

Diagnosi fotodinamica dei tumori non muscolo invasivi della vescica

Focus on esaminolevulinato

Photodynamic diagnosis of superficial bladder cancer

Focus on hexaminolevulinate

Summary

Superficial bladder cancer is one of the five most common malignancies among men in the Western world. Flat lesions are easily missed by conventional cystoscopy. For this reason, the use of procedures that perform better is advocated. Detection of early malignant and premalignant lesions might be improved dramatically by the instillation of fluorescent substances, a technique known as photodynamic diagnosis (PDD). The most recently developed photosensitizer is hexaminolevulinate (HAL), the hexyl ester of 5-aminolevulinic acid (5-ALA). Instillation of HAL one hour before cystoscopy highly improves the detection of bladder tumours, especially *carcinoma in situ* (CIS). It may also be used together with transurethral resection to make sure a tumour has been completely removed. Clinical trials with more than five years of follow-up have shown that HAL-cystoscopy is better than conventional cystoscopy in detecting lesions and decreasing long-term recurrence rates. Furthermore, improved tumour detection seems to lead to better overall management and a more appropriate distribution of resources.

Scarpa RM. Photodynamic diagnosis of superficial bladder cancer. Focus on hexaminolevulinate. *Trends Med* 2009; 9(1):1-7.

© 2009 Pharma Project Group srl. ISSN: 1594-2848

Key words:

bladder tumor carcinoma in situ photodynamic diagnosis hexylester 5-aminolevulinic acid hexaminelevulinate

 **Roberto M. Scarpa**

Clinica Urologica
Università di Torino
A.S.O. San Luigi
Regione Gonzole, 10
10043 Orbassano -TO-

Le neoplasie della vescica hanno elevata prevalenza nei maschi dei Paesi industrializzati, con un'incidenza di nuove diagnosi prossima a 12 casi/1.000 abitanti/anno, l'80% delle quali in soggetti oltre i 60 anni e con spiccata preferenza per il sesso maschile, con un rapporto di circa 3-7:1¹. Nella stragrande maggioranza dei casi le lesioni sono diagnosticate in seguito ad indagini mirate a valutare episodi di ematuria, ed il 60-70% delle diagnosi evidenzia lesioni superficiali, non muscolo-invasive, ovvero classificate secondo la stadiazione TNM come neoplasie TaT1². Questa circostanza rende la neoplasia altamente trattabile, con bassa mortalità generale ed elevati costi a lungo termine: il

costo di gestione per paziente, dalla prima diagnosi al decesso, è stato stimato pari a circa US\$ 150.000 (96.000-187.000 US\$)³.

Limiti della cistoscopia convenzionale

La diagnosi di neoplasia è fondata sull'osservazione diretta della parete vescicale mediante cistoscopia. La tecnica convenzionale si avvale di un cistoscopio a luce bianca (White Light Cystoscopy -WLC-) e, attraverso tale strumento, un urologo ben addestrato è in grado di individuare lesioni superficiali anche di piccole dimensioni. Purtroppo, come numerosi studi hanno dimostrato, le lesioni piane, in particolare il carcinoma *in situ*

(CIS) e le aree di displasia moderata (DII) sono frequentemente non diagnosticate, anche quando l'esame è eseguito da urologi esperti e, in contesti altamente specialistici, non supera il 65-75%: ciò significa che circa 1 CIS su 3 passa inosservato e sfugge a qualunque piano terapeutico^{4,5}. L'ausilio di altre tecniche diagnostiche, per esempio la citologia urinaria, non migliora significativamente l'efficienza diagnostica generale e mostra grande variabilità intra-operatore^{6,7}.

La diagnosi fotodinamica (PDD)

L'elevato rischio di mancata diagnosi, soprattutto di lesioni rapidamente progressive come il CIS, impone un accurato monitoraggio del paziente dopo resezione e relativi trattamenti, con protocolli che prevedono una seconda cistoscopia di controllo dopo 6-8 settimane dalla chirurgia, ed una terza cistoscopia dopo ulteriori 12 settimane. Le Linee Guida prevedono inoltre cistoscopie a scansione regolare, con tempi fissati sulla base della stadiazione e di altri parametri oggettivi (risposta al trattamento, età del paziente, fattori di rischio, etc)^{8,9}.

E' evidente che l'incremento della sensibilità diagnostica, quindi la possibilità di *evidenziare e rimuovere* tutte le lesioni realmente presenti alla prima cistoscopia post-chirurgica costituisce un indubbio vantaggio *clinico* (minor rischio di recidiva e progressione) ed *economico* (minor necessità di interventi successivi). In tal senso l'uso di fotosensibilizzatori che, assorbiti prevalentemente dai tessuti in replicazione attiva, ne migliorino la "visibilità", determina un vantaggio diagnostico notevole. La diagnostica fotodinamica (PDD) per i tumori della vescica è stata introdotta nei primi anni '90.

Acido 5-aminolevulinico (5-ALA) ed esaminolevulinato (HAL)

L'acido 5-aminolevulinico (5-ALA), instillato in vescica 2-4 ore prima della cistoscopia, rende fluorescenti le aree in replicazione attiva; questo cromogeno è catturato in egual misura dai tutti i tessuti, ma è trattenuto tenacemente solo da quelli in mitosi (neoplasie, aree di flogosi, etc), nei quali è sottoposto ad esteso metabolismo con formazione ed accumulo di protoporfirina IX (PpIX), una sostanza fluore-

scente^{10,11}. Quando irraggiati con luce blu (375-440 nm), i tessuti carichi di PpIX emettono fluorescenza di colore rosa-rosso che, nel caso delle aree neoplastiche, è particolarmente brillante e chiaramente demarcata (figura 1).

Benché l'uso del 5-ALA abbia dato buoni risultati negli studi clinici, aumentando la sensibilità di circa il 20% (2 lesioni su 10 in più rispetto alla WLC), la molecola si concentra in modo disomogeneo nei tessuti neoplastici e richiede una lunga permanenza in vescica prima di essere assorbita dai tessuti. A partire dalla fine degli anni '90 altri Autori dimostrarono che l'esaminolevulinato (HexaAminoLevulinato), l'estere del 5-ALA, era più lipofilo di quest'ultimo e si concentrava più *selettivamente e rapidamente* nei tessuti neoplastici pur utilizzando concentrazioni 45 volte più basse del 5-ALA^{12,13}. Queste caratteristiche consentono una maggior accuratezza diagnostica ed una superiore maneggevolezza rispetto al 5-ALA, costringendo il paziente a trattenere in vescica la soluzione solo per 60 minuti, con un tempo di indagine più breve e con una capacità di discriminare superiore rispetto sia alla WLC sia alla 5-ALAcistoscopia. Nel 2002 la HALcistoscopia è stata approvata dall'EMEA e dal 2005 l'uso della PDD è stato inserito nelle Linee Guida della European Association of Urology (EAU) e dalla Australian Association of Urology per la evidente superiorità diagnostica rispetto alla cistoscopia convenzionale^{9,14}. Questa raccomandazione è stata ulteriormente amplificata nelle recentissime Linee Guida EAU del

Figura 1. Visione della superficie vescicale alla luce bianca (A) e dopo 60 minuti dall'instillazione di HAL (B): la biopsia della zona fluorescente ha evidenziato la presenza di CIS ad alto grado di malignità.

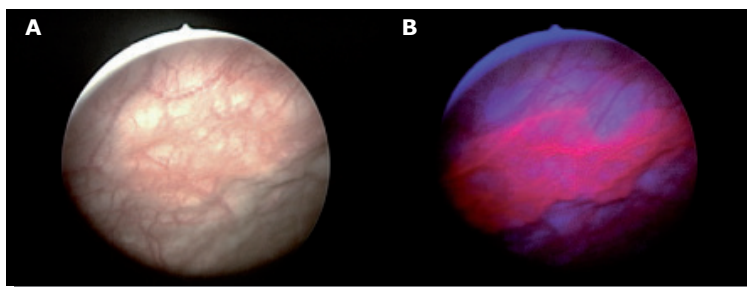


Tabella 1. Accuratezza diagnostica (sensibilità e specificità) della cistoscopia convenzionale (WLC) rispetto alla cistoscopia a fluorescenza con 5-ALA o HAL.

Autore	WLC		5-ALA		HAL	
	Sens (%)	Spec (%)	Sens (%)	Spec (%)	Sens (%)	Spec (%)
Kriegmair 1996 ¹⁶	73	69	97	67	—	—
Koenig 1999 ¹⁷	84	NR	87	59	—	—
Schmidauer 2004 ¹⁸	78	NR	—	—	97	NR
Jocham 2005 ¹⁹	77	NR	—	—	96	NR
Grossman 2007 ⁵	84	NR	—	—	95	NR
Fradet 2007 ²⁰ (Solo CIS)	68	NR	—	—	92	NR

2008, specifiche per le neoplasie TaT1¹⁵. In tabella 1 sono confrontate sensibilità e specificità della WLC e della PPD con 5-ALA e HAL.

L'efficacia della cistoscopia HAL è ben evidente se si esaminano con cura i risultati del recente studio di Grossman riportato in tabella 1. In questo trial le lesioni Ta (superficiali) e quelle T1 (solo infiltrazione del subconnettivo) sono state diagnosticate con sensibilità doppia dalla cistoscopia con HAL (29%) rispetto alla WLC (15%)⁵. Inoltre, nei 6 pazienti con lesioni Ta la tecnica convenzionale non riuscì ad individuarne nessuna: tutte furono evidenziate solo con HAL-cistoscopia.

Ancora più interessante risulta lo studio di Fradet condotto con l'intento di comparare la sensibilità della HAL rispetto alla WLC sul CIS²⁰. Le displasie di grado moderato (DII) ed i CIS sono stati oggetto negli ultimi anni di numerosi studi, poiché le prime sembrano precorrere i CIS ed entrambe le lesioni sembrano dotate di elevato grado di malignità e rapida capacità di progressione^{21,22}. In questa popolazione (196 pazienti valutabili), furono rilevate con la WLC

77 CIS; la medesima popolazione valutata contemporaneamente con HAL-cistoscopia evidenziò ulteriori 27 CIS *altrimenti misconosciuti*, con un incremento della sensibilità del 24% (figura 2).

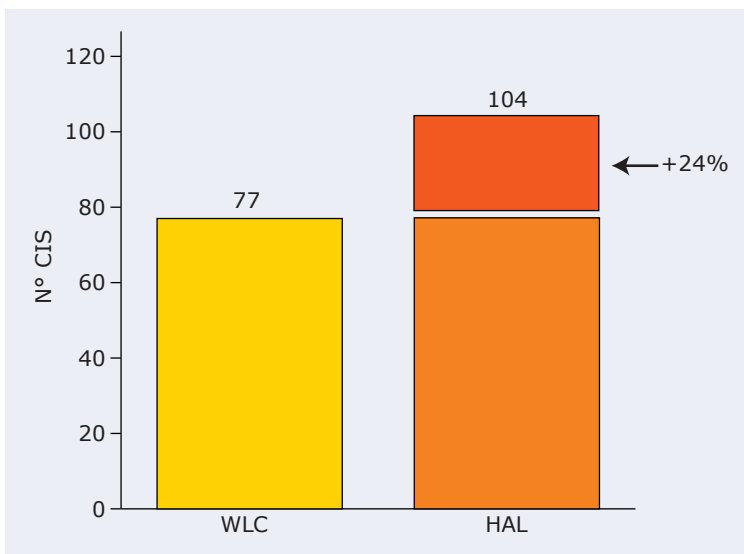
La presenza di falsi positivi (specificità) tende ad aumentare con tecniche che incrementano la sensibilità, ma sia la cistoscopia con 5-ALA sia quella con HAL sembrano migliorare anche questo parametro e nello studio di Jichlinski essa è risultata pari al 93%²³.

Come dimostrato dal recente studio di Colombo *et al*, l'ef-

ficacia della PDD (HAL e 5-ALA) risulta ancora maggiore quando è utilizzata in pazienti CIS-positivi in trattamento con BCG: in questo caso 14/18 CIS (77.7%) furono evidenziati solo con cistoscopia a fluorescenza contro 0/18 con la sola WLC (0%)²⁴.

Impatto clinico della cistoscopia a fluorescenza

La possibilità di individuare più CIS ed aree DII influenza sensibilmente i programmi terapeutici, il tasso di recidive

Figura 2. Eccedenza di CIS diagnosticati con HAL-cistoscopia dopo una prima valutazione con luce bianca (Dati da Fradet *et al* 2007²⁰).

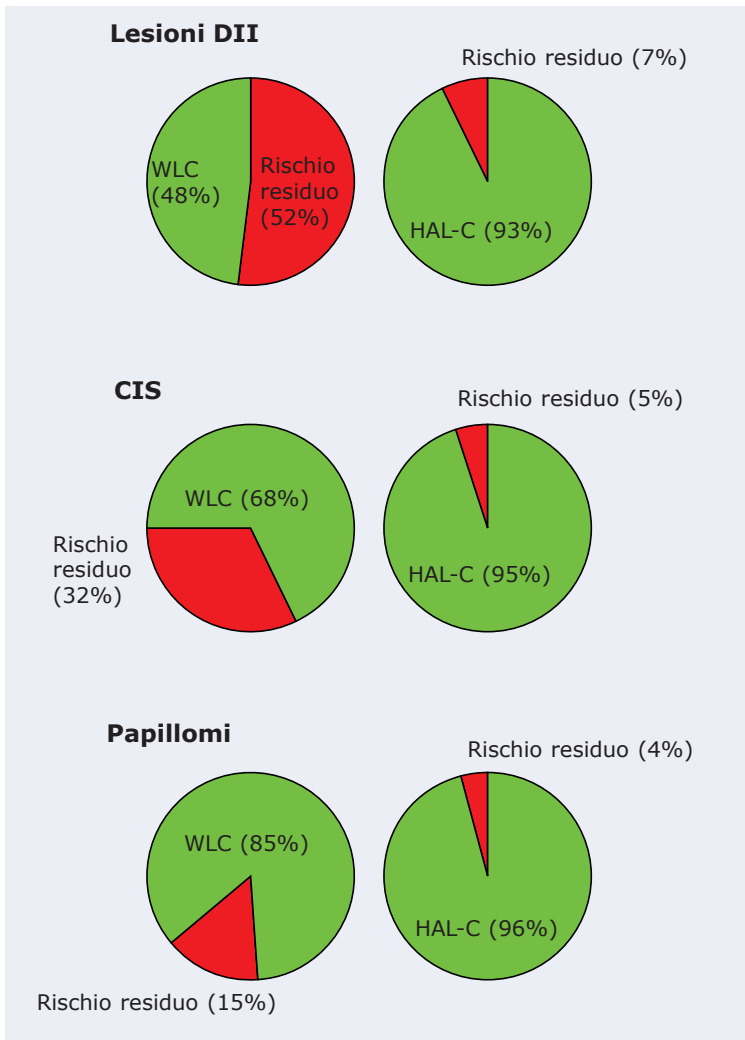
e, probabilmente, la sopravvivenza. Gli aggiornamenti delle Linee Guida EAU (2006) per le neoplasie vescicali non muscolo-invasive (TaT1) riportano una griglia per il calcolo del rischio di *recidiva* e di *progressione* ad 1 e 5 anni sulla base di un punteggio che origina dalla sommatoria dei punti attribuiti a 6 fattori prognostici validati dall'imponente studio di Sylvester e collaboratori^{25,26}. Il calcolo può essere eseguito on line accedendo al sito <http://www.eortc.be/tools/bladdercalculator> ed evidenzia chiaramente l'elevato rischio di progressione dei CIS.

Impatto sui trattamenti

Gli studi che hanno valutato in modo mirato l'impatto della PDD sulla scelta delle strategie terapeutiche sono ad oggi pochi, ma tutti hanno fornito risultati molto lusinghieri a favore della cistoscopia a fluorescenza. In uno studio appositamente disegnato, i risultati della HAL-cistoscopia e della WL-cistoscopia eseguiti per ciascun paziente sono stati consegnati in modo casuale ad un secondo urologo, insieme a tutte le altre indagini disponibili, con la richiesta di approntare un piano terapeutico coerentemente con le Linee Guida EAU: l'intento era verificare se i risultati delle due differenti metodiche influenzassero il piano terapeutico¹⁹. La HAL-cistoscopia individuò il doppio delle displasie DII (93% *vs* 48%), 1 CIS su 3 in più (95% *vs* 68%) e circa 1 papilloma su 10 in più (96% *vs* 85%) (figura 3).

A fronte di tali risultati, l'urologo incaricato di pianificare gli interventi terapeutici raccomandò sulla base delle

Figura 3. Superiorità diagnostica della HAL-cistoscopia rispetto alla WLC. Si noti la riduzione del rischio residuo. (Dati da Jocham D et al 2005¹⁹).



HAL-cistoscopia una seconda resezione in 15/146 pazienti (10%) e resezioni più estese in altri 10/146 pazienti (7%). Complessivamente quindi 25/146 pazienti (17%) beneficiano di misure più appropriate, che non sarebbero state altrimenti adottate con la sola WLC.

L'impatto della cistoscopia fotodinamica sulle decisioni terapeutiche è però evidente anche nel caso inverso, quando cioè l'individuazione di una lesione precedentemente misconosciuta è *erroneamente*

interpretata come *nuova* lesione, soprattutto in corso di trattamento, inducendo il sospetto di fallimento terapeutico e l'adozione di misure *radicali* (cistectomia) *probabilmente non necessarie*.

Inoltre, diversi studi hanno valutato i benefici di una più precisa resezione chirurgica dopo somministrazione di 5-ALA o HAL. Complessivamente, dai dati di questi studi emerge che la chirurgia fluorescenza-guidata riduce il rischio di lasciare in loco tessuto neoplastico residuo di cir-

ca il 60-70%, evitando sia le recidive che terapie citostatiche più aggressive di quanto strettamente necessario²⁷⁻³⁰.

Impatto sulla prognosi

Recidive

Sulla base di estesi follow-up di pazienti sottoposti a PDD verso la metà degli anni '90, è oggi possibile valutare in che modo l'uso di questa metodica abbia influenzato la prognosi, in particolare la sopravvivenza libera da recidive (Recurrence Free Survival - RFS). In figura 4 sono riassunti i dati del più lungo e recente follow-up ad oggi disponibile^{27,31}.

È interessante notare che a 8 anni il 71% dei pazienti sottoposti a PDD era libero da recidive, un valore sensibilmente maggiore non solo rispetto a quelli sottoposti a WLC (45%) ma maggiore anche di quello registrato a 4 anni per la cistoscopia convenzionale (64%).

Progressione

Questi dati confermano quelli di un precedente follow-up

nel quale il tasso di pazienti sottoposti a PDD e liberi da recidiva a 5 anni era quasi doppio (41%) rispetto alla controparte sottoposta a WLC (25%)²⁷. Nello stesso studio si è anche osservato che la cistoscopia a fluorescenza dimezzava la progressione tumorale a 5 anni: metastasi o infiltrazioni della lamina muscolare sono state riportate solo nell'8% dei pazienti trattati con PDD e nel 18% di quelli trattati con cistoscopia a luce bianca, con un risparmio di 21 TUR addizionali su una popolazione di 115 pazienti seguiti per 5 anni (figura 4B). Una riduzione del numero di eventi di questa entità corrisponde ad una riduzione del rischio relativo (RR) pari al 56%.

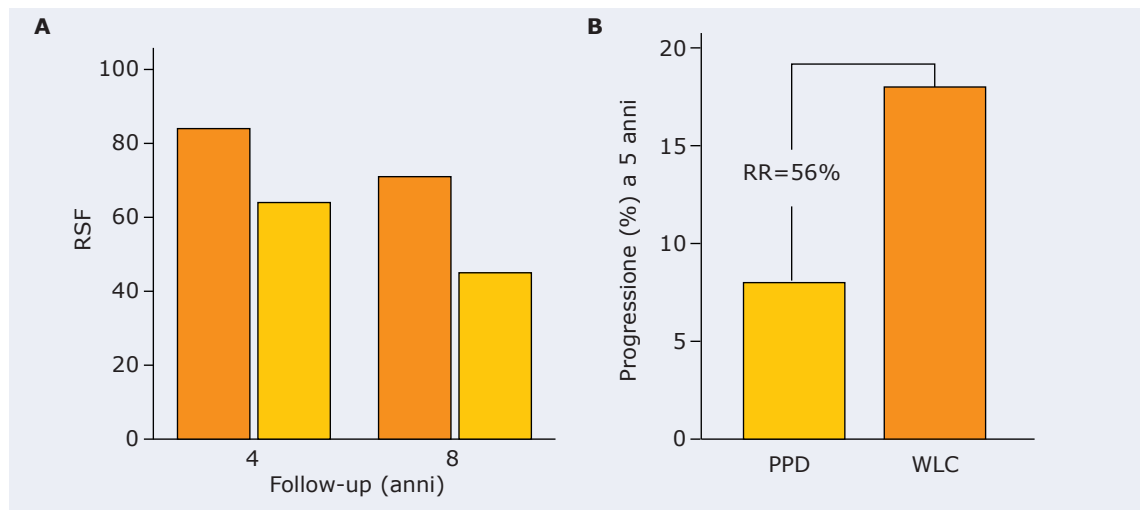
Impatto economico della cistoscopia a fluorescenza

Se si assume un'incidenza di 12 nuove diagnosi/1.000 abitanti/anno, si devono prevedere nella popolazione italia-

na circa 650.000 nuovi casi/anno: l'impatto economico di questa neoplasia, ancorché a bassa letalità, è quindi esorbitante. Per ridurre i costi di gestione le due principali strategie sono migliorare l'accuratezza (sensibilità e specificità) e la precocità diagnostica. Poiché la diagnostica fotodinamica migliora sia la sensibilità diagnostica sia la tempestività chirurgica, alcuni studi hanno tentato di valutare i vantaggi economici derivanti dalla sua adozione sistematica.

In una recente valutazione retrospettiva a 7 anni eseguita su una coorte di 301 pazienti con lesioni TaT1, e sottoposti sia a cistoscopia fotodinamica sia a cistoscopia convenzionale, il maggior numero di recidive registrate nei pazienti del gruppo WLC (42%) rispetto al gruppo PDD (18%) impose un numero di TUR più che doppio (2/paziente *vs* 0.8/paziente), con un costo complessivo grezzo a 7 anni di €1.750,00/paziente WLC contro un costo di €420,00/paziente PDD³². Tali valori, de-

Figura 4. In (A) sopravvivenza libera da recidive; nel pannello (B) tassi di progressione (lamina muscolare o metastasi) dalla prima diagnosi con WLC e PDD. (Dati da Danilchenko 2005²⁷ e Denzinger 2007³¹).



purati del maggior costo di esecuzione della PDD, hanno comunque consentito un risparmio di €168,00/paziente/anno per i 7 anni di follow-up. Se si assume un costo medio di acquisto della strumentazione pari a €30.000 circa, sulla base di dati di Burger appena citati è sufficiente trattare una popolazione di soli 60 pazienti per 5 anni per recuperare il costo di acquisto dell'apparecchiatura (€170 x 70 pazienti x 5 anni = €15.120). *Questi dati suggeriscono che l'adozione della cistoscopia fotodinamica diviene cost-effective già nei Centri di medie dimensioni.*

Conclusioni

La cistoscopia fotodinamica, soprattutto con l'introduzione dell'esaminolevulinato, co-

stituisce un indiscutibile miglioramento diagnostico nella diagnosi dei tumori superficiali della vescica, soprattutto per quanto riguarda le forme subdole (CIS e DII). Ciò spiega perché, negli ultimi anni, la ricerca in questo settore si è rivolta verso nuovi cromogeni e nuove applicazioni: promettenti in tal senso appaiono i recenti risultati delle HAL-endoscopia nelle lesioni precancerose del colon^{33,34}. L'eccesso di falsi positivi rimane un problema aperto, ma ampiamente compensato dalla superiorità della PDD nell'evidenziare CIS ed aree displastiche difficilmente rilevabili anche dall'occhio più esperto. Inoltre, l'accresciuta sensibilità diagnostica può indirizzare le procedure terapeutiche in modo più razionale e mirato, e se già oggi appare

chiaro che la sopravvivenza libera da recidive è positivamente influenzata dalla cistoscopia fotodinamica, la disponibilità di follow-up di maggior durata potrebbe evidenziare nei prossimi anni anche un impatto positivo sulla sopravvivenza globale, migliorando quindi la storia clinica della malattia diagnosticata in fase TaT1.

Infine, un'accurata selezione dei candidati ad HAL-cistoscopia e l'adozione della strumentazione per la PDD da parte di Centri con discreto turnover annuo di pazienti, rendono la metodica cost-effective, con risparmio di risorse economiche da parte dell'erogatore della prestazione ancora non ben valutabile, ma certamente ingente in considerazione dell'elevata incidenza di nuovi casi. **TiM**

Bibliografia

1. Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, et al. Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology*. 2005; 66(6 Suppl 1):4-34.
2. Sobin DH, Witteking CH (eds.). *TNM Classification of Malignant Tumours*. 6th edn. Wiley-Liss: New York, 2002, pp. 199-202.
3. Botteman M, Pashos CL, Redaelli A, et al. The health economics of bladder cancer: a comprehensive review of the published literature. *Pharmacoeconomics* 2003; 21:1315-1330.
4. Filbeck T, Roessler W, Knuechel R, et al. 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* 1999; 13:117-121
5. Grossman HB, Gomella L, Fradet Y, et al; PC B302/01 Study Group. A phase III, multicenter comparison of hexaminolevulinic fluorescence cystoscopy and white light cystoscopy for the detection of superficial papillary lesions in patients with bladder cancer. *J Urol* 2007; 178:62-67.
6. Tauber S, Schneede P, Liedl B, et al. Fluorescence cytology of the urinary bladder. *Urology* 2003; 61:1067-1071
7. Karakiewicz P, Benayoun S, Zipse C, et al. Institutional variability in the accuracy of urinary cytology for predicting recurrences of transitional cell carcinoma of the bladder. *BJU Int* 2006; 97: 997-1001
8. Oosterlinck W, Lobel B, Jakse G, et al. Guidelines on bladder cancer. *Eur Urol* 2002; 41:105-112.
9. Van der Meijden APM, Sylvester R, Oosterlinck V, et al. EAU guidelines on the diagnosis and treatment of urothelial carcinoma in situ. *Eur Urol* 2005; 48: 363-371.
10. Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. *J Photochem Photobiol B* 1990; 6:143-148
11. Steinbach P, Weingandt H, Baumgartner R, et al. Cellular fluorescence of the endogenous photosensitizer protoporphyrin IX following exposure to 5-aminolevulinic acid. *Photochem Photobiol* 1995; 62:887-895.
12. Lange N, Jichlinski P, Zellweger M, et al. Photodetection of early human bladder cancer based on the fluorescence of 5-aminolaevulinic acid hexylester-induced protoporphyrin IX: a pilot study. *Br J Cancer* 1999; 80:185-193.
13. Marti A, Jichlinski P, Lange N, et al. Comparison of aminolevulinic acid and hexylester aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX distribution in human bladder cancer. *J Urol* 2003; 170:428-432
14. Jocham D, Stepp H, Waidelich R. Photodynamic diagnosis in

- urology: state of the art. *Eur Urol* 2008; in press.
15. Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, *et al.* EAU Guidelines on Non-Muscle-Invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder. *Eur Urol* 2008; 54:303-314.
 16. Kriegmair M, Baumgartner R, Knüchel R, *et al.* Detection of early bladder cancer by 5-aminolevulinic acid induced porphyrin fluorescence. *J Urol* 1996; 155:105-109; discussion 109-110.
 17. Koenig F, McGovern FJ, Larne R, *et al.* Diagnosis of bladder carcinoma using protoporphyrin IX fluorescence induced by 5-aminolaevulinic acid. *BJU Int* 1999; 83:129-135
 18. Schmidbauer J, Witjes F, Schmeller N, *et al.* Improved detection of urothelial carcinoma *in situ* with hexaminolevulinate (HAL) fluorescence cystoscopy. *J Urol* 2004; 171:135-138.
 19. Jocham D, Witjes F, Wagner S, *et al.* Improved detection and treatment of bladder cancer using hexaminolevulinate imaging: a prospective, phase III multicenter study. *J Urol* 2005; 174:862-866.
 20. Fradet Y, Grossman HB, Gommella L, *et al.* A comparison of hexaminolevulinate (HAL) fluorescence cystoscopy and white light cystoscopy for the detection of carcinoma *in situ* (CIS) in patients with bladder cancer: a phase III, multicenter study. *J Urol* 2007; 178:68-73.
 21. Brausi M, Collette L, Kurth K, *et al.* Variability in the recurrence rate at first follow-up cystoscopy after TUR in stage Ta T1 transitional cell carcinoma of the bladder: a combined analysis of seven EORTC studies. *Eur Urol* 2002; 41:523-531.
 22. Hartmann A, Schlake G, Zaak D, *et al.* Occurrence of chromosome 9 and p53 alterations in multifocal dysplasia and carcinoma *in situ* of human urinary bladder. *Cancer Res* 2002; 62: 809-818.
 23. Jichlinski P, Guillou L, Karlsson SJ, *et al.* Hexyl aminolevulinate fluorescence cystoscopy: a new diagnostic tool for photodiagnosis of superficial bladder cancer-a multicenter study. *J Urol* 2003; 170:226-229.
 24. Colombo R, Naspro R, Bellinzoni P, *et al.* Photodynamic diagnosis for follow-up of carcinoma *in situ* of the bladder. *Ther Clin Risk Manag* 2007; 3:1003-1007.
 25. Oosterlinck W, van der Meijden AP, Sylvester R, *et al.* EAU Guidelines on TaT1 (Non-Muscle-Invasive) Bladder Cancer. Update March 2006. Accessible at http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/05_TaT1_Bladder_Cancer.pdf
 26. Sylvester R, van der Meijden AP, Oosterlinck W, *et al.* Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol* 2006; 49:466-477.
 27. Danilchenko D, Riedl CR, Sachs MD, *et al.* Long-term benefit of 5-aminolevulinic acid fluorescence assisted transurethral resection of superficial bladder cancer: 5-year results of a prospective randomized study. *J Urol* 2005; 174:2129-2133.
 28. Filbeck T, Pichlmeier U, Knüchel R, *et al.* Do patients profit from 5-aminolevulinic acid induced fluorescence diagnosis in transurethral resection of bladder carcinoma? *Urology* 2002; 60:1025-1028.
 29. Kriegmair M, Zaak D, Rothenberger KH, *et al.* Transurethral resection for bladder cancer using 5-aminolevulinic acid induced fluorescence endoscopy versus white light endoscopy. *J Urol* 2002; 168:475-478.
 30. Kriegmair M, Zaak D, Stepp H, *et al.* Transurethral resection and surveillance of bladder cancer supported by 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence endoscopy. *Eur Urol* 1999; 36:386-392.
 31. Denzinger S, Burger M, Walter B, *et al.* Clinically relevant reduction in risk of recurrence of superficial bladder cancer using 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence diagnosis: 8-year results of prospective randomized study. *Urology* 2007; 69:675-679.
 32. Burger M, Zaak D, Stief C, *et al.* Photodynamic diagnostics and non-invasive bladder cancer: is it cost-effective in long-term application? *Eur Urol* 2007; 52:142-147
 33. Olivo M, Lau W, Manivasager V, *et al.* Novel photodynamic diagnosis of bladder cancer; ex vivo fluorescence cytology using hypericin. *Int J Oncol* 2003; 23:1501-1504.
 34. Mayinger B, Neumann F, Kastner C, *et al.* Early detection of premalignant conditions in the colon by fluorescence endoscopy using local sensitization with hexaminolevulinate. *Endoscopy* 2008; 40:106-109.

