

# Intraoperacijska primjena 5-aminolevulinske kiseline kod malignih glioma

A. Melada, J. Nemir, M. Rožanković, J. Paladino

**SAŽETAK** - Cilj rada bio je ispitati preživljenje nakon operacija malignih glioma u kombinaciji s onkološkom terapijom koje, po svemu sudeći, ovisi i o opsežnosti resekcije tumora. Stoga može biti koristan svaki postupak koji omogućuje bolju intraoperacijsku identifikaciju tumora. Prikazujemo naše iskustvo u intraoperacijskoj primjeni 5-aminolevulinske kiseline (5-ALA), fluorescentnog porfirinskog preparata koji se akumulira u tumorsko tkivo i vidljiv je pod plavim svjetlom inkorporiranim na operacijski mikroskop. Metode: Tri sata prije anesteziološke indukcije bolesniku se peroralno daje 20 mg/kg 5-ALA otopljene u 50 mL vode. Intraoperacijski je pod ljubičasto-plavim svjetlom u marginama tumora uočljiva crvena fluorescentna porfirinska ekscitacija. Fluorescirajući središnji, kao i rubni dijelovi tumora, patohistološki su pretraživani, a učinak resekcije je provjeren ranim postoperacijskom postkontrastnim CT-om, a potom i MR-om. Rezultat: Normalni mozgovni parenhim ne pokazuje znakova porfirinske fluorescencije, dok tkivo malignih glioma svijetli izrazito crveno, margine se tumora prikazuju manje intenzivnom crvenom bojom. Biopsije načinjene u različitim dijelovima operacijskog polja, zavisno o intenzitetu fluorescencije, potvrđuju taj nalaz. Nije bilo blijeđenja fluorescencije tijekom operacije. Zaključak: Naša prva zapažanja pokazuju da primjena 5-ALA u operaciji malignih glioma vodi sigurnijoj i opsežnijoj resekciji tumora. Daljnje unaprijeđivanje primjene preparata treba omogućiti identifikaciju glioma nižeg stupnja malignosti što bi pridonijelo uspješnosti liječenja i takvih tumora.

**Ključne riječi** : maligni gliomi, 5-ALA, operacijsko liječenje

## UVOD

U prognozi uspješnosti liječenja malignih glioma, opsežnost kirurške resekcije je prema mnogim autorima bitan čimbenik koji je pod izravnim utjecajem operatera (1,2). Ciljevi citoredukcijske ki-

urgije malignih glioma su postavljanje patohistološke dijagnoze, maksimalno uklanjanje malignog tkiva, dekompresija okolnog mozgovnog

Klinika za neurokirurgiju, Medicinski fakultet u Zagrebu, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

parenhima, uklanjanje nekrotičnih dijelova tumora koji su radiorezistentni te smanjenje mogućnosti naknadne proliferacije. Potpuno uklanjanje tumora prema većini autora vodi statistički značajnom produljenju preživljenja. Tek 25% dostupnih referenci ne potkrepljuje tu tvrdnju, naime, ti autori smatraju da duljina preživljenja nije u izravnoj vezi sa stupnjem resekcije malignih glioma (3,4). Daljnje analize istodobno pokazuju da bolesnici u kojih je postignuta potpuna resekcija tumora imaju bolje učinke postoperacijske kemoterapije temozolamidom nego bolesnici s nepotpunom resekcijom (5,6). Stoga, metode kojima je moguće povećati intraoperacijsku identifikaciju malignog supstrata, a time povećati i selektivnost tumorske resekcije, sigurno mogu imati veliku vrijednost u postizanju maksimalnog učinka. U tu svrhu osim intraoperacijskog MRI-a, intraoperacijske ehosonografije, te neuronavigacije koji nam pomažu u definiranju rubova tumora, u posljednje vrijeme primjenjujemo biološki biljeg 5-aminolevulinsku kiselinu.

Biljeg 5-ALA prirodni je biokemijski prekursor hemoglobina koji uzrokuje sintezu i akumulaciju fluorescentnog porfirina unutar malignih glioma. Porfirinska se fluorescencija može uočiti uporabom modificiranog operacijskog mikroskopa te se tako postiže intraoperacijska identifikacija dijelova malignih glioma, a time i povećava uspješnost resekcije. Zbog intratumoralne sinteze 5-ALA se razlikuje od ostalih fluorescentnih agensa koji penetriraju u maligne gliome kroz oštećenu hematoencefalnu barijeru (7-9).

Prikazujemo prvih sedam bolesnika u kojih smo prigodom operacije primijenili biljeg 5-ALA, s prvim kontrolnim postoperacijskim CT-om i MR-om, a da bismo analizirali učinak resekcije u svrhu produljenja vremena bez znakova recidiva, poboljšanja neuroloških deficita, također uz pri-

mjenu iradijacije i kemoterapije u postoperacijskom razdoblju.

## BOLESNICI I METODE

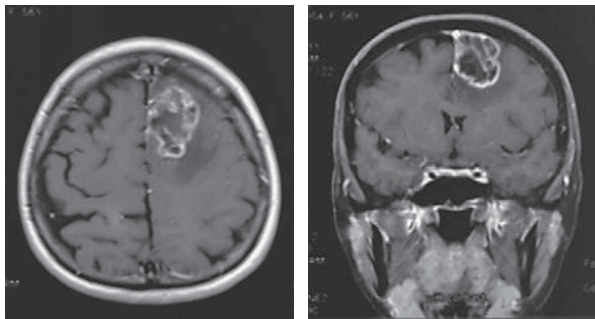
U razdoblju od lipnja 2011. do ožujka 2012. operirali smo 7 bolesnika uz intraoperacijsku primjenu 5-ALA (tablica 1). Dijagnoza malignog tumora postavljena je na temelju preoperacijskih oslikavanja MR-om (sl.1 i 1a), patohistoloških nalaza već načinjenih operacija kod recidivnih glioma ili nakon stereotaksijskih biopsija.

Svi su bolesnici prije operacije dobivali antiedemsku terapiju - 2x8 mg Dexamethason-a/dan tijekom tri dana. S obzirom da se maksimum apsorpcije očekuje šest sati nakon primjene, 5-ALA se daje tri sata prije anesteziološke indukcije u svježe pripremljenoj otopini 20 mg/kg (1,5 g u 50 mL vode) *per os*. Emisija fluorescentnog svjetla nakon maksimalne ekscitacije gubi energiju „*photobleaching*“ tijekom 12 sati uz vidljivi spektar od 400 do 700 nm.

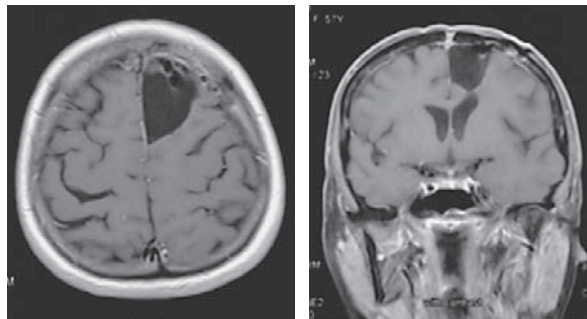
Operacija se obavlja uz uporabu modificiranog neurokirurškog mikroskopa (OPMI Neuro/NC4 sistem s inkorporiranim fluorescentnim dodatkom, Carl Zeiss Surgical GmbH) koji može mijenjati svjetlo od konvencionalnog bijelog ksenonskog u ljubičasto-plavo ekscitirajuće svjetlo (maks. 520 nm). Integrirana kamera u boji omogućuje dokumentaciju fluorescentnih slika. Taj uređaj se osim za resekciju samog tumora i za selektivnu vizualizaciju porfirina u parenhimu mozga na periferiji tumora koristi i za pretrage bioptičkog materijala. Preporučuje se načiniti široku kortikotomiju da bi se prikazali svi dijelovi tumora smješteni najčešće u dubljim dijelovima parenhima. Reseciraju se izrazito crveno obojeni dijelovi tumora, dok

Tablica 1. Podatci o našim bolesnicima operiranim uz primjenu 5-ALA

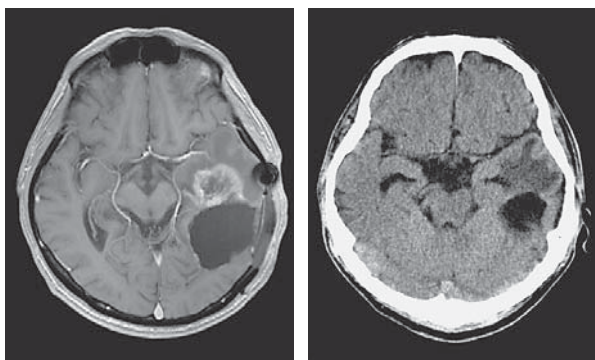
Bolesnik	Spol	Dob	PHD	Lok.	72 h CT	3mj. MR	preop. PHD
1	ž	60	GB	F sin.	bez rezid.	bez rec.	
2	m	63	GB	T sin.	bez rezid.	rec.	prethodna op.
3	ž	71	GB	F dex.	bez rezid.	bez rec.	biopsija
4	m	72	GB	T dex.	bez rezid.	bez rec.	prethodna op.
5	m	64	Anapl. ODG	O dex.	bez rezid.	bez rec.	
6	m	57	GB	PO sin.	bez rezid.	bez rec.	prethodna op.
7	m	64	GB	FT dex.	bez rezid.	bez rec.	biopsija



Sl. 1. MR snimke prije operacije



Sl. 2. MR snimke tri mjeseca nakon operacije



A) B)

Sl. 1a. A) MR snimka prije operacije,  
B) Kontrolni MSCT učinjen nakon 72 sata

je zona infiltracije obojana manje intenzivno crveno. Ne preporučuje se rad unipolarnim koagulatorom jer se gubi fluorescencija, a zbog istoga se razloga izbjegava i dulja izravna iluminacija operacijskog polja običnim svjetlom. Biopsija se obavlja intraoperacijski u više navrata i to iz samog tumora, i iz tranzicijske zone između normalnog i malignog mozgovnog tkiva, temeljeno na prisutnosti ili odsutnosti fluorescencije. Bioptički materijal se rutinski analizira već tijekom operacije (*ex tempore*) te nakon operacije od strane neuropatologa. Svi su bolesnici za vrijeme operacije i 24 sata nakon operacije bili smješteni u zamračenu prostoriju zbog potencijalne kožne fotosjetljivosti. U svih je bolesnika načinjen postkontrastni CT mozga 72 sata nakon zahvata (sl. 1), te kontrolni MR nakon tri mjeseca (sl. 2), a da bi se prepoznao eventualni rezidualni tumor.

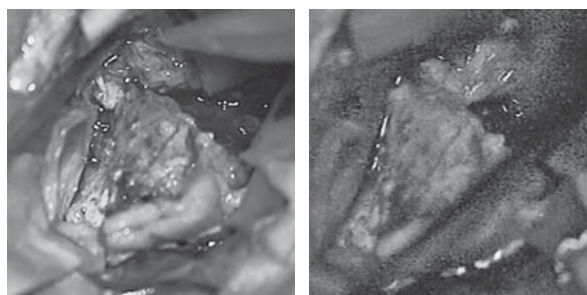
Svi su bolesnici nakon operacije te potvrde patohistološke dijagnoze (maligni gliom III. ili IV. stupnja) bili podvrgnuti standardnoj frakcioniranoj radioterapiji s preporučenim dozama od 60 Gy i saturacijom peritumoralnog polja s oko 20 Gy, a radioterapija je započinjala oko dva tjedna nakon operacije i to 2 Gy po dozi pet puta tjedno. Kemoterapija je primjenjivana prema preporučenom

protokolu primjene temozolamida samo u malignih tumora IV. stupnja (glioblastomi).

## REZULTATI

Intraoperacijski vitalni dijelovi malignih glioma pod plavim se svjetlom prikazuju izrazito crvenom bojom, a nekrotični se dio vidljiv pri bijelom svjetlu ne prikazuje, ili svijetli blago crveno. Granica tumora se prikazala svjetlo crveno, a okolni je parenhim bio plavkaste boje (sl. 3). Granično prepoznavanje vrlo je bitno zbog radikalne resekcije tumora, ako nam to dopušta nediferentno područje okolnih područja mozga.

Histološki je nalaz graničnog područja pokazivao znakove tumora u pet bolesnika. U dva slučaja nismo inzistirali na totalnoj resekciji i to jednom zbog blizine bazalnih ganglija, a drugi put zbog područja gornjeg temporalnog girusa odnosno opasnosti od postoperacijskih govornih smetnji. Tijekom operacije fluorescencija se nije mogla isprati tekućinom, ali je krvarenje u tumorskoj loži prikrivalo fluorescenciju. Stoga se preporučuje stalna sukcija ili pomna hemostaza da se taj učinak



A) B)

Sl. 3. Intraoperacijski snimak tumorskog procesa nakon primjene 5-ALA - (glioblastom GIV)  
A) Prikaz tumora pod bijelim svjetlom;  
B) Prikaz tumora pod fluorescentnim svjetlom obojen crveno

izbjegne. Također se pokazalo da je tijekom operacije bolji prikaz na videodokumentaciji nego pri promatranju prostim okom.

U jednog je bolesnika patohistološki nalaz pokazao da je riječ o anaplastičkom oligodendrogliomu, središnja se tumorska zona prikazivala izrazito crveno, ali je granično područje bilo bezbojno. Taj je nalaz sukladan prijeoperacijskom nalazu MR-a koji dobro prikazuje kontrastno imbibiranje središnjeg dijela tumora, a granični je dio tumora bez vaskularne proliferacije i nekroze. Usporedba i ostalih nalaza MR-a s intraoperacijskim nalazom pokazuje blisku vezu hiperintenziteta na MR- u sa izrazitom fluorescencijom tijekom operacije. Dakako da se taj odnos na ovako malom uzorku ne može sa sigurnošću procijeniti.

Svi bolesnici su podnijeli primjenu 5-ALA bez znakova nuspojava kao što su kožna fotosenzitivnost, mučnina ili drugi simptomi porfirije. Zabilježen je ipak nešto veći broj epileptičkih napada i blažih neuroloških ispada, ali neposredno nakon operacije, dok je nakon tri tjedna stanje bilo zadovoljavajuće.

Kod troje bolesnika histološki je nalaz potvrđen na uzorcima uzetim prilikom prethodnog neurokirurškog zahvata, dok je u dvoje bolesnika nalaz potvrđen na temelju uzoraka iz prethodne stereotaktičke biopsije. Poslijeoperacijski histološki nalazi su pokazali da se u šest slučajeva radi o glioblastomu multiforme (WHO Grade IV), a u jednog se bolesnika radilo o anaplastičnom oligodendrogliomu (WHO Grade III).

## RASPRAVA

Maksimalna citoredukcija malignih glioma prema brojnim istraživanjima vodi boljoj prognozi operiranih bolesnika. Stoga većina neurokirurga nastoji maksimalno ukloniti neuroradiološki prikazan kontrastno imbibiran tumor koliko je moguće (2,3). Pri tome se danas koriste intraoperacijsko MR snimanje, intraoperacijski ultrazvuk te neuronavigacija. Neuronavigacija dobro ocrtava rubove tumora, ali ima veliki nedostatak („*brain shift*“) jer pokazuje promijenjene anatomske odnose u odnosu na preoperacijske MR slike (10). Intraoperacijska ehosonografija zahtijeva česti prekid tjeka operacije, a zbog intraoperacijskih artefakata i razmjerno slabe rezolucije nije potpuno pouzdan i zahtijeva iskustvo operatera u interpretaciji nalaza. Zbog toga se spomenute metode do sada nisu pokazale kao standard pri operacijama malignih glioma. Fluorescentski pak vođena resekcija uz upo-

rabu 5-ALA jednostavna je i ne prekida operaciju. Takav postupak omogućuje specifična sinteza i akumulacija fluorescentnog porfirina 5-ALA u tkivo malignih glioma, i razlikuje se od uporabe prijašnjih fluorescentnih agensa koji su se iz krvne plazme apsorbirali u tumor, ali i u okolna tkiva kroz oštećenu hemoencefalnu barijeru te se istodobno smanjivalo selektivno odlaganje u tumoru (11-13).

Preliminarne operacije malignog glioma pokazuju visoki stupanj podudarnosti porfirinske fluorescencije s prikazom tumora pod svjetlošću operacijskog mikroskopa. Fluorencija je bila adekvatno intenzivna tako da smo uz minimalnu prilagodbu operacijskog mikroskopa mogli identificirati maligno tkivo. Prisutnost fluorescencije u okolini ležišta nakon uklanjanja tumora omogućila nam je u šest slučajeva resekciju rezidualnih dijelova tumora, što je potvrđeno ranim poslijeoperacijskim CT-om odnosno MR-om tri mjeseca nakon neurokirurškog zahvata. Od tog pravila smo odustali u dvoje bolesnika, ostavljajući dijelove tumora koji su bili fluorescentni, ali smanjenog intenziteta, a zbog blizine diferentnih dijelova mozga da ne bismo pogoršali poslijeoperacijski neurološki status. Postoperacijska pretraživanja drugih autora MR-om u kratkom razdoblju pokazuju uspješnost resekcije od 64% kod operacija pod plavim svjetlom, odnosno 38% nakon operacija pod bijelim svjetlom. Preživljenje je dulje do 20% (14). Izloženi nalazi potvrđuju visoki stupanj specifičnosti metode te sigurnost pri resekciji tumorskih rubova. Istodobno nam porfirinska fluorescencija tumorskog tkiva daje respektabilan potencijal za sigurnu resekciju malignih tumora.

Specifičnost fluorescencije 5-ALA jest da se ne prikazuje u okolnom vazogenom edemu, koji uzrokuju tumorski procesi. Maligni cerebralni tumori uzrokuju vazogeni edem kao posljedicu oštećenja hemoencefalne barijere, te ekstravazacije plazme u okolni mozgovni parenhim. Premda su porfirinski preparati lipofilni, te preko plazmatskih lipoproteina mogu prelaziti u edematozno tkivo, dosadašnji intraoperacijski nalazi pokazuju da se kod 5-ALA to ne događa (15,16).

Manjkavost 5-ALA jest da se ne vizualizira u nekrotičnom tumorskom tkivu, što može biti razlog negativnom intraoperacijskom histološkom nalazu, ali napominjemo da se veći dio neurokirurškog zahvata obavlja pod bijelim svjetlom gdje se nekroza sasvim dobro prikazuje, pa taj nedostak nije značajan. Pokazalo se da područja okoline tumora koji fluoresciraju manje intenzivno (svjetlocrveno) ne moraju pokazati histološke

značajke tumora, ali se u nediferentnim dijelovima mozga reakcija tih područja može tolerirati.

Problem može biti i blijeđenje fluorescencije, posebice nakon dugotrajnog izlaganja mikroskopskom svjetlu. Prema istraživanjima, tijekom operacije malignih tumora, računajući vrijeme operiranja pod bijelom svjetlošću, fluorescencija se smanjuje do 36%. Intraoperacijski se taj gubitak može umanjiti uporabom kotonida za prekrivanje tumora i krvarenjem unutar operacijskog polja. Inače, gubitak intenziteta fluorescencije vidljiv je najviše u površnim dijelovima tumora i u većine je operacija uglavnom nebitan. Takav se gubitak intenziteta uz dovoljno iskustvo operatera može zanemariti, osim ako se vrijeme operacije nepredviđeno ne produlji (17,18).

Intraoperacijsko krvarenje u tumorsku ložu potpuno zatamnjuje fluorescentni signal unutar tumora. Taj se učinak objašnjava apsorpcijskim obilježjima hemoglobina (maksimum 400 do 700 nm) koje poništavaju ekscitirajuće svjetlo i značajno smanjuju emisiju porfirinske fluorescencije. Takav se lažni prikaz odstranjenog tumora u području krvarenja lako rješava kontinuiranom sukcijom ili pomnom hemostazom.

Vrijeme primjene peroralne otopine 5-ALA je vrlo važno. Prema prijašnjim studijama i našim iskustvima fluorescencija je najintenzivnija šest do osam sati nakon uzimanja preparata. Svi naši bolesnici dobivali su peroralno po 20 mg 5-ALA na kilogram tjelesne težine (cca 1,5 g) tri sata prije anesteziološke indukcije. Tumorsku se resekciju učinilo počevši od 6 sati nakon primjene, a tijekom cijele operacije intenzitet fluorescencije bio je sasvim adekvatan, pa i do dva sata nakon početka resekcije.

Doza od 20 mg/kg odabrana je zbog optimalnog učinka, ali i zbog minimiziranja fototoksičnog učinka tijekom operacije i u postoperacijskom razdoblju. Očekivana prirodna eliminacija 5-ALA zbiva se tijekom 12 sati nakon uzimanja kada više nije vidljiva u području tumora, te do 24 sata kada je očekivano potpuno izlučivanje iz organizma.

Nuspojava kao što su fotosenzitivnost kože, mučnina ili povraćanja u naših bolesnika nije registrirano, osim kao posljedice anestezije potrebne za neurokirurški zahvat (18).

Učinak 5-ALA tumači se time da stanice malignih glioma najvjerojatnije posjeduju sposobnost selektivne sinteze ili akumulacije 5-ALA nakon peroralne primjene. Povećana stanična proliferacija s povišenom metaboličkom aktivnosti može biti raz-

logom za porfirinsku akumulaciju u promijenjenom tkivu. S obzirom da je 5-ALA supstancija za koju se može očekivati najmanja apsorpcija u normalni mozgovni endotel, oštećenje hematoencefalne barijere udružene s endotelnom proliferacijom može biti preduvjet da 5-ALA dospje u tumorsko tkivo gdje se metabolizira (19,20).

Stummer i sur. su načinili multicentričnu studiju uporabe 5-ALA pri resekciji malignih glioma i zaključili su da 5-ALA omogućava veću učestalost nalaza potpune resekcije tumorskog tkiva ranim postoperacijskim MR snimanjem i time dulje vrijeme preživljavanja u usporedbi s konvencionalnim mikrokirurškim zahvatima pod bijelim svjetlom (21).

Možda je najveća manjkavost 5-ALA da je primjenjiva jedino kod malignih glioma III. i IV. stupnja, jer bi svakako bila puno učinkovitija kod glioma manjeg stupnja gdje se granica između tumora i peritumorske glioze ne može dobro identificirati.

Sanai i suradnici te Porensky i sur. rabili su konfokalni mikroskop uz primjenu 5-ALA u operacijama deset bolesnika s gliomom niskog stupnja malignosti. Intraoperacijski konfokalna mikroskopija adaptirana je konvencionalnoj konfokalnoj tehnologiji koja omogućuje fluorescentno oslikavanje u realnom vremenu do povećanja od tisuću puta. Fluorescencija nije bila makroskopski vidljiva u svih bolesnika, dok je intraoperacijska konfokalna mikroskopija identificirala tumorsku fluorescenciju na staničnoj razini, a pri tome je i histološkim analizama dokazana tumorska infiltracija (22,23).

Widhalm i sur. su u seriji operiranih bolesnika s infiltrirajućim gliomima gradusa III dokazali da se uz primjenu 5-ALA margine tumora mogu prikazati bolje nego na neuroradiološkom oslikavanju, te se radikalna resekcija tumora pokazuje vrlo izvjesnom (19). Coluccia i sur. te Bekelis i sur. istraživali su intraoperacijsku uporabu 5-ALA u meningeoma na uzorku od 32 operirana bolesnika. Fluorescencija induciranom 5-ALA potvrđena je u 31 bolesnika i nije korelirala s histološkim nalazom ili preoperacijskim edemom i primjenom kortikosteroida. Kompletnu resekciju tumora uspjeli su postići u 25 bolesnika, te zaključuju da je primjena 5-ALA obećavajuća i pri operacijama meningeoma (20,24).

## ZAKLJUČAK

Naša dosadašnja iskustva ukazuju da 5-ALA može biti tehnički jednostavno i sigurno pomagalo za

bolju intraoperacijsku vizualizaciju malignih glioma, što omogućuje učinkovitije uklanjanje tumorskog tkiva, te veću sigurnost od neželjenog oštećenja okolnih mozgovnih struktura odnosno pogoršanja neurološkog deficita u bolesnika. Dostupna literatura ukazuje na direktnu vezu opsežnosti resekcije tumora i bolesnikove prognoze, svakako da na većem broju uzorka i duljem praćenju možemo dovesti ovaj odnos i u vezu sa uporabom 5-ALA. Unaprjeđenje adjuvantne terapije u malignih glioma baziranih na genetskim ili imunološkim principima također ukazuje na veću učinkovitost nakon potpune resekcije takvih tumora. Naposljetku i sama činjenica o selektivnoj akumulaciji fluorescencije u malignim gliomima možda pruža obećavajuću podlogu za adjuvantnu fotodinamičku terapiju malignih tumora nakon operacije.

#### LITERATURA

1. Brown PD, Maurer MJ, Rummans TA, Pollock BE, Ballman KV, Sloan JA. A prospective study of quality of life in adults with newly diagnosed high-grade gliomas: the impact of the extent of resection on quality of life and survival. *Neurosurgery* 2005; 57: 495-504.
2. Lacroix M, Abi-Said D, Fourtney DR *et al.* A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma: prognosis, extent of resection, and survival. *J Neurosurg* 2001; 95: 190-98.
3. Sanai N, Berger MS. Glioma extent of resection and its impact on patient outcome. *Neurosurgery* 2008; 112: 1-9.
4. Vecht CJ, Avezaat CJ, van Putten WL, *et al.* The influence of the extent of surgery on the neurological function and survival in malignant glioma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990; 53: 466-71.
5. Hart MG, Grant R, Garside R, Rogers G, Somerville M, Stein K. Temozolamide for high grade glioma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(4) CD007415.
6. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ *et al.* Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolamide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 987-96.
7. Stummer W, Stocker S, Wagner S *et al.* Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. *Neurosurgery* 1998; 42: 518-26.
8. Nabavi A, Thurm H, Zountasas B, Pietch T, Lanfermann H, Pichlmeier U. Five-aminolevulinic acid for fluorescence-guided resection of recurrent malignant gliomas: phase II study. *Neurosurgery* 2009;58:108-16.
9. Hefti M, von Campe G, Moschopoulos M, Sieger A, Looser H, Landolt H. 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX fluorescence in high-grade glioma surgery: a 1-year experience at a single institution. *Swiss Med Wkly.* 2008; 138: 180-185.
10. Forsting M, Albert FK, Kunze S. Extirpation of glioblastomas: MR and CT follow-up of residual tumor and regrowth patterns. *AJNR Am J Neuroradiol* 1993; 14: 77-82.
11. Floeth FW, Sabel M, Ewelt C, Stummer W, Felsberg J, Reifenberger G. Comparison of F-FET PET and 5-ALA fluorescence in cerebral gliomas. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011; 38: 731- 41.
12. Duffner F, Ritz R, Freudenstein D, Weller M, Dietz K, Wessels J. Specific intensity imaging for glioblastoma and neural cell cultures with 5-aminolevulinic acid-derived protoporphyrin IX. *J Neurooncol* 2005; 71: 107-11.
13. Shinoda J, Yano H, Yoshimura S. Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using high-dose fluorescein sodium. Technical note. *J Neurosurg* 2003; 99: 597- 603.
14. Tonn JC, Stummer W. Fluorescence-guided resection of malignant gliomas using 5-aminolevulinic acid, practical use, risk, and pitfalls. *Clin Neurosurg* 2008; 55: 20-6.
15. Isishara R, Katayama Y, Watanabe T, Yoshino A, Fukushima T, Sakatani K. Quantitative spectroscopic analysis of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence intensity in diffusely infiltrating astrocytomas. *Neurol Med Chr (Tokyo)* 2007; 47: 53-7.
16. Grabb PA, Gilbert MR. Neoplastic and pharmacological influence on the permeability of in vitro blood-brain barrier. *J Neurosurg* 1995; 82: 1053-8.
17. Stockhammer F, Misch M, Horn P, Koch A, Fonyuy N, Plotkin M. Association of F18-fluoroethyl-tyrosin uptake and 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence in gliomas. *Acta Neurochir (Wien)* 2009; 151: 1337-83.
18. Weber J, Kessel D, Fromm D. Side effects and photosensitization of human tissue after aminolevulinic acid. *J Surg Res* 1997; 68: 31-2.
19. Widhalm G, Wolfsberg S, Minchev G *et al.* 5-aminolevulinic acid is a promising marker for detection of anaplastic foci in diffusely infiltrat-

- ing gliomas with nonsignificant contrast enhancement. *Cancer* 2010; 116: 1545-52.
20. Bekelis K, Valdes PA, Erkmen K *et al.* Quantitative and qualitative 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence in skull base meningiomas. *Neurosurg Focus*. 2011; 30: E8.
  21. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wietler O D, Zanella F, Reulen H-J. 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.
  22. Sanai N, Snyder L, Honea N *et al.* Intraoperative confocal microscopy in the visualization of 5-aminolevulinic acid fluorescence in low-grade gliomas. *J Neurosurg* 2011;115: 740-8.
  23. Porensky P, Chiocca A. Use of 5-aminolevulinic acid for visualization of low-grade gliomas. *J Neurosurg* 2011; 115: 737-9.
  24. Coluccia D, Fandino J, Fujioka M, Cordovi S, Muroi C, Landolt H. Intraoperative 5-aminolevulinic-acid-induced fluorescence in meningiomas: *Acta Neurochir (Wien)* 2010; 152: 1711-9.

---

**Adresa za dopisivanje:** Prim. Ante Melada, dr. med., Klinika za neurokirurgiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska. E-pošta: ante.melada@zg.t-com.hr

## Intraoperative appliance of 5-ALA in malignant glioma surgery

**ABSTRACT** - Survival rate after operative treatment of malignant glioma combined with chemotherapy and radiotherapy significantly depends on the extensiveness of tumor resection. Therefore, any procedure that can assure better intraoperative tumor identification is useful. We present our experience with intraoperative usage of 5-aminolevulinic acid (5-ALA), a fluorescent porphyrin substance that accumulates in tumor tissue and is visible under blue light incorporated in the operative microscope. Three hours after anesthesiology induction, the patient orally received a solution of 20 mg/kg 5-ALA in 50 mL of water. Intraoperatively, a red fluorescent porphyrin excitation was visible between tumor margins under violet-blue light. The fluorescent central part and also the marginal part of the tumor were histopathologically examined. Resection result was verified with early post enhancement computed tomography and magnetic resonance imaging. Porphyrin fluorescence does not appear in normal brain tissue, whereas in malignant gliomas it stands out extremely red. Less intensive red color is seen at tumor margins. This was confirmed by biopsies obtained in many different parts of the operation field, depending on fluorescence intensity. There was no fluorescence bleaching during the surgery. In conclusion, the usage of 5-ALA during operative treatment of malignant gliomas leads to safer and more thorough tumor resection. Further improvement of contrast usage should enable lower stage glioma identification, which would certainly contribute to more successful treatment of this type of tumors.

**Key words:** malignant glioma, 5-aminolevulinic acid, operative treatment