 esetben 40 ml 8 mikromolos hypericin oldatot (0.16 mg hypericin, 4 mikromol polivinilpirrolidon 10 (PVP 10), 4 mikromol polivinilpirrolidon 40 (PVP 40) 40 ml 0.9%-os nátriumklorid oldatban) és 12 esetben 1 g hexil-aminolevulinsavat (Hexvix®) 50 ml 1,4 %-os nátriumbikarbonát oldatban instilláltunk. Az intravezikális retenció ideje 60 és 120 perc között változott. Minimálisan egy órás inkubáció után vizeletmintát vettünk hagyományos és fluoreszcens citológiai vizsgálatához. Ezt követően a betegek átestek a transurethrális reszekción.

A fluoreszcens citológiai vizsgálatához levett vizeletmintát 5 percig (1500 fordulat/perc) centrifugáltuk (cytospin). Az indukált fluoreszcenciát Leica DM L mikroszkóppal detektáltuk. Gerjesztéshez 380-425 nm BP szűrőt, az emisszió detektálásához 470 nm LP szűrőt használtunk.

Indukált fluoreszcencia detektálása esetén pozitívnak véleményeztük a fluoreszcens citológiai vizsgálatot. Pozitivitás esetén piros fluoreszkáló sejteket észleltünk a zöld színű normál urothelium sejtek mellett. A vizsgálatokat patológus bevonása nélkül végeztük. Az eredményeket a szövettani vizsgálatok és a hagyományos citológia eredményeivel hasonlítottuk össze.

Eredmények

A szövettani vizsgálat 8 esetben nem mutatott malignitást. 32 esetben Ta, 17 esetben T1, 8 esetben CIS, 13 esetben invazív (T2-T4) urotheliális carcinoma igazolódott.

Differenciáltsági fok alapján 30 Grade I, 15 Grade II, 25 Grade III tumor nyert bizonyítást. A 8 eset közül, ahol malignitás nem igazolódott 5 beteg 5-ALA, 3 hypericin instillációban részesült.

A 70 hólyagtumoros beteg közül 69-nél volt pozitív a fluoreszcens citológiai vizsgálat, míg a konvencionális citológiai vizsgálat 53 esetben volt pozitív. A fluoreszcens citológia vizsgálat összesített szenzitivitása 98,5 %, míg beteganyagunkban a citológiai vizsgálat összesített szenzitivitása 76 % volt.

Ta:	32	FC pozitív:	31 (97%)	Cit. pozitív:	22 (69%)
T1:	17	FC pozitív:	17 (100%)	Cit. pozitív:	13 (76%)
CIS:	8	FC pozitív:	8 (100%)	Cit. pozitív:	7 (87,5%)
T2-4:	13	FC pozitív:	13 (100%)	Cit. pozitív:	11 (85%)
GI:	30	FC pozitív:	29 (97%)	Cit. pozitív:	18 (60%)
GII:	15	FC pozitív:	15 (100%)	Cit. pozitív:	12 (80%)
GIII:	25	FC pozitív:	25 (100%)	Cit. pozitív:	23 (92%)

5-ALA indukálta fluoreszcens citológia

A 48 5-ALA instilláción átesett beteg esetében 44 alkalommal volt a fluoreszcens citológiai vizsgálat pozitív, ezek közül két esetben a hisztológiai vizsgálat malignitást nem igazolt. A 43 hisztológiailag pozitív esetben 42 alkalommal volt a fluoreszcens, és 33 esetben a konvencionális citológiai vizsgálat pozitív. Az 5-ALA által indukált fluoreszcens citológia szenzitivitása 98 %, míg ebben a vizsgálati csoportban a hagyományos citológiai vizsgálaté 77% volt.

Ta:	21	FC pozitív:	20 (95%)	Cit. pozitív:	14 (66%)
T1:	10	FC pozitív:	10 (100%)	Cit. pozitív:	8 (80%)
CIS:	2	FC pozitív:	2 (100%)	Cit. pozitív:	1 (50%)
T2-4:	10	FC pozitív:	10 (100%)	Cit. pozitív:	10 (100%)
GI:	19	FC pozitív:	18 (94%)	Cit. pozitív:	11 (58%)
GII:	8	FC pozitív:	8 (100%)	Cit. pozitív:	7 (87,5%)
GIII:	16	FC pozitív:	16 (100%)	Cit. pozitív:	15 (94%)

Hypericin indukálta fluoreszcens citológia

18 betegnél végeztünk hypericin instillációt. 3 esetben malignitás nem igazolódott, ezek közül egy esetben a fluoreszcens citológiai vizsgálat pozitív volt. A 15 igazolt tumoros

beteg közül mindenkinél pozitív volt a fluoreszcens citológiai vizsgálat, míg a hagyományos citológiai vizsgálat 12 esetben. Ebben a vizsgálati csoportban a fluoreszcens citológia szenzitivitása 100 %, a hagyományos citológia szenzitivitása 80 % volt.

Ta:	4	FC pozitív:	4 (100%)	Cit. pozitív:	4 (100%)
T1:	5	FC pozitív:	5 (100%)	Cit. pozitív:	4 (80%)
CIS:	3	FC pozitív:	3 (100%)	Cit. pozitív:	3 (100%)
T2-4:	3	FC pozitív:	3 (100%)	Cit. pozitív:	1 (33%)
GI:	4	FC pozitív:	4 (100%)	Cit. pozitív:	4 (100%)
GII:	6	FC pozitív:	6 (100%)	Cit. pozitív:	4 (67%)
GIII:	5	FC pozitív:	5 (100%)	Cit. pozitív:	4 (100%)

Hexil-ALA indukálta fluoreszcens citológia

12 beteg esett át hexil-ALA instilláción. Minden betegnél igazolódott a hisztológiai vizsgálat során a tumorgyanú, a fluoreszcens citológia is minden esetben pozitív volt, míg a hagyományos citológiai vizsgálat 8 esetben volt pozitív. A fluoreszcens citológia szenzitivitása 100 % volt, míg a konvencionális vizeletcitológia szenzitivitása 67 %.

Ta:	7	FC pozitív:	7 (100%)	Cit. pozitív:	4 (57%)
T1:	2	FC pozitív:	2 (100%)	Cit. pozitív:	1 (100%)
CIS:	3	FC pozitív:	3 (100%)	Cit. pozitív:	3 (100%)
GI:	7	FC pozitív:	7 (100%)	Cit. pozitív:	3 (43%)
GII:	1	FC pozitív:	1 (100%)	Cit. pozitív:	1 (100%)
GIII:	4	FC pozitív:	4 (100%)	Cit. pozitív:	4 (100%)

Megbeszélés

A kezdeti eredmények statisztikai analízise az új módszerünk esetében magas szenzitivitási értéket mutat, bár az esetszám viszonylag alacsony.

A lapos urotheliális léziók detektálása nehéz cisztoszkópia során. Az eredményeink a fluoreszcens citológia jó diagnosztikai értékét támasztják alá lapos elváltozások esetében is. Az indukált fluoreszcenciát mutató daganatos sejtek felismerése sokkal egyszerűbb, mint a malignus sejtek detektálása hagyományos citológiai vizsgálat során. Sem vörösvértestek, sem fehérvérsejtek nem mutattak indukált fluoreszcenciát. A tumorgrádus, a mélységi terjedés és a korábbi intravezikális terápia nem befolyásolta a vizsgálati eredményeket. A hagyományos citológiai vizsgálatok esetében saját anyagunkban is megfigyelhető volt ezzel szemben a tumorgradustól függő szenzitivitás változása.

A fluoreszcens citológiai vizsgálatot a betegek jól tolerálták, mellékhatást nem észleltünk. A betanulási idő minimális, a hagyományos citológiához képest összehasonlíthatatlanul rövidebb, és bár szubjektív vizsgálatról van szó, a szubjektivitás

sokkal kisebb mértékben játszik szerepet új módszerünknel, mint a hagyományos citológia esetében.

A fotoelhalványulás a látható fluoreszcencia csökkenését jelenti megvilágítás során. A hatás fehér fény esetében is tapasztalható, de kék fénnel történő megvilágítás során sokkal kifejezettebb. Ez a fenomén jól ismert és dokumentált az irodalomban fluoreszcens endoszkópia kapcsán. Aminolevulinsav és hexil észterének alkalmazása során a fluoreszcens citológia során is erős fotoelhalványulást észleltünk, a malignus sejtek piros fluoreszcenciája másodpercek alatt detektálási szint alá csökkent. Ez a vizsgálatok dokumentálásában okozott problémát, magát a diagnosztikát nem befolyásolta. Hypericin instillálása után fotoelhalványulást nem észleltünk.

A fluoreszcens cisztoszkópia szenzitivitásáról és specificitásáról publikált adatokhoz közelítő adatokat kaptunk fluoreszcens citológiai vizsgálataink során.

A fluoreszcens citológiai vizsgálatot mind az angol, mind a német nyelvű szakirodalomban leközlöttük. A közelmúltban munkacsoportunktól független fluoreszcens citológiai vizsgálatok eredményéről számoltak be hasonló eredményekkel.

A fotoelhalványulás hiánya miatt hypericin instillációját javasoljuk fluoreszcens citológiai vizsgálatoknál.

Következtetés

A fluoreszcens citológia kevésbé invazív mint a cisztoszkópia és szenzitívebb, mint más, a hólyagtumorok diagnosztikájában alkalmazott eljárás. Az indukált fluoreszcencia detektálása könnyű, a tanulási időszak rövid. További multicentrikus, randomizált vizsgálatok után a mindennapi urológiában bevezethető, a cisztoszkópiák számát csökkentő eljárássá válhat új módszerünk.

AZ ÉRTEKEZÉS ÖSSZEGZÉSE

Hólyagdaganatok in-vivo fotodinámiás diagnosztikája

A hólyagdaganat a férfiak második leggyakoribb, és a nők leggyakoribb urológiai daganatos betegsége, így igen nagyszámú beteget érint. A pontos diagnosztika alapvetően befolyásolja a terápiás terv felállítását és a beteg életkilátásait. Érthető törekvés, a minél pontosabb diagnosztikai módszerek kialakítása, és ezek mindennapi rutin ellátásba történő bevezetése.

A hólyagdaganatok diagnosztikájában és nyomon követésében a cisztoszkópiának van a legnagyobb szerepe, bár hiányosságai ismertek. A hólyag lapos, neoplasztikus elváltozásainak detektálása és az ezzel összefüggő, helyes terápiás terv felállítása a recidíva és progresszió arányt csökkenti. Fluoreszcens cisztoszkópia során ezek az elváltozások jól diagnosztizálhatóak. Fluoreszcens cisztoszkóppal vezérelt biopszia, illetve transurethrális reszekció során a szövettani diagnózis biztosítása lehetséges, ezen kívül kiemelő a reszekciós szélek épségének megítélése.

A hólyagdaganatok fotodinámiás diagnosztikájában az 5-ALA indukálta fluoreszcens cisztoszkópia több éves múltra tekint vissza, számos közlemény alapján bizonyított a szerepe a tumorok diagnosztizálásában. A vizsgálat szenzitivitása 90-95 %, specificitása 65-80 % körüli a nagy beteganyaggal rendelkező centrumok által publikált adatok szerint.

Hypericin indukálta fluoreszcens cisztoszkópia alkalmazásáról kevés adat áll rendelkezésünkre, ezek alapján a kiváló szenzitivitás mellett kiváló specificitást sikerült elérni.

Vizsgálataink során három, különböző fluorokróm által indukált fluoreszcens cisztoszkópia adatait vizsgáltuk. Az irodalomban publikált szenzitivitási és specificitási adatokkal összevethető, azoknak megfelelő értékeket igazoltunk 5-ALA indukálta vizsgálatok során.

A három különböző fotoszenzitivizáló anyaggal végzett vizsgálataink kapcsán szenzitivitásbeli lényeges különbséget nem észleltünk. Specificitási adataink közül a hexil-ALA indukálta fluoreszcens cisztoszkópia specificitása szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az 5-ALA és a hypericin indukálta fluoreszcens cisztoszkópia specificitása, bár az alacsony esetszám miatt ennek értékelhetősége kérdéses.

Megfigyelhető volt anyagunkban, hogy a vizsgálat specificitását a korábbi intravezikulárisan alkalmazott terápia jelentősen rontotta.

Hypericin indukálta fluoreszcens cisztoszkópiáról tudomásunk szerint mindezidáig egy tanulmány került publikálásra. Beteganyagunkon nem sikerült D'Hallewin által közölt kiváló specificitási értéket reprodukálni, szignifikáns különbség a hypericin és az 5-aminolevulinsav indukálta fluoreszcens cisztoszkópia specificitása között nem volt. Korábbi intravezikuláris kezelés a hypericin indukálta fluoreszcencia specificitását is rontotta.

Fotoszenzitivizáló anyagtól függetlenül kiváló szenzitivitásának bizonyult a fluoreszcens cisztoszkópia. Vizsgálati anyagunkban a fluoreszcens cisztoszkópia szenzitivitása 98 %, specificitása 82 % volt.

Kiemelendő vizsgálati eredményeinkből, hogy a hagyományos cisztoszkópia vezérelte predilekciós helyekről, valamint a csak hagyományos cisztoszkópiával gyanúsak ítélt területekről vett biopsziák diagnosztikai értékkel nem bírtak. Ezen eredmények és a fluoreszcens cisztoszkópia kiváló szenzitivitása alapján kimondható, hogy a korábban több szerző által javasolt, vakon végzett, random biopszia helyett fluoreszcens cisztoszkópia vezérelte célzott mintavétel szükséges a lapos, hagyományos cisztoszkóppal nem detektálható daganatok diagnosztizálására. A fluoreszcens cisztoszkópia biztonságos, igen magas szenzitivitású módszer. Segítségével a nehezen felismerhető, nem exofitikus daganatok is diagnosztizálhatók, így szükség esetén a korábbi kezelési stratégia megváltoztatható. Nyilvánvaló exofitikus folyamatok mellett elhelyezkedő kisebb folyamatok, malignus, lapos folyamatok diagnosztizálásával és kezelésével, a reszekciós szél pozitivitásának megítélésével a recidíva és progresszió arány javítható.

Hólyagdaganatok in-vitro fotodinámiás diagnosztikája

A cisztoszkópia kiváltását célzó próbálkozásokról a szakirodalomban számos tanulmány látott napvilágot, ahol új, kevésbé invazív diagnosztikai módszereket próbáltak megalkotni. A rendelkezésre álló irodalmi adatok alapján a különböző eljárások szenzitivitása és specificitása nagyon változó, és egyik sem képes a cisztoszkópiát kiváltani.

Célunk olyan új diagnosztikus eljárás megalkotása volt, mellyel a cisztoszkopiák száma csökkenthető a hólyagdaganatok detektálása és nyomon követése során.

A vizeletcitológia és a fotodinámiás diagnosztika alapelveinek ötvözésével kialakítottunk egy új diagnosztikus eljárást a fluoreszcens citológiát.

Fluorokrómok instillálása után nyert vizeletmintákat fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk. A normál autofluoreszcencia mellett, a daganatos sejtek indukált fluoreszcenciáját

detektáltuk. A betegeket ezt követően transurethrális reszekción estek át. A fluorszcens citológiai vizsgálat eredményét a szövettani és a hagyományos citológiai vizsgálat eredményeivel hasonlítottuk össze.

Három különböző fluorokrómmal végeztük a vizsgálatainkat. A fotoszenzitivizáló anyagtól függetlenül igen magasnak bizonyult az új eljárás szenzitivitása. A hagyományos citológiai vizsgálat szenzitivitása vizsgálati anyagunkban 76 %, míg a fluoreszcens citológia szenzitivitása 98,5 % volt.

5-ALA és hexil észterének instillálása után végzett vizsgálatnál a fotoelhalványulás jelensége volt észlelhető, ami a diagnosztikát nem, csak a vizsgálat dokumentálását nehezítette. Hypericin alkalmazásakor a fotoelhalványulást nem tapasztaltunk, ezért a vizsgálathoz ezt a fluorokrómot javasoljuk.

A fluoreszcens citológiai vizsgálatot a betegek jól tolerálták, mellékhatást nem észleltünk. A betanulási idő minimális, a hagyományos citológiához képest összehasonlíthatatlanul rövidebb, és bár szubjektív vizsgálatról van szó a szubjektívitás sokkal kisebb mértékben játszik szerepet új módszerünknel, mint a hagyományos citológia esetében. Az indukált fluorezcenciát mutató daganatos sejtek felismerése sokkal egyszerűbb, mint a malignus sejtek detektálása hagyományos citológiai vizsgálat során.

Az általunk kifejlesztett, új eljárást az angol és német nyelvű szakirodalomban is leközöltük. A közelmúltban munkacsoportunktól független szerzők hasonló eredményekről számoltak be a fluorezcens citológiával kapcsolatban.

A fluorezcens citológia rendkívül szenzitív, a cisztoszkópiánál kevésbé invazív vizsgálat, ami további multientrikus, randomizált vizsgálatok után, a mindennapi urológiai gyakorlatba bevezethető, cisztoszkópiák számát csökkenthető eljárássá válhat.

**IN-VIVO AND IN-VITRO PHOTODYNAMIC DIAGNOSIS OF
BLADDER TUMORS**

PhD Thesis by Ákos Pytel M.D.

Program leader: Árpád Bellyei MD., PhD.,Med.Habil.

**University of Pécs, Medical School
Department of Urology**

2005

AIM OF THE STUDY

Review the literature regarding fluorescence cystoscopy, and comparison of the different fluorophores.

Examination of different photosensitivation during fluorescence cystoscopy, and comparison of the data regarding sensitivity and specificity.

Establish a new diagnostic method in the diagnosis and in the follow up of bladder tumours, which could reduce the number of cystoscopies.

Examination of different fluorochromes during fluorescence cytology, and comparison of the results regarding sensitivity.

IN-VIVO PHOTODYNAMIC DIAGNOSIS OF BLADDER CANCER

Review

5-ALA induced fluorescence cystoscopy

Kriegmair et al. were the first to describe intravesical ALA in humans. Since that 5-ALA induced fluorescence cystoscopy is widely used in urology. A total of 68 patients with bladder cancer were instilled with a 3% ALA solution for one to three hours, followed by blue light examination of the bladder. The fluorescence was observed through standard cystoscope and lenses. A sensitivity and specificity of 100% and 68.5%, respectively were obtained. In a larger series (106 patients), these results were further confirmed.

All reports on ALA-induced PpIX guided fluorescence detection confirm the high sensitivity to detect bladder cancer, including carcinoma in situ. The sensitivity and specificity however varie greatly from study to study; ranging from 83-100% (sensitivity) and from 42-84% (specificity). This is partly due to inexperience in blue light endoscopy.

Hungarian experiences were reported by Székely et al, and Sapanidis et al.

H-ALA induced fluorescence cystoscopy

Because the lipid bilayer of biological membranes is relatively impermeable to charged molecules, the cellular uptake of ALA is shallow. Systematic studies have shown that the modification of a drug to an ester improves penetration through biological barriers in vitro and in vivo. ALA esters have been shown to increase the intracellular build-up of PpIX, at drastically reduced concentrations and incubation times as compared to ALA in vitro Hexyl-ALA has been shown to be a good compromise between the water–urine solubility and lipophilicity.

Regarding the demonstrated data of Jichlinski et al. and the Hexvix PCB 301/01 Study Group, the sensitivity and specificity of H-ALA induced fluorescence cystoscopy is comparable of those with first generation protoporphyrin IX precursors.

Hypericin induced fluorescence cystoscopy

Hypericin is a hydroxylated phenanthroperylenequinone, present in a number of plants of the genus *Hypericum*, widely distributed around the world, the most common of which is St John's wort. Hypericin is a pigment that produces singlet oxygen efficiently upon light irradiation with a quantum yield of 0.73. Being a potent photosensitizer hypericin is ideal for fluorescence cystoscopy.

D'Hallewin et al. investigated the possible use of hypericin as diagnostic tool for the fluorescence detection of bladder cancer. In a first series, 40 patients were instilled for at least 2 hours with 40 ml of an 8 μ M hypericin solution. The diagnostic system and technique used for fluorescence detection was identical to the previously mentioned (D-Light System, Storz Company). All papillary areas showed bright red fluorescence. The sensitivity for detecting CIS was 93%. Seven out of ten non-fluorescent biopsies, containing carcinoma in situ, showed severe desquamation. The specificity was very high: 98.5%. In a larger series of 87 patients, the sensitivity and specificity for detecting flat carcinoma in situ were 94% and 93%, respectively.

Own experiences

Material and method

A total of 89 patients were investigated. The study was accomplished between June 2000 and December 2003 at the Department of Urology, University of Pécs and at the Department of Urology and Andrology St. Johannspital LKH Salzburg. The mean age of the patients was 65,2 year (range 41 to 84). 51 patients had a history of bladder tumors and 28 of them had previous intravesical therapy (BCG or mytomycin). The urine sediment analysis was negative in 29 cases, 45 patients had microscopic, 15 patients macroscopic hematuria.

With a 10 French catheter we instilled a solution of 1.5 g ALA in 50 ml 1.4% sodiumbicarbonat intravesically in 59 cases. In 18 cases 40 ml of a 8 micromolar solution of hypericin (0.16 mg hypericin, 4 micromolar polyvinylpyrrolidone 10 (PVP 10), 4 micromolar polyvinylpyrrolidone 40 (PVP 40) in 40 ml 0.9% NaCl solution) and in 12 cases 1g hexylaminolevulinic acid (Hexvix®) in 50 ml 1.4 % sodiumbicarbonat was instilled. The time of intravesical retention was between 60 minutes and 120 minutes.

We performed white-light, and fluorescence cystoscopy. All suspicious alterations were resected transurethrally. Altogether 342 biopsies were performed. We have used for fluorescence cystoscopy D-light® light source, 30, 70 degree endoscope and Urocam® PDD camera (Karl Storz Ltd.).

5-ALA induced fluorescence cystoscopy

205 biopsies in 59 patients were carried out. 112 samples were malignant, in 93 cases there were no evidence of malignancy. From the 112 positive samples 109 had induced fluorescence during fluorescence cystoscopy. Three Ta GI uroepithelial carcinomas were missed by PDD. From the 93 non malignant samples 14 had induced fluorescence. All of the fals positive cases received prior the intervention intravesical instillation therapy.

White-light cystoscopy missed 17 malignant diseases, and 79 white-light cystoscope guided biopsies were unnecessary.

In our series the sensitivity and specificity of 5-ALA induced fluorescence cystoscopy were 98% and 82% respectively.

H-ALA induced fluorescence cystoscopy

We have performed 61 biopsies in 12 patients. 39 samples were malignant, in 22 cases there were no evidence of malignancy. From the 39 positive samples 38 had induced fluorescence during fluorescence cystoscopy. One high grade dysplastic lesion was missed by PDD. From the 22 non malignant samples 6 had induced fluorescence. All of the fals positive cases received prior the intervention intravesical instillation therapy.

Conventional cystoscopy missed 8 malignant diseases, and 16 white-light cystoscope guided biopsies were unnecessary.

In our series the sensitivity and specificity of H-ALA induced fluorescence cystoscopy were 97% and 72% respectively.

Hypericin induced fluorescence cystoscopy

76 biopsies in 18 patients were performed. 33 samples were malignant, in 43 cases there were no evidence of malignancy. All positive samples had induced fluorescence during fluorescence cystoscopy. From the 43 negative samples 8 had induced fluorescence. All of the fals positive cases received prior the intervention intravesical instillation therapy.

White-light cystoscopy missed 8 malignant alterations.

The sensitivity and specificity of hypericin induced fluorescence cystoscopy were 97% and 72% respectively.

Summary of the datas

In our study 342 biopsies in 89 patients were carried out. 184 samples verified malignant urothelial lesions, in 158 cases there were no evidence of malignancy. Altogether 208 PDD guided biopsies were performed. Out of these areas were 145 suspicious under conventional cystoscopy as well. 133 white-light endoscopy guided biopsies were performed from non fluorescent areas. From the 184 positive samples 180 had induced fluorescence during fluorescence cystoscopy. Three Ta GI uroepithelial carcinomas and one high grade displastic lesion were missed by PDD. From the 158 non malignant samples 29 had induced fluorescence. All of the fals positive cases received prior the intervention intravesical instillation therapy.

Conventional cystoscopy missed 33 malignant diseases (6 dysplastic lesions, 19 CIS, 4 TaGI, 1 T1GI, 1 T1GII, 2 T1GIII) and 129 white-light cystoscope guided biopsies were unnecessary.

In our series the overall sensitivity and specificity of induced fluorescence cystoscopy were 98% and 82% respectively.

Conclusions

Intravesical instillation of fluorophores, with limited systemic absorption and with limited systemic side effects, is the method of choice when considering fluorescence diagnosis of bladder cancer. Three fluorophores can be proposed to this purpose: ALA, h-ALA and hypericin. All three have been shown to have an excellent sensitivity (>90%), with various specificities ranging from 70 over 80 to 90%, respectively. Advantages from h-ALA

and hypericin over ALA consist in the low concentration required, and reduced photobleaching. Fluorescence-guided endoscopy has been shown to increase the amount of detected tumors by 30%, and resulting in a reduction of tumor recurrence.

Fluorescence cystoscopy is a safe method of excellent sensitivity. Beside exophytic lesions, „subendoscopic” flat malignant areas can be detected. Since the high sensitivity of the method, unnecessary random biopsies can be avoided.

After intravesical instillation therapy we must calculate with false positive cases.

IN-VITRO PHOTODYNAMIC DIAGNOSIS OF BLADDER CANCER

Material and method

A total of 78 patients were investigated in this study before undergoing transurethral resection (TURB). Only patients with a suspicion of bladder tumor diagnosed in out-patient cystoscopy were included in this pilot study.

The mean age of the patients was 66,7 year (range 47 to 84). 42 patients had a history of bladder tumors and 23 of them had previous intravesical therapy (BCG or mytomycin). The urine sediment analysis was negative in 25 cases, 39 patients had microscopic, 14 patients macroscopic hematuria.

With a 10 French catheter we instilled a solution of 1.5 g ALA in 50 ml 1.4% sodiumbicarbonat intravesicaly in 48 cases. Several months after starting our experiments with ALA we had the chance to obtain H-ALA and hypericin solution. Then we started to examine this fluorescent compounds also. In 18 cases 40 ml of a 8 micromolar solution of hypericin (0.16 mg hypericin, 4 micromolar polyvinylpyrrolidone 10 (PVP 10), 4 micromolar polyvinylpyrrolidone 40 (PVP 40) in 40 ml 0.9% NaCl solution) and in 12 cases 1 g hexilaminolevulinic acid (Hexvix®) in 50 ml 1.4% sodium bicarbonat was instilled. The time of intravesical retention was between 60 minutes and 120 minutes. After incubation time of at least one hour, urine specimens were obtained for conventional and for fluorescence cytology. After that patients underwent TURB.

The induced fluorescence of urothelial cells were detected after centrifugation (1500 r/min for five minutes) and resuspension with a fluorescence microscope (Leica DM L). We used a band pass filter (BP 380-425 nm) for the excitation and a long-pass filter (LP 470 nm) for the emission. In case of detection of induced fluorescence of the urothelial cells the fluorescence cytology was defined as positive. In case of positivity we could detect red fluorescent cells beside the green appearing normal urothelial cells (Fig 1, 2). No pathologist was involved in the evaluation of the fluorescence cytological probes. The results were compared with the histological findings and conventional cytology.

Results

Of the 78 patients in 70 cases urothelial carcinoma, in 8 cases non-specific inflammation was diagnosed by pathologists. 32 patients had Ta, 17 patients T1, 8 patients had carcinoma in situ and 13 patients invasive bladder cancer (T2-T4). The grading of the probes was Grade I in 30 patients, Grade II in 15 and Grade III in 25 patients. Five patients diagnosed with non-specific inflammation were instilled with ALA, and three with hypericin.

In the 70 patients diagnosed with malignant disease we could detect red fluorescent cells in 69 cases, while conventional cytology was positive in 53 cases. The overall sensitivity of fluorescence cytology was 98%, of the conventional cytology 76%.

5-ALA induced fluorescence cytology

Of the 48 patients who had an instillation with ALA we could detect red fluorescent cells in 44 cases. There were two false positive finding. In the 43 histologically positive cases induced fluorescence could be detected in 42 cases, while conventional cytology was positive only in 33 cases. In this series the sensitivity of 5-ALA induced fluorescence cytology was 98%, while those of conventional cytology 77%.

Hypericin induced fluorescence cytology

After instillation of hypericin we could detect induced fluorescence in all histologically positive cases. From the three negative patients in one we had false positive fluorescence cytology. Conventional cytology was in three cancer patients negative. In this subgroup of our study the sensitivity of fluorescence cytology was 100%, while the sensitivity of conventional cytology 80%.

Hexil-ALA induced fluorescence cytology

Of the 12 patients who had an instillation with H-ALA we could detect red fluorescent cells in all cases, and all of these patients had positive hystology as well. Conventional cytology was positive in 8 cases.

The sensitivity of H-ALA induced fluorescence cytology was 100%, and the sensitivity of conventional cytology in this group 67%.

Comment

The statistical analysis of the results shows a high sensitivity of the new method although the number of cases is still small. Flat urothelial neoplasias are difficult to visualize with conventional cystoscopy or with the less invasive flexible cystoscopy. Our preliminary data suggest good diagnostic value of the fluorescence cytology even in case of flat lesions. The detection of fluorescent cells is much easier than the detection of atypical cells in conventional cytology. Neither erythrocytes nor leucocytes have shown induced fluorescence and neither the grading nor the staging of the tumors had any influence for the diagnostic

value of the method. Intravesical BCG or chemotherapy in the history does not seem to influence the sensitivity and specificity of the test. The procedure was well tolerated in all cases, no side effect had been observed. The learning curve for the method of fluorescence cytology is minimal. The reduction of fluorescence during exposure to light is called photobleaching. Photobleaching causes a reduction in visible fluorescence during fluorescence endoscopy. This effect is induced both with white and with violet light, but it is much stronger with violet light. Using ALA and H-ALA for fluorescence cytology we could observe a strong photobleaching effect in our study. The red fluorescence of urothelial carcinoma cells fell below the detection limit in few seconds. By the use of hypericin we could not detect the photobleaching of the red fluorescent cells, which made the procedure easier for detection and documentation. The data published in the literature on the sensitivity and specificity of PDD for detection of bladder tumors with ALA and its derivate is comparable with our statistical data. Papers published recently on the use of hypericin for PDD have shown higher specificity with an excellent sensitivity. The selective cellular uptake of hypericin by urothelial carcinoma cells is demonstrated in the literature, so we are convinced that the specificity of our method is superior by using hypericin. Because of the possible higher specificity and because of the lack of the photobleaching phenomenon we recommend the use of hypericin for fluorescence cytology.

Conclusions

Fluorescence cytology is less invasive than cystoscopy and our preliminary results suggest that it is more sensitive than other noninvasive tests for the diagnosis of bladder cancer. The detection of induced fluorescence of malignant urothelial cells is easy and the learning curve is minimal, making the fluorescence cytology appropriate for daily practice. After further investigation it may become a new diagnostic method which may reduce the number of cystoscopies in the follow-up of bladder tumors.

KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

- 1.) Pytel J., Péter J., **Pytel Á.**
King-Schobel féle műtét a POTE Fül-Orr-Gége Klinika anyagában
Fül-orr-gégegyógyászat, **2**: 1997, pp 65-69
- 2.) Hübler J., Korompai F., Mester L., Pusztai Cs., **Pytel Á.**
Jobb pitvarba nyúló tumor-thrombus eltávolításának szokatlan módja vesesejtes rákban
Magyar Urológia, **3**: 1997 pp 231-234
- 3.) **Pytel Á.**, Székely J., Farkas L.
Vizelet passage biztosítása subcutan D-J stent alkalmazásával
Magyar Urológia, **3**: 2000, pp 243-245
- 4.) **Pytel Á.**, Székely., Farkas L.,
Nephrovesical subcutaneous stent: an alternative to permanent nephrostomy
J Urol, **166**: 2001, p 658 **Imp.fakt.:3.19**
- 5.) **A. Pytel**, P. Meißner, K.G. Fink, N. Schmeller
Die Fluoreszenz-Zytologie in der Diagnostik von Blasen Tumoren
Journal für Urologie und Urogynaekologie **3**: 2001, pp 45-46
- 6.) K.G. Fink, G. Hutarew, B. Esterbauer, **A. Pytel**, K. Kaindl, N. Schmeller
Prostatakarzinomentdeckung mit zwei konsekutiven Biopsien zu je zehn Stanzen
Journal für Urologie und Urogynaekologie **3**: 2001, pp 42-43
- 7.) **Pytel Á.**, Székely J., Farkas L.
Extrinsic ureterobstrukciók kezelése nem anatómiai pozícióban rögzített D-J stent alkalmazásával
Endoscopia, **1**: 2002, pp 12-15

- 8.) **A. Pytel, N. Schmeller**
New aspect of photodynamic diagnosis of bladder tumors: The fluorescence cytology
Urology **59**: 2002, pp 216-219 **Imp.fakt.: 2.456**
- 9.) K. Fink, B. Esterbauer, G. Hutarew, **A. Pytel**, A. Jungwirth, N. Schmeller
Prostate biopsy outcome using 33 mm cutting length
European Urology **1**: 2002, pp 164 **Imp.fakt.: 1.798**
- 10.) Fink KG, Hutarew G, Esterbauer B, **Pytel A**, Jungwirth A, Dietze O, Schmeller NT
Evaluation of transition zone and lateral sextant biopsies for prostate cancer detection after initial sextant biopsy
Urology **61**: (4): 2003, pp 748-753 **Imp.fakt.: 2.782**
- 11.) Fink KG, Hutarew G, **Pytel A**, et al.
One 10-core prostate biopsy is superior to two sets of sextant prostate biopsies
BJU Int **23**:(4): 2003, pp 385-388 **Imp.fakt.: 1.642**
- 12.) Fink KG, Hutarew G, Esterbauer B, **Pytel A** et al.
Prostate biopsy outcome using 33 mm cutting length
J Urol **167** (4): 2002, pp 331-331 **Imp.fakt.: 3.03**
- 13.) Fink K.G., Hutarew G., **Pytel A.** et al.
Effizienz der Rebiopsie der Prostata: Untersuchung von Transitionalzonen Biopsien und lateralen Biopsien.
Journal für Urologie und Urogynaekologie **10**:(4): 2003, pp 7-11

Összesített impakt faktor: 14.898

Citációs index: 17

ELŐADÁSOK JEGYZÉKE

Pytel Á., Székely J., Götz F.

Megfelelő-e minden esetben az ureterstent a vizelet passage biztosítására?

Magyar Endourológus Társaság II. Kongresszusa, Miskolc, 1998

Pytel Á., Székely J., Götz F.

Vizelet passage biztosítása microinvasiv beavatkozással, nem urológiai daganatos betegségek okozta ureterobstrukciók esetében.

Magyar Nőorvosok, Sebészek és Urológusok I. közös konferenciája, Siófok, 1999

Pytel Á., Székely J., Farkas L.

Extrinsic ureterobstrukciók palliatív kezelési lehetőségei.

Fiatál Urológusok Fóruma, Budapest, 2000

Pytel Á., Székely J.

Vesegörcs és tompa vesetájéki fájdalom.

Urológia a háziiorvosi gyakorlatban. Postgraduális képzés, Pécs, 1996-2000

Pytel Á., Székely J., Farkas L.

Szubkután nephrovezikális sztent alkalmazása kismedencei malignomák okozta ureterobstrukciók palliatív megoldására.

Magyar Urológusok Társaságának XI: Kongresszusa, Pécs, 2000

Pytel Á., Schmeller N.

New aspect of photodynamic diagnosis of bladder tumours: The fluorescent cytology.

A European Association of Urology (EAU) XVI. Kongresszusa, Genf, Svájc, 2001

A. Pytel

Extraanatomische stents in der Behandlung von extrinsischen ureterobstruktionen

Journal Club, LKH Salzburg, 23. Jul. 2001

A. Pytel, P. Meissner, K.G. Fink, N. Schmeller

Die Fluoreszenzzytologie in der Diagnostik von Blasentumoren

19. Fortbildungstagung der Österreichischen Gesellschaft für Urologie (ÖGU), Linz, 2001

Pytel Á.

A fluoreszcens cisztoszkópia

A Magyar Endourológus Társaság továbbképző kurzusa, Budapest, 2001

Pytel Á., Székely J., Farkas L.

A Paterson-Forrester vizeletdeviáló stent, mint az állandó nephrostoma alternatívája.

Magyar Nőorvosok, Sebészek és Urológusok II. közös konferenciája, Balatonfüred, 2001.

A. Pytel, K.G. Fink, N. Schmeller

Comparison of prostate biopsy outcome by using either 19 mm or 33 mm cutting length

Central European Meeting of the European School of Urology (ESU), Budapest, Hungary, 2001

A. Pytel, P. Meissner, K.G. Fink, N. Schmeller

New aspect of photodynamic diagnosis: The fluorescence cytology

Central European Meeting of the European School of Urology (ESU), Budapest, 2001

A. Pytel, N. Schmeller

In vivo and vitro photodynamic diagnosis of bladder tumours

A European Association of Urology (EAU) XVII. Kongresszusa, Birmingham, Nagy-Britannia, 2002

Pytel Á., Székely J., Farkas L.

Kismedencei malignoma okozta ureterobstrukciók megoldása minimál invazív módszerekkel

Magyar Urológusok Társaságának XII: Kongresszusa, Szeged, 2003

A. Pytel, A. Jávornágy, L. Farkas

Nephrovesical subcutaneous stent: an alternative to permanent nephrostomy

A Central European Association of Urology II. Kongresszusa, Debrecen, 2004

A. Pytel, K. Szücs, L. Farkas

New aspect of photodynamic diagnosis of bladder cancer

A Central European Association of Urology II. Kongresszusa, Debrecen, 2004

Pytel Á.

A húgyhólyag daganatok fotodinámiás diagnosztikája és terápiája

A Magyar Endourológus Társaság továbbképző kurzusa, Budapest, 2005

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Örök hálával tartozom **dr. Nikolaus Theodor Schmeller** professzor úrnak, akinek segítségével, atyai támogatása nélkül PhD munkám nem készülhetett volna el.

Köszönöm **dr. Farkas László** professzor úrnak, hogy lehetővé tette és messzemenőkig támogatta tudományos munkámat és köszönöm **dr. Götz Frigyes** professzor úrnak emberi jóságát, és azt, hogy urológiai pályámon elindított. Köszönöm **dr. Bellyei Árpád** professzor úr témavezetőként nyújtott segítségét.

Külön köszönet illeti **dr. Klaus Fink** főorvos urat, aki salzburgi munkám idején szakmai és emberi segítségével megkönnyítette munkámat, **dr. Buzogány István** adjunktus urat, akinek támogatása, biztatása nélkül nem vágtam volna bele a külföldi munkavállalásba, valamint **dr. Somogyi László** docens urat szakmai tanácsaiért. Köszönöm **dr. Szántó Árpád** és **dr. Fábos Zoltán** adjunktus uraknak, hogy ausztriai tartózkodásom során nehéz pillanataimban is mindig mellettem álltak és tartották bennem a lelket és az „otthonhoz” a kapcsolatot szolgáltatták. Köszönöm **dr. Sülecz Istvánnak** a tördelési és szerkesztési munkában nyújtott segítségét.

Ezen kívül szeretnék köszönetet mondani a **Pécsi Urológiai Klinika**, valamint a **Salzburgi Kórház Urológiai és Andrológiai Osztály minden dolgozójának** segítségükért.

Hála és köszönet szüleimnek, **dr. Pytel Józsefnek** és **dr. Horváth Katalinnak** mindenért. Köszönöm feleségemnek **dr. Németh Dórának**, hogy számomra a nyugodt családi háttérrel biztosította, hogy támogatott, biztatott.