

Fluorescensvejledt fjernelse af cerebrale glioblastomer

Rasmus Würgler Hansen, Frantz Rom Poulsen, Mette Schulz & Christian Bonde Pedersen

STATUSARTIKEL

Neurokirurgisk Afdeling,
Odense
Universitetshospital

Ugeskr Læger
2019;181:V04180265

Intracerebrale tumorer bliver traditionelt opereret under almindeligt hvidt lys ved brug af operationsmikroskop. Gennem de seneste 10-20 år er neuronavigationssystemer blevet en uundværlig del af planlægningen og gennemførelsen af operationerne. Navigationssystemerne har forbedret kvaliteten af indgrebet og har medvirket til, at kraniotomierne bliver mindre. Det er dog til stadighed en udfordring at skelne patologisk væv fra intakt hjernevæv under operationen. Dette gælder især for de mere diffust infiltrerende tumorer, hvoraf glioblastomer er den hyppigste type [1] (Tabel 1). For at forbedre identifikationen af tumorvæv har man gennem de seneste år anvendt 5-aminolevolinsyre (5-ALA) som tidligere beskrevet i Ugeskrift for Læger [2], med forbedret resektion og overlevelse til følge [3].

5-AMINOLEVOLINSYRE OG FLUORESCIN

5-ALA er et naturligt forstadium til hæmoglobin. Det medfører en øget syntese af det fluorescerende protoporphyrin IX i maligne gliomer. Protoporphyrin IX afgiver en diskret rød farve under blåt lys. Dette udnyttes ved den operative resektion. Imidlertid kan det være vanskeligt skarpt at afgrænse patologisk væv fra raskt væv, idet fluorescensen aftager gradvis i kanten af tumoren som udtryk for cancercellernes diffuse indvækst i rask hjernevæv.

Det er tidligere påvist, at resektionsgraden øges mere ved 5-ALA end ved almindeligt hvidt lys [3, 4], ligesom vigtigheden af maksimal tumorresektion ifht. progressionsfri overlevelse også er undersøgt for fluor-

escens [3]. Dette er dog ikke blot en direkte følge af den kirurgiske intervention, men også betinget af en forbedret effekt af den efterfølgende radiokemoterapi [5], hvilket siden 2005 har været standardbehandling [6]. Ved maligne gliomer (WHO-grad 3-4) er der til trods for en ekstensiv behandlingsmodalitet stadig en dårlig prognose [7, 8], og behandlingen er livsforlængende og ikke kurativ [9].

Fluorescein, et andet fluorescerende stof, er en uspecifik markør for brudt blod-hjerne-barriere. Fluorescein lyser gult under operationen ved anvendelse af et specifikt 560 nm-filter i operationsmikroskopet. Stoffet er kendt og hyppigt brugt i oftalmologien, men til trods for at brugen af fluorescein i neurokirurgien allerede blev beskrevet i 1947, har det været længe om at vinde indpas [4].

Hvor fordelene ved 5-ALA er, at cancercellerne i sig selv specifikt bliver fluorescerende, giver fluorescein derimod en mere distinkt grænse mellem opladende og ikkeopladede væv til trods for en mere uspecifik passage over en tumorinduceret brudt blod-hjerne-barriere, nogenlunde svarende til gadoliniumkontrasten på en MR-skanning af hjernen. Fluorescein i tumorvævet er dog ikke altid samstemmende med gadoliniumkontrast på MR-skanning, da et enkelt studie har vist, at også enkelte ikkegadoliniumopladede tumorer alligevel fluorescerer med fluorescein peroperativt på en MR-skanning [10]. Ligeledes kan der opstå en iatrogen peroperativ fluoresceinoplading som følge af resektionen. Denne opladning er ofte svag og erkendes ved at være helt overfladisk og kun fremstå i resektionsrande nogen tid efter tumorfjernelsen. Grænsen mellem opladende og ikkeopladede væv i glioblastomer ved brug af fluorescein repræsenterer formodentligt tumorgrænsen med detekterbare tumorceller [11] (Figur 1).

Fluorescein har vundet indpas flere steder som supplement til 5-ALA. Det kan indgives intravenøst umiddelbart før operationen, hvorimod 5-ALA skal administreres nogle timer inden (peroralt). Prisen for fluorescein er desuden kun omkring en tyvendedel af prisen for 5-ALA. Med fluorescein visualiserer man patologiske fund, som giver kontrastoplading, herunder også metastaser, og anvendelsen er derfor ikke begrænset til primære gliøse tumorer [12]. Omvendt viser 5-ALA nok bedre den diffuse udbredelse af maligne

HOVEDBUDSKABER

- ▶ Både fluorescein og 5-aminolevolinsyre (5-ALA) bruges til visualisering af malignt gliom ved resektion. Fluorescein kan også anvendes ved andre kontrastopladede tumorer i hjernen, f.eks. cerebrale metastaser.
- ▶ Fluorescein giver en skarpere markering mellem opladende og ikkeopladede væv end 5-ALA og er væsent-
- ligt billigere. Litteraturen tyder på, at det er sikkert at bruge, men evidensmængden er meget sparsom sammenlignet med 5-ALA.
- ▶ I fremtidige studier må behandlingspotentialet mellem 5-ALA og fluorescein afklares, hvilket vil give et bedre grundlag for at vælge i kliniske situationer.

gliomer, som ikke er så skarpt afgrænsede, som man ser det på en MR-skanning med gadoliniumkontrast. 5-ALA er godkendt til neurokirurgi, mens brugen af fluorescein er *off-label*. Bl.a. den nævnte prisforskel gør det tvivlsomt, hvorvidt der er et økonomisk incitament fra en af producenterne til at gennemføre en regelret lægemiddelgodkendelse til neurokirurgisk brug af fluorescein. Ligeledes har der heller ikke været økonomisk støtte til at gennemføre storstilede randomiserede fluoresceinstudier, men et multicenterstudie er under planlægning. I Danmark er tilgangen til brug af *off-label*-lægemidler forholdsvis liberal, dog med krav om en skærpet indberetningspligt om bivirkninger mv.

Der er altså væsentligt tungere evidens bag brugen af 5-ALA til glioblastomer, som der foreligger klasse Ib-evidens for [3], mens der alene er klasse III-evidens for anvendelsen af fluorescein [4]. Der ses stor international variation i, hvorvidt der benyttes 5-ALA eller fluorescein. Formålet med denne artikel er at belyse de væsentlige konklusioner i litteraturen om brugen af 5-ALA og fluorescein.

HVAD SIGER LITTERATUREN?

5-aminolevulinsyre

Stummer *et al's* [3] klinisk randomiserede multicenterstudium fra 2006 udgør den væsentligste forskning på området. I dette studie randomiserede man 322 patienter (18-72 år) med formodet glioblastom til enten præoperativ (tre timer før) 20 mg pr. kg kropsvægt 5-ALA og operation med anvendelse af operationsmikroskop med blåt fluorescenslys eller konventionel operation med anvendelse af operationsmikroskop med almindeligt hvidt lys. Forskningsprotokollens inklusionsparametre var nydiagnosticeret (påvist på MR-skanning) og ubehandlet glioblastom, hvor det var kirurgisk vurderet, at makroradikal resektion var opnåelig. Eksklusionsparametrene var bl.a. tumorindvækst henover midtlinjen, i basalganglier eller cerebellum, mere end ét kontrastopladende fokus og en Karnofkys performansstatus ≤ 60 . Alle patienter blev behandlet med dexamethason i mindst to dage før operationen og fik postoperativt 60 Gy-bestråling mod operationsfeltet samt 20 Gy-bestråling af det peritumorale område. Primære endepunkter var andelen af patienter, hos hvem der sås histologisk bekræftet glioblastom uden resttumor på den postoperative MR-skanning, samt progressionsfri overlevelse efter seks måneder. Sekundære endepunkter var bl.a. samlet overlevelse (Figur 2).

Studiet viste, at andelen af patienter uden målbar tumorrest på den tidlige postoperative kontrol MR-skanning var 29 procentpoint større i 5-ALA gruppen ($p = 0,0001$), og den progressionsfri overlevelse efter seks måneder var 41,0% i 5-ALA gruppen mod 21,1% i gruppen, som var blevet opereret under anvendelse af konventionelt hvidt lys ($p = 0,0003$).

TABEL 1

Hyppigheder af de mest almindelige typer hjernetumorer. Specifikke tumorer er sorteret efter hyppighed.

Kilde: Kræftens Bekæmpelse

	Hypighed, %
Glioblastom	20-25
Astrocytom	20
Meningeom	15-20
Hypofyseadenom	6-8
Neurinoma ^a	6-8
Ependymom	3-5
Medulloblastom ^b	2-5
Oligodendrogliom	2-5
Andre typer	8-10

a) Identisk med schwannom.

b) Hyppigst hos børn.

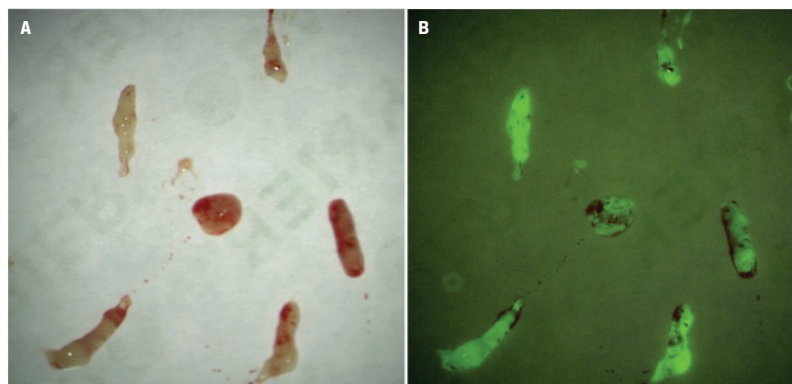
Fluorescein

På trods af at fluorescein blev introduceret i neurokirurgien for årtier tilbage, har anvendelsen været begrænset. Det skyldes overvejende de tekniske og optiske begrænsninger. Udvikling af forbedret mikroskop-teknik og dedikerede filtre har været en forudsætning for fluoresceins renæssance, således at det nu kan anvendes til kontrastopladende intrakraniale tumorer.

Et randomiseret klinisk studium af ovenstående karakter [3] eksisterer ikke for fluorescein. I 2008 blev der publiceret et randomiseret studie af Koc *et al* [13] med 70 patienter, der undergik enten fluoresceinvejet resektion (20 mg pr. kg kropsvægt) eller resektion

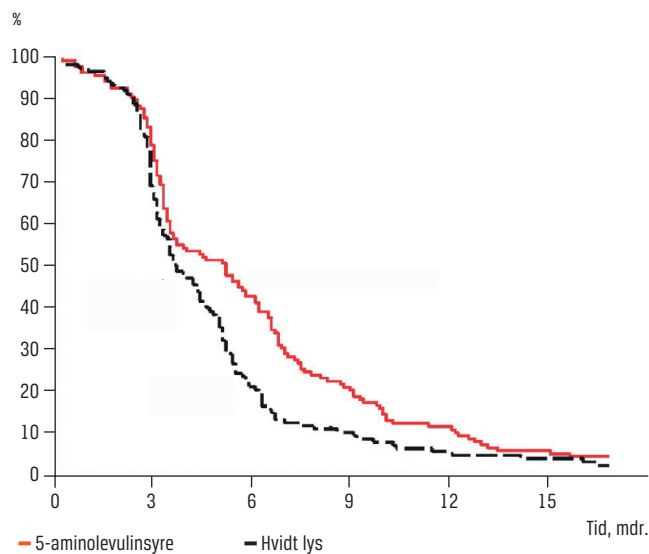
FIGUR 1

Operationspræparater fra en patient, der har fået fluorescein forud for operationen. A. Tumorpræparater under hvidt lys. B. Det ses, hvorledes et område, der umiddelbart ser mindst patogen ud, udtrykker høj fluorescens. Dette er udtryk for tilstedeværelse af kontrastopladende tumorevæv.




FIGUR 2

Kaplan-Meier-plot over progressionsfri overlevelse fra [3]. Log-rank test, $p = 0,078$.


I risiko, n

5-aminolevulinisyre	139	104	59	28	16	8
Hvidt lys	131	85	28	13	7	5

under almindeligt hvidt lys i perioden 2003-2006, hvor hvidt lys var normen. Dog kunne patienterne frit fravælge fluorescein. Hvis de gjorde det, indgik de i studiet i undergruppen »opereret under almindeligt lys«. Eksklusionskriterierne var stort set identiske med *Stummer et al's*. Man fandt en statistisk signifikant forskel i resektionsgraden, idet 83% blev makroradikalt resekeret i fluoresceingruppen mod 55% i gruppen, som blev opereret under almindeligt hvidt lys ($p = 0,012$), men i dette lille studie med få patienter fandtes ingen signifikant forskel i den samlede overlevelse.

I et mindre, prospektivt, ikke-randomiseret studie fra 2012 [14] inkluderedes 22 patienter med gliobla-

stom. Ti undergik fluoresceinvejledt resektion, mens 12 blev opereret under almindeligt hvidt lys. Eksklusionskriterierne svarede til dem i de to ovenstående studier [3, 13]. Det primære endepunkt var andelen af patienter, som fik foretaget makroradikal resektion. Som det var tilfældet i [13], fandt man også her en statistisk signifikant øget andel med makroradikal resektion, i alt 80% i fluoresceingruppen mod 33,3% i gruppen, som blev opereret under almindeligt hvidt lys. Man undersøgte ikke progressionsfri overlevelse.

Acerbi et al [15] fremlagde i oktober 2017 resultaterne af en prospektiv undersøgelse med 46 patienter, som havde glioblastom og fik foretaget fluoresceinvejledt resektion. De første syv resektioner blev foretaget med et BLU 400-filter, designet til 5-ALA og 10 mg fluorescein pr. kg kropsvægt, før det fluoresceindedikerede YELLOW 560 blev taget i brug. Herefter nedjusterede man fluorescein til 5 mg/kg. Eksklusionskriterierne var altovervejende de samme som i ovenstående studier [3, 13, 14]. Det primære endepunkt var andelen af patienter uden kontrastopladende tumor på den postoperative MR-skanning. Dette var tilfældet hos 82,6%. De patienter, hos hvem kirurgen vurderede peroperativt, at det ikke var muligt at fjerne alt fluorescerende væv, blev ikke inddraget i det primære endepunkt. Dette gjaldt for to patienter. Der var ingen kontrolgruppe. Et af de sekundære endepunkter omhandlede fluoresceinforårsagede reaktioner, bl.a. anafylaksi, hvilket ikke blev observeret.

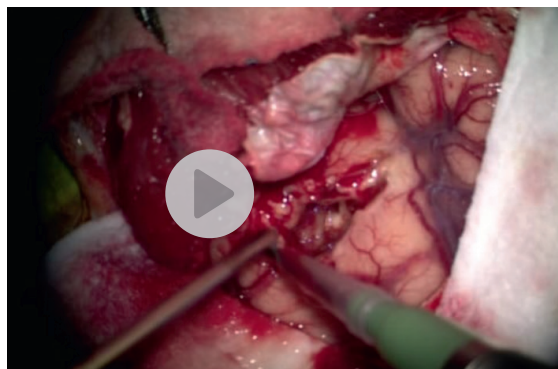
DISKUSSION OG KOMBINATIONSTUDIER

Evidensen for brug af 5-ALA er større end for brug af fluorescein. De prospektive studier, der eksisterer med fluorescein, er fåtallige, inkluderer for få patienter og er typisk ikke randomiserede. I 2014 publicerede *Schwake et al* et pilotstudie [16] med tre cases, hvor de, som respons på fluoresceins større og større indpas i neurokirurgien, indgav fluorescein og 5-ALA samtidigt. Der blev angivet adskillige problemer med fluorescein såsom kontaminering til cerebrospinalvæsken og dura mater, spredning langs subaraknoidalrummet og i to af tilfældene mangelfuld kontrastoplading i tumoren. Man kunne dog i et af tilfældene heller ikke visualisere tumor efter indgift af 5-ALA. Tilsvarende problemer med fluorescein har ikke været angivet andetsteds, og årsagen til ovenstående fund er formodentlig optiske problemer med et suboptimalt fluorescensfilter.

Til trods for at flere kirurger oplever fluorescein som fordelagtigt, må det helt centrale mål være objektiv resektionsgrad. På dette punkt mangler der endnu studier, der med tilstrækkelig stor sikkerhed kan fastslå den som værende lige så god som ved anvendelse af 5-ALA. Rent etisk kan det i dag blive vanskeligt at randomisere et stort antal patienter til enten fluorescein eller hvidt lys. Dog har man på neurokirurgiske afdelin-


VIDEO
Tumoroperation

Skan koden for at se videoklip.



ger i Danmark periodevist brugt enten 5-ALA eller fluorescein. Der er nu introduceret mikroskoper med høj-kvalitetsfiltre til både fluorescein og 5-ALA, således at man i fremtiden vil kunne anvende begge stoffer under samme operation.

5-ALA er særligt egnet til maligne gliomer, hvor supramarginal resektion er mulig, dvs. i nonelokvente områder, hvorimod supramarginal resektion ikke er mulig ved tumorer, som ligger op ad elokvente områder.

SUMMARY

Rasmus Würgler Hansen, Frantz Rom Poulsen, Mette Schulz & Christian Bonde Pedersen:

Fluorescence-guided resection of cerebrale tumours
Ugeskr Læger 2019;181:Vo4180265

Traditionally, cerebral tumours were operated through a microscope under white light. In recent years, MRI used for peroperative navigation and techniques of colour-visualising the malignant tissue have made resection more precise, radical and safe. However, 5-aminolevulinic acid has been shown to increase neurological deficit due to supramarginal resection. Two widely used substances for tumour-visualisation are 5-aminolevulinic and sodium fluorescein. Both have shown an increased rate of resection compared with white light, but the evidence towards 5-aminolevulinic acid is strongest.

KORRESPONDANCE: Christian Bonde Pedersen.

E-mail: christian.bonde@rsyd.dk

ANTAGET: 10. oktober 2018

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 7. januar 2019

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

1. Diagnose ved hjernetumorer: <https://www.cancer.dk/hjernetumorer-hjernesvulst/diagnose-hjernesvulster/> (26. jan 2018).
2. Cortnum S, Laursen R. 5-aminolevulinsyre-fluorescens-vejledt resektion af maligne gliomer er en ny behandlingsmodalitet. *Ugeskr Læger* 2013;175:570-3.
3. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T et al. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol* 2006;7:392-401.
4. Kaneko S, Eljamel MS. Fluorescence image-guided neurosurgery. *Future Oncol* 2017;13:2341-8.
5. van den Bent MJ, Stupp R, Mason W. Impact of the extent of resection on overall survival in newly diagnosed glioblastoma after chemo-irradiation with temozolomide: further analyses of EORTC study 26981. *Eur J Cancer Suppl* 2005;3:134.
6. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New Engl J Med* 2005;352:987-96.
7. Shinoda J, Sakai N, Murase S et al. Selection of eligible patients with supratentorial glioblastoma multiforme for gross total resection. *J Neurooncol* 2001;52:161-71.
8. Årsrapport 2016. Dansk Neuro Onkologisk Register, 2017.
9. Kirurgisk behandling af intrakranielle gliomer hos voksne. Dansk Neurokirurgisk Selskab, 2007.
10. Schebesch KM, Brawanski A, Doenitz C et al. Fluorescence-guidance in non-gadolinium enhancing, but FET-PET positive gliomas. *Clin Neurol Neurosurg* 2018;172:177-82.
11. Diaz RJ, Dios RR, Hattab EM et al. Study of the biodistribution of fluorescein in glioma-infiltrated mouse brain and histopathological correlation of intraoperative findings in high-grade gliomas resected under fluorescein fluorescence guidance. *J Neurosurg* 2018;122:1360-9.
12. Schebesch KM, Hoehne J, Hohenberger C et al. Fluorescein sodium-guided resection of cerebral metastases-experience with the first 30 patients. *Acta Neurochir (Wien)* 2015;157:899-904.
13. Koc K, Anik I, Cabuk B et al. Fluorescein sodium-guided surgery in glioblastoma multiforme: a prospective evaluation. *Br J Neurosurg* 2008;22:99-103.
14. Chen B, Wang H, Ge P et al. Gross total resection of glioma with the intraoperative fluorescence-guidance of fluorescein sodium. *Int J Med Sci* 2012;9:708-14.
15. Acerbi F, Broggi M, Schebesch KN et al. Fluorescein-guided surgery for resection of high-grade gliomas: a multicentric prospective phase II study (FLUOGLIO). *Clin Cancer Res* 2018;24:52-61.
16. Schwake M, Stummer W, Molina EJ et al. Simultaneous fluorescein sodium and 5-ALA in fluorescence-guided glioma surgery. *Acta Neurochir* 2015;157:877-9.