ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ - ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ

Φωτοδυναμική θεραπεία ακτινωτού σώματος με verteporfin : πειραματική και κλινική μελέτη

Διδακτορική Διατριβή

Διδάκτωρ

Σπυρίδων Κ. Χαρίσης

Επιβλέπων Καθηγητής

Μιλτιάδης Κ. Τσιλιμπάρης

Ηράκλειο Κρήτης 2009

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ - ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ

Φωτοδυναμική θεραπεία ακτινωτού σώματος με verteporfin : πειραματική και κλινική μελέτη.

Διδακτορική Διατριβή

Σπυρίδων Κ. Χαρίσης

Επιβλέπων:	Μιλτιάδης Κ. Τσιλιμπάρης, Επ. Καθηγητής Οφθαλμολογίας
Συνεπιβλέποντες:	Ιωάννης Γ. Παλλήκαρης, Καθηγητής Οφθαλμολογίας
	Κωνσταντίνος Φωτάκης, Καθηγητής Φυσικής
Μέλη Επταμελούς:	Ανδρονίκη Τόσκα, Καθηγήτρια Δερματολογίας
	Αχιλλέας Γκίκας, Αν. Καθηγητής Παθολογίας
	Χαράλαμπος Σιγανός, Επ. Καθηγητής Οφθαλμολογίας
	Ευγένιος Δαφνής, Επ. Καθηγητής Νεφρολογίας

Ηράκλειο Κρήτης 2009

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΠΙΝΑΚΩΝ	9
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	12
ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ	13
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1.1 Φωτοδυναμική θεραπεία : ιστορική αναδρομή	15
1.2 Η φωτοδυναμική θεραπεία στην Οφθαλμολογία	16
1.3 Η φωτοδυναμική θεραπεία στην ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς	17
1.4 Το ακτινωτό σώμα : ανατομία - φυσιολογία	21
1.5 Το υδατοειδές υγρό και η παραγωγή του	23
1.6 Το υδατοειδές υγρό και η αποχέτευσή του	25
1.7 Η ενδοφθάλμια πίεση και η μέτρησή της	27
1.8 Γλαύκωμα: ορισμός, επιδημιολογία, παθοφυσιολογία	30
1.9 Φαρμακευτικές θεραπείες γλαυκώματος	34
1.10 Επεμβατικές θεραπείες γλαυκώματος	35
1.11 Laser θεραπείες για το γλαύκωμα	36
1.12 Κυκλοκαταστοφή	37
1.13 Διασκληρική φωτοδυναμική θεραπεία ακτινωτού: ιστορία	38

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

Εισαγωγή	40
Πείραμα 1 (αξιιολόγηση TonoPen-XL σε κουνέλια)	
2.1 Σκοπός	41

2.2 Μεθοδολογία	41
2.3 Αποτελέσματα	42
2.4 Συμπέρασμα	43
Πείραμα 2 (CBPDT σε κουνέλια)	
3.1 Σκοπός	44
3.2 Μεθοδολογία	
3.2.1 Πειραματόζωα	44
3.2.2 Φωτοευαισθητοποιητής και διασκληρική laser ακτινοβόληση	45
3.2.3 Ιστολογική εξέταση και μετρήσεις ΙΟΡ	48
3.3 Αποτελέσματα	
3.3.1 Ιστολογικές εξετάσεις	50
3.3.2 Μετρήσεις ΙΟΡ	54
3.4 Συμπέρασμα	56
Πείραμα 3 (CBPDT σε κουνέλια : 4 επαναλήψεις)	
4.1 Σκοπός	57
4.2 Μεθοδολογία	
4.2.1 Πειραματόζωα.	58
4.2.2 Φωτοευαισθητοποιητής και διασκληρική laser ακτινοβόληση	58
4.2.3 Μέρος 1ο: ρύθμιση παραμέτρων ακτινοβόλησης	58
4.2.4 Μέρος 20: αποτελεσματικότητα από 1 συνεδρία CBPDT	60
4.2.5 Μέρος 3ο: ασφάλεια και αποτελεσματικότητα από 4 CBPDT	60
4.2.6 Ιστολογική εξέταση και μετρήσεις ΙΟΡ	61
4.3 Αποτελέσματα	
4.3.1 Μέρος 1ο : ρύθμιση ισχύος, χρόνου και αριθμού εφαρμογών	61
4.3.2 Μέρος 20 : 1 συνεδρία CBPDT	63

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

4.3.3 Μέρος δεύτερο : 4 διαδοχικές συνεδρίες CBPDT	64
4.4 Συμπεράσματα	70
Πείραμα 4 (Κυκλοκρυοπηξία σε κουνέλια)	
5.1 Σκοπός	72
5.2 Μεθοδολογία	72
5.3 Αποτελέσματα	73
5.4 Συμπεράσματα	75
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΚΛΙΝΙΚΟ	
Κλινικό 1 (Πιλοτική CBPDT σε ανθεκτικά γλαυκώματα)	
6.1 Σκοπός	76
6.2 Μεθοδολογία	
6.2.1 Κλινικό πρωτόκολλο, έντυπο συγκατάθεσης, προετοιμασία	76
6.2.2 Verteporfin με συνεχή έγχυση όπως στην PDT	77
6.2.3 Laser, οπτική ίνα 600μm, θέση ακτινοβόλησης	78
6.2.4 Επιλογή ασθενών	78
6.3 Αποτελέσματα	
6.3.1Παράμετροι ακτινοβόλησης και συνολικός χρόνος	80
6.3.2 Διάρκεια και εύρος μείωσης IOP, παρακολούθηση	83
6.3.3 Επιπλοκές	84
6.4 Συμπεράσματα	85
Κλινικό 2 (Τριπλή ίνα, bolus verteporfin – Κλινική μελέτη CBPDT)	
7.1 Σκοπός	86
7.2 Μεθοδολογία	
7.2.1 Verteporfin bolus έγχυση	86

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

7.2.2 Laser και οπτική ίνα με 3 άκρα, παράμετροι ακτινοβόλησης	86
7.2.3 Επιλογή ασθενών, παρακολούθηση	87
7.3 Αποτελέσματα	
7.3.1 Μετρήσεις ΙΟΡ	90
7.3.2 Επιπλοκές	90
7.3.2 Συνολικός χρόνος CBPDT ανά ασθενή	91
7.4 Συμπεράσματα	94
ΣΥΝΟΨΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	
8.1 Ορισμός γλαυκώματος και φωτοδυναμικής θεραπείας	95
8.2 CBPDT: Πειράματα σε έγχρωμα κουνέλια	96
8.3 CBPDT: Κλινικές εφαρμογές σε ανθεκτικά γλαυκώματα	99
SUMMARY	102
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	104
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	
1. Έντυπο ενημέρωσης και συγκατάθεσης	109
2. Προφορικές ανακοινώσεις σε συνέδρια	113
3. Αναρτημένες ανακοινώσεις (Poster) σε συνέδρια	114
4. Δημοσιεύσεις	119

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<u>1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (Φωτοδυναμική θεραπεία – ακτινωτό – γλαύκωμα)</u>

Εικόνα 1. Φωτοευαισθητοποιητής verteporfin (Visudyne, Novartis)	18
Εικόνα 2: Φωτοδυναμική θεραπεία στην υγρή ωχροπάθεια	20
Εικόνα 3: Μοριακή φωτοδιέγερση του verteporfin	20
Εικόνα 4: Ανατομία-Ιστολογία ακτινωτού σώματος	22
Εικόνα 5: Ιστολογία ακτινοειδούς προβολής	23
Εικόνα 6: Σχήμα προσθίων μορίων και πορείας υδατοειδούς υγρού	26
Εικόνα 7: Ανατομία-Ιστολογία της γωνίας του προσθίου θαλάμου	26
Εικόνα 8: Τονόμετρο επιπέδωσης Goldmann	28
Εικόνα 9: Τονόμετρο φορητό επιπέδωσης TonoPen-XL	28
Εικόνα 10. Οπτικό πεδίο τύπου Humphrey σε γλαυκωματικό οφθαλμό	33
Εικόνα 11. Γλαυκωματικό οπτικό νεύρο στη βυθοσκόπηση	33
<u>2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΠΕΙΡΑΜΑ 1 (αξιολόγηση TonoPen-XL για κουνέλια)</u>	
Εικόνα 12. Πειραματική διάταξη για μανομετρικές μετρήσεις ΙΟΡ	42
Εικόνα 13. Διάγραμμα ΙΟΡ με το TonoPen-XL συγκριτικά με μανομετρικές	43
<u>3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΠΕΙΡΑΜΑ 2 (CBPDT σε κουνέλια)</u>	
Εικόνα 14. Διοδικό laser "Visulas" 689nm μήκους κύματος	46
Εικόνα 15. Οπτική ίνα πυρήνα 200μm	47
Εικόνα 16. Μετρητής ισχύος laser "Lasermate	47
Εικόνα 17. Εγκάρσια τομή οφθαλμού κουνελιού και θέση ακτινοβόλησης	48
Εικόνα 18. Θερμική βλάβη ακτινοειδούς προβολής, οπτικό μικροσκόπιο	51
Εικόνα 19. Φωτοδυναμική αλλοίωση ακτινοειδούς, οπτικό μικροσκόπιο	52
Εικόνα 20. Φωτοδυναμική αλλοίωση ακτινοειδούς, ηλεκτρονικό μικροσκ.	53

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ - ΠΙΝΑΚΩΝ

Εικόνα 21. Γραφική παράσταση της ΙΟΡ συναρτήσει του χρόνου	55
<u>4. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΠΕΙΡΑΜΑ 3 (CBPDT σε κουνέλια : 4 επαναλήψεις)</u>	
Εικόνα 22. Οπτική ίνα πυρήνα 600μm	59
Εικόνα 23. Μετρήσεις ΙΟΡ μετά από 1 CBPDT	63
Εικόνα 24. Μετρήσεις ΙΟΡ μετά από 4 επαναλήψεις CBPDT	65
Εικόνα 25. Ιστολογία 24h μετά από 1η CBPDT	66
Εικόνα 26. Ιστολογία 24h μετά από 2η CBPDT	66
Εικόνα 27. Ιστολογία 24h μετά από 4η CBPDT	67
Εικόνα 28. Ιστολογία 5 ημέρες μετά από 4η CBPDT	67
Εικόνα 29. Φωτογραφία ίριδος και ακτινωτού 5 ημέρες μετά από 4η CBPDT	68
Εικόνα 30. Φωτογραφία οφθαλμού κουνελιού 24h μετά από 1η CBPDT	69
Εικόνα 31. Φωτογραφία οφθαλμού κουνελιού 5 ημέρες μετά από 4η CBPDT	69
<u>5. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΠΕΙΡΑΜΑ 4 (Κυκλοκρυοπηξία)</u>	
Εικόνα 32. Κυκλοκρυοπηξία σε έγχρωμα κουνέλια	73
Εικόνα 33. Μετρήσεις ΙΟΡ μετά από κυκλοκρυοπηξία	74
Εικόνα 34. Μακροσκοπική φωτογραφία ακτινωτού μετά από κυκλοκρυοπηξία	74
<u>6. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΚΑΙΝΙΚΟ 1 (1 ίνα – πιλοτική CBPDT σε ασθενείς)</u>	
Εικόνα 35. CBPDT σε ασθενή με μία ίνα πυρήνα 600μm	79
Εικόνα 36. Φωτογραφία σκέδασης φωτός στο σκληρό χιτώνα	82
Εικόνα 37. Διάγραμμα απώλειας ισχύος συναρτήσει πάχους του σκληρού	82
Εικόνα 38. Φωτογραφία προσθίων μορίων πριν και μετά τη CBPDT	84
<u>7. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΚΑΙΝΙΚΟ 2 (Τριπλή ίνα – CBPDT κλινική μελέτη)</u>	
Εικόνα 39. Οπτική ίνα με 3 άκρα (πυρήνα 200μm έκαστο	87
Εικόνα 40. Διοδικό laser "Dio-Endo" 689nm μεγάλης ισχύος	88

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ - ΠΙΝΑΚΩΝ

Εικόνα 41. Ταυτόχρονη ακτινοβόληση 3 περιοχών σε τόξο 90ο	88
Εικόνα 42. Μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις μετά από CBPDT (τριπλή ίνα)	92
Εικόνα 43. Φωτογραφία προσθίων πριν και μετά τη CBPDT με τριπλή ίνα	93

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΠΕΙΡΑΜΑ 2

Πίνακας 1. Παράμετροι CBPDT κουνελιών πειράματος 1	50
<u>4. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΠΕΙΡΑΜΑ 3</u>	
Πίνακας 2. Παράμετροι CBPDT κουνελιών πρώτου μέρους πειράματος 3	62
<u>6. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟ 1</u>	
Πίνακας 3. Δημογραφικά ασθενών για CBPDT (1 ίνα, συνεχής έγχυση)	79
Πίνακας 4. Παράμετροι CBPDT ασθενών (1 ίνα, συνεχής έγχυση	81
<u>7. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΚΑΙΝΙΚΟ 2</u>	
Πίνακας 5. Δημογραφικά ασθενών για CBPDT (τριπλή ίνα, εφάπαξ έγχυση)	90

Πίνακας 6. Μετρήσεις ΙΟΡ προ και μετά CBPDT (τριπλή ίνα, εφάπαξ έγχυση) 92

εγχαριστιές

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή είναι καρπός μακροχρόνιας προεργασίας, συνεργασίας και υποστήριξης επιστημονικής και υλικοτεχνικής πολλών ανθρώπων, τους οποίους και ευχαριστώ. Αναλυτικότερα, ευχαριστώ θερμά:

- τον κ. Ιωάννη Παλλήκαρη, Καθηγητή Οφθαλμολογίας,
- τον κ. Μιλτιάδη Τσιλιμπάρη, Επικ. Καθηγητή και Διευθυντή της Πανεπιστημιακής Οφθαλμολογικής Κλινικής, εμπνευστή και πρωτεργάτη της διασκληρικής φωτοδυναμικής θεραπείας του ακτινωτού σώματος, δασκάλου και συμπαραστάτη μου σε όλη την πορεία του έργου,
- τον κ. Εμμανουήλ Χριστοδουλάκη, Επιμελητή Οφθαλμολογίας, για πολύτιμες
 συμβουλές στην οργάνωση των πειραμάτων και τη συγγραφή της διατριβής,
- τον κ Ευστάθιο Δετοράκη και την κα Θεοκλήτη Παπαδάκη, Επιμελητές
 Οφθαλμολογίας, για τις πολύτιμες κλινικές διδαχές τους στο γλαυκώμα,
- την κα Ειρήνη Ναουμίδη, Βιολόγο, για την υποστήριξη στην Ιστολογία,
- τον κ Χαρίλαο Γκίνη, Φυσικό, για τη βοήθεια σε θέματα laser και οπτικών ινών,
- όλους τους συναδέρφους και συνεργάτες που σε διάφορες στιγμές και με διάφορους τρόπους βοήθησαν έμμεσα και άμεσα στο έργο, τους κ. Βασίλειο Παντελεοντίδη, κα Τατιάνα Ναουμίδη, κα Δήμητρα Σκόνδρα, κ Γεώργιο Κουνή, κ. Βασίλειο Διακονή, κα Βασιλεία Μανιαδή,
- το προσωπικό του BEMMO και της Οφθαλμολογικής Κλινικής,
- τους γονείς μου για την αδιάλειπτη οικονομική υποστήριξη και συμβουλές
- και τις Silvia Naldi και Βάνια Βιτάνοβα, για τη μεγάλη τους υπομονή και την ουσιαστική βοήθεια άμεση και έμμεση σε όλο το έργο.

ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ

Το μεγαλύτερο μέρος του έργου χρηματοδοτήθηκε από πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ 2003. Στα πλαίσια του ΠΕΝΕΔ 2003, το έργο συγχρηματοδοτήθηκε κατά 75% της Δημόσιας Δαπάνης από την Ευρωπαϊκή Ένωση – Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και 25% της Δημόσιας Δαπάνης από το Ελληνικό Δημόσιο – Υπουργείο Ανάπτυξης – Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας και από τον Ιδιωτικό Τομέα. Το πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ 2003 υπάγεται στο πλαίσιο του Μέτρου 8.3 του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα – Γ΄ Κοινοτικό Πλαίσιο Στήριξης.

Το υπόλοιπο μέρος του έργου χρηματοδοτήθηκε από το Βαρδινογιάνειο Εργαστήριο Μεταμοσχεύσεων και Μικροχειρουργικής του Οφθαλμού (**B.E.M.M.O.**) της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης (πρόγραμμα 1386 του ΕΛΚΕ).

Τα πειράματα και η ιστολογικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του **B.E.M.M.O.**

Η φύλαξη των πειραματόζωων κατά τη διάρκεια της παρακολούθησής τους έγινε στο ζωοτροφείο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου (Πα.Γ.Ν.Η.).

Το κλινικό μέρος του έργου πραγματοποιήθηκε στους χώρους της **Οφθαλμολογικής Κλινικής** του **Πα.Γ.Ν.Η.**

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γλαύκωμα είναι μία από τις 3 συχνότερες αιτίες τύφλωσης παγκοσμίως. Η υψηλή ενδοφθάλμια πίεση (IOP) είναι ο σημαντικότερος παράγοντας εμφάνισης και προ-όδου του γλαυκώματος και όλες οι σύγχρονες θεραπείες στοχεύουν στη μείωσή της. Τα τοπικά αντιγλαυκωματικά φάρμακα δεν είναι πάντα επαρκή για τον έλεγχο της IOP και η καθημερινή χρήση τους είναι συχνά προβληματική για οικονομικούς και κοινωνικούς λόγους και λόγω σημαντικών παρενεργειών. Επεμβάσεις όπως η τραμπεκουλεκτομή και η ένθεση βαλβίδων, παρότι γενικά αποτελεσματικές, δεν είναι λίγες οι φορές που αποτυγχάνουν να ελέγξουν την IOP, ενώ σχετίζονται και με σοβαρές επιπλοκές. Η laser τραμπεκουλοπλαστική (ALT, SLT) έχει περιορισμένη μακροχρόνια αποτελεσματικότητα. Η διασκληρική κυκλοκαταστροφή (laser, κρυοπηξία) και η ενδοσκοπική laser κυκλοκαταστροφή είναι σημαντικές εναλλακτικές μέθοδοι θεραπείας του γλαυκώματος, που όμως σχετίζονται συχνά με σοβαρές επιπλοκές. Τα παραπάνω δείχνουν ότι είναι σημαντική η αναζήτηση νέων αντιγλαυκωματικών

Η ιδέα της διασκληρικής φωτοδυναμικής θεραπείας για το ακτινωτό σώμα ξεκίνησε στα μέσα του 1990 στο BEMMO και σε άλλα εργαστήρια στον κόσμο, στα πλαίσια προσπάθειας εφαρμογής της φωτοδυναμικής θεραπείας σε αγγειοβριθείς ιστούς του οφθαλμού. Το έτος 2000 η έγκριση του φωτοευαισθητοποιητή verteporfin για χρήση στον άνθρωπο για τη θεραπεία της ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς υγρού τύπου έδωσε νέα ώθηση στην προσπάθεια εφαρμογής της διασκληρικής φωτοδυναμικής θεραπείας ως εναλλακτικής μεθόδου κυκλοκαταστροφής. Η παρούσα διδακτορική διατριβή μελετάει το θέμα αυτό σε οφθαλμούς κουνελιών και περιέχει την πρώτη κλινική μελέτη σε ασθενείς με ανθεκτικά γλαυκώματα.

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Φωτοδυναμική θεραπεία: ιστορική αναδρομή

Ο όρος "Φωτοδυναμική θεραπεία" (Photodynamic Therapy, PDT) αναφέρεται στη μέθοδο που εκμεταλλεύεται θεραπευτικά το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης του φωτός με μια φωτοευαίσθητη χρωστική (dye, φωτοευαισθητοποιητής) παρουσία οξυγόνου, στο περιβάλλον ενός βιολογικού συστήματος. Η αλληλεπίδραση αυτή προκαλεί ποικιλία φωτοχημικών αντιδράσεων, περιλαμβανομένων την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου, με τελικό αποτέλεσμα την καταστροφή και νέκρωση κυττάρων (1).

Η ιστορία της φωτοδυναμικής θεραπείας ξεκινάει με την ανακάλυψη της αιματοπορφυρίνης στα μέσα του 19^{ου} αιώνα και την ιδιότητα του φθορισμού της. Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα ο γερμανός Ιατρός Meyer Betz πειραματίστηκε στον εαυτό του και απέδειξε ότι η έγχυση αιματοπορφυρίνης αυξάνει κατακόρυφα τη φωτοευαισθησία στον άνθρωπο, δηλαδή την ευαισθησία του στην έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία (1). Η πρώτη προσπάθεια φωτοδυναμικής θεραπείας στη δερματολογία καταγράφεται το 1903 όταν ο γερμανός δερματολόγος von Tappeiner και οι συνεργάτες του δοκίμασαν διάφορους φωτοευαισθητοποιητές για τη θεραπεία κονδυλωμάτων. Ο ίδιος χρησιμοποίησε για πρώτη φορά τον όρο "φωτοδυναμική δράση". Στο πρώτο μισό του 20^{ου} αιώνα εδραιώθηκε η γνώση ότι οι πορφυρίνες συγκεντρώνονται στους όγκους, μετά από ενδοφλέβια έγχυση.

Στο δεύτερο μιστό του 20ου αιώνα καταγράφονται περισσότερες προσπάθειες κλινικής εφαρμογής της PDT. Στη δεκαετία του 1960, όταν ερευνητές της Mayo Clinic (1) πρότειναν τη χρήση της φωτοδυναμικής δράσης της αιματοπορφυρίνης σαν θεραπευτικής εναλλακτικής λύσης για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Το 1979 ο Dogherty και οι συνεργάτες του έδειξαν σαφή κλινική αποτελεσματικότητα σε ένα περιστατικό μεταστατικού καρκίνου του μαστού (1). Ταυτόχρονα ξεκίνησαν και οι πρώτες εφαρμογές της PDT στην Οφθαλμολογία. Το 1996 οι Karagianis και συνεργάτες εφάρμοσαν PDT με ανάλογα πορφυρίνης C για θεραπεία εγκεφαλικού γλοιώματος (2). Το ίδιο έτος συναντάται και το πρώτη ανασκόπηση (review) των εφαρμογών PDT για τους ενδοκράνιους όγκους από τους Popovic και συνεργάτες (3).

1.2 Η φωτοδυναμική θεραπεία στην Οφθαλμολογία

Από τη δεκαετία του 1990 μέχρι και σήμερα καταγράφονται πολλές προσπάθειες (off label, μη εγκεκριμένες) εφαρμογής της PDT με διάφορους φωτοευαισθητοποιητές για διάφορες οφθαλμολογικές παθήσεις. Το 1989 οι Panagopoulos και συνεργάτες εφάρμοσαν PDT με φθαλοκυανίνη για τη θεραπεία ενδοβόλβιου μελανώματος (4). Το 1990 ο Winther χρησιμοποίησε PDT για την πειραματική και κλινική θεραπεία ρετινοβλαστώματος (5). Το 1991 οι Wilson και συνεργάτες εφάρμοσαν PDT για πειραματική προαμφιβληστροειδική νεοαγγείωση (6). Το 1991 οι Miller και συνεργάτες εφάρμοσαν PDT με φθαλοκυανίνη για τη θεραπεία πειραματικής νεοαγγείωσης της ίριδας (7). Το 1994 οι Tsilimbaris και συνεργάτες εφάρμοσαν PDT με φθαλοκυανίνη για τη θεραπεία πειραματικής νεοαγγείωσης κερατοειδούς (8). Το 1994 οι Schmidt-Erfurth και συνεργάτες μελέτησαν την πειραματική με PDT θρόμβωση αγγείων του χοριοειδούς (9). Το 1995 οι Favilla και συνεργάτες δημοσίευσαν 5ετή μελέτη αποτελεσματικότητας της PDT στη θεραπεία του μελανώματος του χοριοειδούς. (10). Το 2000 οι Obana, Gohto και συνεργάτες παρουσίασαν πειραματική PDT σε νεοαγγείωση κερατοειδούς και χοριοειδούς με το φωτοευαισθητοποιητή ATX-S10(Na) (11,12). Το 2003 και 2004 οι

Fossarello και συνεργάτες εφάρμοσαν PDT με verteporfin για τη θεραπεία νεοαγγείωσης κερατοειδούς και πτερυγίου (13,14). Το 2004 οι Barbazetto και συνεργάτες χρησιμοποίησαν PDT με verteporfin για τη θεραπεία νεοπλασίας επιπεφυκότα (15). Το 2004 και το 2008 οι Parodi και συνεργάτες χρησιμοποίησαν PDT με verteporfin για τη θεραπεία της νεοαγγείωσης των προσθίων ημιμορίων σε περιπτώσεις νεοαγγειακού γλαυκώματος (16,17).

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αφορά στην off-label εφαρμογή της PDT, με διασκληρική laser ακτινοβόληση, ως εναλλακτικής μεθόδου καταστολής ή/και καταστροφής του ακτινωτού σώματος για τη θεραπεία του γλαυκώματος, δηλαδή CBPDT (Ciliary Body PDT). Η εξέλιξη της CBPDT από τη δεκαετία του 1990 μέχρι σήμερα αναπτύσσεται στην παράγραφο 1.12. Για καλύτερη κατανόηση της μεθόδου, στις αμέσως επόμενες παραγράφους περιγράφεται εν συντομία η PDT για την ωχρά, η ανατομία και φυσιολογία του ακτινωτού σώματος καθώς και οι διάφορες αιτίες και οι θεραπευτικές επιλογές και δυσκολίες του γλαυκώματος.

1.3 Η φωτοδυναμική θεραπεία στην ηλιακή εκφύλιση της ωχράς

Η ενδεδειγμένη εφαρμογή της PDT στην Οφθαλμολογία ξεκίνησε το έτος 2000, όταν ο φωτοευαισθητοποιητής verteporfin (Visudyne, Novartis, εικόνα 1) έλαβε έγκριση από τον Οργανισμό Φαρμάκων και Τροφών των ΗΠΑ (FDA) για χρήση στην ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς νεοαγγειακής αιτιολογίας (υγρή ωχροπάθεια). Το έτος 2001 το verteporfin έλαβε έγκριση από το FDA και για την εκφύλιση ωχράς νεοαγγειακής αιτιολογίας, σχετιζόμενη με υψηλή μυωπία (18).



Εικόνα 1. Το Verteporfin (Visudyne, Novartis) είναι ο μοναδικός φωτοευαισθητοποιητής για PDT στην Οφθαλμολογία εγκεκριμένος για χρήση στον άνθρωπο.

Η ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς υγρού τύπου, χαρακτηρίζεται από χοριοειδική νεοαγγείωση (choroidal neovascularization, CNV), δηλαδή το σχηματισμό νέων αγγείων στο χοριοειδή, τα οποία διαπερνούν τη μεμβράνη του Bruch και αναπτύσσονται κάτω από το μελάγχρουν επιθήλιο του αμφιβληστροειδούς, συνηθέστερα κάτω από το κεντρικό βοθρίο. Τα νέο-αγγεία αυτά διαρρέουν, με αποτέλεσμα υποαμφιβληστροειδικές αιμορραγίες και συλλογή υγρού και τελικό αποτέλεσμα τη μείωση της οπτικής οξύτητας. Η φυσική εξέλιξη της βλάβης αυτή συνιστάται στην ουλοποίηση της περιοχής, με πλήρη απώλεια της κεντρικής όρασης. Προ της PDT, η AMD υγρού τύπου αντιμετωπιζόταν με laser φωτοπηξία, δηλαδή με ολική καταστροφή της πάσχουσας περιοχής, με στόχο τον περιορισμό της βλάβης. Τα αποτελέσματα της laser φωτοπηξίας, όμως ήταν φτωχά, καθώς η ίδια η θεραπεία προκαλούσε μείωση της οπτικής οξύτητας. Η PDT έδωσε ελπίδες για εκλεκτική θεραπεία της AMD υγρού τύπου, με στόχο τη διατήρηση της λειτουργικότητας της ωχράς (19). "Πατέρας" της PDT για την υγρή ωχροπάθεια θεωρείται ο Καθηγητής στο Massachusetts Eye & Ear Infrmy των ΗΠΑ, ελληνικής καταγωγής, κ Ευάγγελος Γραγουδάς (Gragoudas E).

Στην PDT για CNV, η φωτοευαίσθητη ουσία verteporfin, χορηγείται στον ασθενή ενδοφλεβίως (εικόνα 2) σε δόση 6mg/mm² επιφάνειας σώματος, υπό τη μορφή 30ml διαλύματος σε dextrose 5%, με συνεχή έγχυση διάρκειας 10 λεπτών. Η verteporfin μεταφέρεται στο πλάσμα κυρίως δεσμευμένη στις λιποπρωτεΐνες. Τα νέοαγγεία είναι πλούσια σε υποδοχείς λιποπρωτεϊνών, με συνέπεια την επιλεκτική μεγάλη συγκέντρωση verteporfin στη θέση της CNV. Η verteporfin ενεργοποιείται με φως που εκπέμπεται από διοδικό laser μήκους κύματος 689±3nm . Στην PDT για CNV η ακτινοβόληση της πάσχουσας περιοχής του αμφιβληστροειδούς ξεκινάει 15 λεπτά μετά την έναρξη της συνεχούς έγχυσης, η συνιστώμενη δόση φωτός είναι 50Joule/cm² βλάβης, που χορηγείται με ένταση 600mWatt/cm², ενώ η διάρκεια ακτινοβόλησης είναι 83sec (20).

Στην PDT για CNV το φως φτάνει στον αμφιβληστροειδή αφού διασχίσει τα διαθλαστικά μέσα του οφθαλμού, δηλαδή τον κερατοειδή, τον κρυσταλλοειδή φακό, ή τον ενδοφακό, και το υαλοειδές ή απλά την υαλοειδική κοιλότητα (εικόνα 2). Στον αμφιβληστροειδή το φως ενεργοποιεί το verteporfin παρουσία οξυγόνου, με συνέπεια την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (εικόνα 3). Λόγω της χαμηλής ισχύος laser, δεν προκαλείται σημαντική θερμική βλάβη. Οι ρίζες οξυγόνου προκαλούν βλάβη στα ενδοθηλιακά κύτταρα των νέο-αγγείων, με συνέπεια την έκκριση αγγειοδραστικών παραγόντων που προκαλούν πήξη του αίματος δια της οδού της λιπο-οξυγενάσης (λευκοτριένια) και κυκλο-οξυγενάσης (εικοσανοειδή, όπως η θρομβοξάνη). Έπονται η συσσώρευση αιμοπεταλίων, ο σχηματισμός πήγματος ινικής και η αγγειοσύσπαση. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η ατροφία του παθολογικού ιστού και η ουλοποίησή του (18).



Εικόνα 2. Φωτοδυναμική θεραπεία στην υγρή ωχροπάθεια: σχηματική αναπαράσταση. Η φωτοευαίσθητη ουσία (verteporfin) χορηγείται ενδοφλεβίως (1) και ενεργοποιείται από laser (2) διαμέσω των διαθλαστικών μέσων του οφθαλμού (3).



Εικόνα 3. Μοριακή φωτοδιέγερση : διάγραμμα ενεργειακών επιπέδων. Συμβατικές φωτεινές πηγές προκαλούν διέγερση έως S₁ και T₁, ενώ με φωτεινή πηγή υψηλής έντασης, ακτινοβόληση κατά ώσεις και σε 2 διαφορετικά μήκη κύματος μπορεί να προκληθεί διέγερση έως S₂ και T₂.

1.4 Το ακτινωτό σώμα: ανατομία - φυσιολογία

Μακροσκοπικά, το ακτινωτό σώμα είναι ένας δακτύλιος 5-6 mm πλάτος που εκτείνεται από την πριονωτή περιφέρεια του αμφιβληστροειδούς, πίσω, έως το σκληραίο πρερνιστήρα, μπροστά (εικόνα 4). Χωρίζεται σε 2 περιοχές, η πρόσθια παρουσιάζει πτυχές (pars plicata), ενώ η οπίσθια είναι σχετικά επίπεδη (pars plana). Στη διατομή του το ακτινωτό σώμα έχει σχήμα τριγωνικό, με βάση προς τον πρόσθιο θάλαμο και κορυφή προς το χοριοειδή. Η pars plicata έχει 2mm πλάτος και αποτελείται από περίπου 70 πτυχές με ακτινοειδή διάταξη, που ονομάζονται ακτινοειδείς προβολές και έχουν διαστάσεις 0,5-0,8mm ύψος και 0,5mm πλάτος. Μεταξύ 2 κανονικών ακτινοειδών προβολών μπορεί να υπάρχουν μικρότερες (19).

Μικροσκοπικά, το ακτινωτό σώμα χωρίζεται σε επιθήλιο, στρώμα και ακτινωτό μυ (εικόνα 5). Ο ακτινωτός μυς καταλαμβάνει τα πρόσθια 2/3 του ακτινωτού σώματος και αποτελείται από 3 ομάδες λείων μυϊκών ινών με διαφορετικό προσανατολισμό (επιμήκεις εξωτερικά, ακτινικές στη μέση και κυκλικές εσωτερικά). Το επιθήλιο των ακτινοειδών προβολών είναι δίστιχο, κυβικό/κυλινδρικό νευροεπιθήλιο (19).

Το ακτινωτό σώμα έχει 3 βασικές λειτουργίες: την παραγωγή συστατικών του υαλοειδούς και των ινών του Zinn, την προσαρμογή, και την παραγωγή του υδατοειδούς υγρού. Η παραγωγή ινών κολλαγόνου για τις ίνες του Zinn και συστατικών του υαλοειδούς όπως υαλουρονικό οξύ πραγματοποιούνται από τα επιθηλιακά κύτταρα της επίπεδης περιοχής του ακτινωτού σώματος. Η προσαρμογή επιτυγχάνεται λόγω της μετατόπισης και ελαστικής παραμόρφωσης του κρυσταλλοειδούς φακού, που προκαλείται από τη σύσπαση των μυϊκών ινών του ακτινωτού μυός. Ο ακτινωτός μυς επηρεάζει και την εκροή του υδατοειδούς (21).

Αναλυτικότερα, οι επιμήκεις μυϊκές ίνες καταφύονται στο σκληρό πτερνιστήρα και έμμεσα, επομένως, επηρεάζουν το σκληροκερατοειδικό ηθμό, ενώ οι ακτινικές μυϊκές ίνες καταφύονται απευθείας στο σκληροκερατοειδικό ηθμό. Η σύσπαση των ινών αυτών μετατοπίζει, επομένως, το σκληρό πτερνιστήρα και μεγαλώνει τα διαστήματα στον σκληροκερατοειδικό ηθμό, αυξάνει, συνεπώς, την εκροή του υδατοειδούς υγρού. Η παραγωγή του υδατοειδούς υγρού είναι μία κυρίως ενεργητική διαδικασία που πραγματοποιείται από τα επιθηλιακά κύτταρα των ακτινοειδών προβολών. Ισχυροί δεσμοί μεταξύ των κυττάρων αυτών εμποδίζουν, υπό φυσιολογικές συνθήκες, μεγάλα μόρια ή κύτταρα, πρωτεΐνες, να περάσουν στο υδατοειδές υγρό (αιματο-υδατοειδικός φραγμός) (21, 19).



Εικόνα 4. Ανατομία ακτινωτού σώματος : μικροσκόπιο με μικρή μεγέθυνση (50).



Εικόνα 5. Ακτινοειδής προβολή στο οπτικό μικροσκόπιο με μεγάλη μεγέθυνση (200). Δίστιχο επιθήλιο και αιμοφόρο αγγείο. Ισχυροί δεσμοί μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων εμποδίζουν, υπό φυσιολογικές συνθήκες, μεγάλα μόρια ή κύτταρα, πρωτεΐνες, να περάσουν στο υδατοειδές υγρό (αιματο-υδατοειδικός φραγμός).

1.5 Το υδατοειδές υγρό και η παραγωγή του

Το υδατοειδές υγρό είναι ένα άχρωμο υγρό που παράγεται παθητικά με διήθηση και ενεργητικά από τα επιθηλιακά κύτταρα των ακτινοειδών προβολών. Το υδατοειδές υγρό θρέφει τον κερατοειδή και τον κρυσταλλοειδή φακό και συμμετέχει στη διαθλαστική ισχύ του οφθαλμού. Ο ρυθμός παραγωγής του υδατοειδούς υγρού είναι περίπου 2,5μl/min και η πλήρης ανανέωσή του γίνεται μέσα σε 2 περίπου ώρες. Η ισορροπία μεταξύ της παραγωγής και της απορροής του υδατοειδούς υγρού δημιουργεί στο εσωτερικό του οφθαλμού συνθήκες πίεσης (ενδοφθάλμια πίεση), σημαντικής για τη διατήρηση του σχήματος και των δομών του οφθαλμού (21).

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Πολυάριθμοι και πολύπλοκοι είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή του υδατοειδούς υγρού. Το ακτινωτό σώμα νευρώνεται από συμπαθητικές και παρασυμπαθητικές νευρικές ίνες, από κλάδους των βραχέων και μακριών οπίσθιων ακτινοειδών νεύρων. Οι παρασυμπαθητικές ξεκινούν από τον πυρήνα του Edinger and Westphal του 3ου ενδοκράνιου νεύρου και ο ερεθισμός σε πειραματόζωα του αυξάνει την χοριοειδική κυκλοφορία και μειώνει την παραγωγή του υδατοειδούς. Οι συμπαθητικές νευρικές ίνες συνάπτονται στο άνω αυχενικό γάγγλιο και ο ερεθισμός τους σε πειραματόζωα αυξάνει σημαντικά την παραγωγή του υδατοειδούς υγρού (21).

Η επίδραση χοληνεργικών και αδρενεργικών μηχανισμών στην παραγωγή του υδατοειδούς δεν είναι αποσαφηνισμένη. Οι χοληνεργικές ουσίες προκαλούν αγγειοδιαστολή και συμφόρηση της ίριδας και του ακτινωτού σώματος. Οι αδρενεργικές ουσίες αυξάνουν την παραγωγή μέσω των υποδοχέων β και την μειώνουν μέσω των υποδοχέων α (21).

Διάφορες ενδογενείς και εξωγενείς φαρμακευτικές ουσίες μειώνουν την παραγωγή του υδατοειδούς υγρού όπως οι ανταγωνιστές των υποδοχέων β, οι ανταγωνιστές της καρβονικής ανυδράσης, οι ανταγωνιστές των καναλιών ασβεστίου, οι αγωνιστές των α2 υποδοχέων, οι αναστολείς του ανατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, οι ανταγωνιστές των υποδοχέων Η1, τα καρδιακά γλυκοζίδια, η υπερωσμωτικότητα του πλάσματος και άλλα (21).

Άλλοι παράγοντες που σχετίζονται με μείωση της παραγωγής του υδατοειδούς είναι η αυξημένη ηλικία, η καλή φυσική κατάσταση, η υπόταση, η υποθερμία, η οξέωση, η υπερωσμωτικότητα του πλάσματος, η μείωση της ροής αίματος στην έσω καρωτίδα και η γενική και η οπισθοβόλβια αναισθησία (21).

1.6 Το υδατοειδές υγρό και η αποχέτευσή του

Το υδατοειδές υγρό ρέει από τον οπίσθιο θάλαμο προς τον πρόσθιο διαμέσου του διαστήματος μεταξύ ίριδος και κρυσταλλοειδούς φακού και καταλήγει στη γωνία του προσθίου θαλάμου. Από εκεί το μεγαλύτερο μέρος αποχετεύεται δια του αποχετευτικού συστήματος της γωνίας (κύρια οδός), δηλαδή διαμέσου των μεσοδιαστημάτων του σκληροκερατοειδικού ηθμού καταλήγει στο κανάλι του Schlemm και στη συνέχεια, δια των έξω αθροιστικών σωληναρίων και του ενδοσκληρικού φλεβικού πλέγματος, χύνεται στο επισκληρικό φλεβικό πλέγμα και τη γενική κυκλοφορία. Ένα μικρό ποσοστό (10%) υδατοειδούς αποχετεύεται από τη ραγοειδοσκληρική οδό, δηλαδή από τη βάση της ίριδος περνάει ανάμεσα στις ίνες του ακτινωτού μυός, από εκεί στο χώρο μεταξύ χοριοειδούς και σκληρού, στη συνέχεια διηθεί το σκληρό στα σημεία που περνάνε τα αγγεία και τα νεύρα και καταλήγει στις επισκληρίδιες φλέβες. Η συμμετοχή της ραγοειδοσκληρικής οδού

Η απορροή διαμέσου της κυρίας όσο αυξάνεται η ενδοφθάλμια πίεση, σύμφωνα με τους νόμους της υδροδυναμικής. Η μεγαλύτερη αντίσταση στην εκροή του υδατοειδούς συναντάται στο πιο εξωτερικό τμήμα του σκληροκερατοειδικού ηθμού, όπου υπάρχουν πολλά στρώματα ενδοθηλιακών κυττάρων που παράγουν τη μεσοκυττάρια ουσία, που αποτελείται από ποικίλα μακρομόρια, όπως υαλουρονικό οξύ, ίνες κολλαγόνου και γλυκοπρωτεΐνες (21).

Η βάση της ίριδας καταφύεται στον ακτινωτό μυ μπροστά από τις ακτινοειδείς προβολές και πίσω από το σκληροκερατοειδικό ηθμό. Ο ακτινωτός μυς, επίσης, καταφύεται στο σκληροκερατοειδικό ηθμό. Η ενεργοποίηση χοληνεργικών μηχανισμών προκαλεί σύσπαση του ακτινωτού μυός και του σφικτήρα της ίριδος



Εικόνα 6. Σχηματική αναπαράσταση των προσθίων ημιμορίων του οφθαλμού και της πορείας του υδατοειδούς υγρού (βέλη) από την περιοχή παραγωγής (ακτινωτό σώμα) στην περιοχή απορροής (σκληροκερατοειδικός ηθμός)



Εικόνα 7. Ανατομία-Ιστολογία της γωνίας του προσθίου θαλάμου (σκληροκερατοειδικός ηθμός, κανάλι τουSchlemm) στο οπτικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 100) (μύση) η οποία αυξάνει τα μεσοδιαστήματα μεταξύ των στρωμάτων του σκληροκερατοειδικού ηθμού και συνεπώς μειώνει την αντίσταση εκροής και αυξάνει την απορροή του υδατοειδούς. Αντίθετα, οι αδρενεργικοί μηχανισμοί αυξάνουν της αντίσταση εκροής του σκληροκερατοειδικού ηθμού (21).

Η παρουσία μουσκαρινικών υποδοχέων και πρωτεϊνών λείων μυϊκών ινών στο σκληροκερατοειδικό ηθμό σημαίνει ενεργό συμμετοχή του στη ρύθμιση της απορροής του υδατοειδούς. Η σύσπαση των ινών αυτών προκαλεί αύξηση της αντίστασης εκροής (21).

Οι προσταγλανδίνες ενδογενείς και εξωγενείς αυξάνουν την απορροή του υδατοειδούς διαμέσω της ραγοειδοσκληρικής οδού (21).

1.7 Η ενδοφθάλμια πίεση και η μέτρησή της

Η ισορροπία μεταξύ παραγωγής και απορροής του υδατοειδούς υγρού ευθύνεται για την ενδοφθάλμια πίεση (IOP). Οι φυσιολογικές τιμές της IOP στο γενικό πληθυσμό κυμαίνονται μεταξύ 11mmHg και 21mmHg. Η τιμή 21 θεωρείται το ανώτερο φυσιολογικό όριο της IOP, αν και υπάρχουν γλαυκωματικοί ασθενείς με πίεση μικρότερη του 21 και αντίθετα μη γλαυκωματικοί με πίεση μεγαλύτερη του 21. Η IOP μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ημέρας, είναι συνήθως υψηλότερη το πρωί. Συστηματικοί παράγοντες όπως καρδιακός ρυθμός, αρτηριακή πίεση και αναπνοή επηρεάζουν την IOP (19).

Η μέτρηση της ΙΟΡ πραγματοποιείται με τα τονόμετρα. Το συνηθέστερα χρησιμοποιούμενο, και πλέον αξιόπιστο, τονόμετρο είναι το Goldmann (Haag-Streit) (εικόνα 8). Η μέτρηση αυτή πραγματοποιείται επί της σχισμοειδούς λυχνίας, υπό τοπική αναισθησία. Το τονόμετρο αυτό λειτουργεί με την αρχή της επιπέδωσης του κερατοειδούς, δηλαδή η κεφαλή του πιέζει και επιπεδώνει ένα μικρό τμήμα της επιφάνειας του κερατοειδούς. Η επάρκεια της επιπέδωσης ελέγχεται με τη σχισμοειδή λυχνία. Με ένα σύστημα από βαρίδια στο εσωτερικό του υπολογίζεται η δύναμη που χρειάζεται να ασκηθεί για να επιπεδωθεί επαρκώς ο κερατοειδής. Από τη δύναμη αυτή επάγεται η ΙΟΡ. Είναι κατανοητό, επομένως, ότι οι διαστάσεις και οι βιομηχανικές ιδιότητες του κερατοειδούς (πάχος, ελαστικότητα) επηρεάζουν τη μέτρηση της ΙΟΡ. Στην κλινική πράξη η παράμετρος που χρησιμοποιείται για τη "διόρθωση" της μέτρησης της ΙΟΡ με το τονόμετρο Goldmann είναι το πάχος του κερατοειδούς (υπερεκτιμά την ΙΟΡ σε κερατοειδείς παχύς και την υποεκτιμά σε λεπτούς) (19). Το τονόμετρο Goldman είναι καθ' όλα χειροκίνητο. Για αξιόπιστη μέτρηση ΙΟΡ είναι, επομένως, σημαντική η εξοικείωση του εξεταστή και η συνεργασία του ασθενούς. Τέλος, για τη σωστή λειτουργία του χρειάζεται ετήσια



Εικόνα 8. Τονόμετρο επιπέδωσης Goldmann.

Το TonoPen-XL (Medtronic Solan, Jacksonville, Florida) είναι ένα άλλο τονόμετρο επιπέδωσης (εικόνα 9). Σε αντίθεση με το Goldman, ο αισθητήρας πίεσης είναι ηλεκτρονικός. Ο μέσος όρος πολλών μετρήσεων IOP και η τυπική τους απόκλιση εμφανίζονται σε οθόνη υγρών κρυστάλλων. Τυπική απόκλιση μικρότερη του 5% υποδηλώνει αξιόπιστη μέτρηση. Το TonoPen-XL δεν χρειάζεται σχισμοειδή λυχνία, λειτουργεί με μπαταρίες και είναι μικρό και ελαφρύ. Η ρύθμισή του γίνεται επίσης ηλεκτρονικά. Η κεφαλή του, συγκριτικά με του Goldmann, έχει μικρότερη επιφάνεια (μισή διάμετρος), επιπεδώνει δηλαδή μικρότερη επιφάνεια κερατοειδούς και, κατά συνέπεια, επηρεάζεται λιγότερο από το πάχος, την ελαστικότητα και την καμπυλότητα του κερατοειδούς (19,22). Είναι πολύ ευαίσθητο σε στιγμιαίες μεταβολές της IOP, όπως αυτές που προκαλούνται από την κίνηση των βλεφάρων και την έμμεση πίεση του εξεταστή στο βολβό κατά τη διαδικασία της τονομέτρησης, χρειάζεται συνεπώς εξοικείωση στο χειρισμό του και συνεργασία του ασθενούς. Είναι (19,22,40).



Εικόνα 9. Φορητό ηλεκτρονικό τονόμετρο επιπέδωσης TonoPen-XL.

1.8 Γλαύκωμα: ορισμός, επιδημιολογία, παθοφυσιολογία, είδη

Το γλαύκωμα είναι μία από τις συχνότερες αιτίες τύφλωσης παγκοσμίως (23, 24). Πρόκειται για την προοδευτική μη αναστρέψιμη νέκρωση των ινών του οπτικού νεύρου, με συνέπεια την προοδευτική μείωση της όρασης. Η πάθηση αυτή είναι συχνά ασυμπτωματική, συνεπώς συχνά διαγιγνώσκεται καθυστερημένα, όταν έχει ήδη καταστραφεί μεγάλο μέρος του οπτικού νεύρου (23, 24). Η κατάσταση του οπτικού νεύρου μελετάται υποκειμενικά με τη βυθοσκόπηση και αντικειμενικά με την εξέταση των οπτικών πεδίων και με απεικονιστικές μεθόδους όπως το GDX (19).

Η παθοφυσιολογία της αύξησης της ΙΟΡ σχετίζεται με την ισορροπία παραγωγής - απορροής του υδατοειδούς υγρού. Συχνότερα σχετίζεται με συνθήκες μείωσης της απορροής, όπως ανωμαλίες στην εξωκυττάρια ουσία του σκληροκερατοειδικού ηθμού συγγενείς ή επίκτητες (κορτικοστεροειδή, σιδήρωση, χάλκωση), απόφραξη των οδών από κυτταρικά θραύσματα (λευκοκύτταρα και μακροφάγα σε συνθήκες φλεγμονής των προσθίων ημιμορίων, ερυθροκύτταρα, καρκινικά κύτταρα στο μελάνωμα της ίριδος) ή από χρωστική της ίριδος (γλαύκωμα από διασπορά χρωστικής) ή από διασπορά ινών του περιφακίου (ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα) ή από πρωτεΐνες του φακού στον υπερώριμο καταρράκτη (φακολυτικό γλαύκωμα) (19). Στις περισσότερες περιπτώσεις, όμως, το γλαύκωμα είναι αγνώστου αιτιολογίας και αναφέρεται γενικά ως "γλαύκωμα ανοιχτής γωνίας".

Για την παθοφυσιολογία της καταστροφής των νευρικών ινών υπάρχει η θεωρία της μηχανικής καταπόνησης της αξοπλασμικής κυκλοφορίας από την αυξημένη IOP (Quigley and Addicks) και η θεωρία της μείωσης της αιματικής κυκλοφορίας του οπτικού νεύρου και επομένως υποξίας και απόπτωσης των γαγγλιακών κυττάρων (Buus and Anderson). Το οπτικό νεύρο αιματώνεται από

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

τριχοειδικό δίκτυο που εκφύεται από τις βραχείες οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες, που είναι κλάδοι των οπίσθιων ακτινοειδών αρτηριών, που είναι κλάδοι της έσω καρωτίδας. Η τελευταία θεωρία ενισχύεται από την ιστολογική παρατήρηση ότι στα γλαυκωματικά οπτικά νεύρα υπάρχει μείωση του τριχοειδικού πλέγματος και από την πειραματική παρατήρηση ότι οι ανταγωνιστές των καναλιών ασβεστίου, που δρουν αγγειοδιασταλτικά, πιθανώς μειώνουν την ευαισθησία του οπτικού νεύρου στην αύξηση της IOP. Η αγγειακή θεωρία μπορεί επίσης να εξηγήσει την ταχύτερη καταστροφή των ινών του οπτικού νεύρου, ακόμη και σε συνθήκες χαμηλής IOP (γλαύκωμα χαμηλής IOP), σε ασθενείς με συστηματικές αγγειακές παθήσεις (19).

Υπάρχουν πολλά είδη γλαυκώματος, το συχνότερο είναι το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοιχτής γωνίας (POAG). Η επίπτωση του POAG αυξάνει με την ηλικία. Η κληρονομικότητα και η φυλή σχετίζονται επίσης με την εμφάνιση POAG. Παράδειγμα φυλής με αυξημένη επίπτωση είναι οι αφροαμερικανοί. Αν και η παθογένεια του POAG είναι πολυπαραγοντική, η αυξημένη IOP θεωρείται ο σημαντικότερος προδιαθεσικός παράγοντας, επομένως όλες οι σύγχρονες θεραπείες στοχεύουν στη μείωση της IOP. Αν και υπάρχουν γλαυκώματα χαμηλής πιέσεως και, αντίστροφα, περιπτώσεις υψηλής IOP χωρίς γλαύκωμα, το ανώτερο φυσιολογικό όριο της IOP εκτιμάται στο 21mmHg (19).

Λιγότερο συχνά κληρονομούμενα γλαυκώματα είναι το συγγενές γλαύκωμα, το γλαύκωμα από διασπορά χρωστικής και το ψευδοαποφολιδωτικό (PEX) γλαύκωμα. Το συγγενές γλαύκωμα σχετίζεται με συγγενή ανωμαλία στη δομή της γωνίας του προσθίου θαλάμου. Τα άλλα δύο σχετίζονται με την απόφραξη του σκληροκερατοειδικού ηθμού από κυτταρικά απόβλητα. Παρόμοιος μηχανισμός απαντάται στο γλαύκωμα από ενδοφθάλμια φλεγμονή, όπου η γωνία αποφράσσεται από λευκοκύτταρα και μακροφάγα (σύνδρομο Posner-Schlossman) (19).

31

Επίκτητες μορφές γλαυκώματος είναι το μετατραυματικό (τραυματισμός των δομών της γωνίας του προσθίου θαλάμου) και το νεοαγγειακό. Το τελευταίο σχετίζεται με συνθήκες αυξημένης υποξίας στον αμφιβληστροειδή, όπως στην παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, στη θρόμβωση κεντρικών αγγείων του αμφιβληστροειδούς και στη χρονίζουσα αποκόλληση του αμφιβληστροειδούς (19). Η μακροχρόνια υποξία προκαλεί τη μαζική νεοαγγείωση στον αμφιβληστροειδή, που εκτείνεται στις δομές της γωνίας του προσθίου θαλάμου και στην ίριδα, με αποτέλεσμα τη μεγάλη αύξηση της αντίστασης εκροής και την ανεξέλεγκτη αύξηση της ΙΟΡ (19). Μία ακόμα επίκτητη μορφή γλαυκώματος είναι η σχετιζόμενη με νεοπλασίες, όπως μελανώματα, ρετινοβλάστωμα και μεταστάσεις (19).

Υπάρχουν επίκτητα γλαυκώματα που σχετίζονται με ενδοβόλβιες επεμβάσεις, όπως το σιλικονικό γλαύκωμα και γλαύκωμα από παραμονή ιξωδοελαστικού στον πρόσθιο θάλαμο. Και στις δύο περιπτώσεις η αύξηση της ΙΟΡ προκαλείται από απόφραξη της γωνίας του προσθίου θαλάμου από μη απορροφήσιμο υλικό, είτε από γαλακτωματοποίηση της σιλικόνης που χρησιμοποιείται κατά την υαλοειδεκτομή για αποκόλληση αμφιβληστροειδούς, είτε από ιξωδοελαστικό που παρέμεινε μετά από επέμβαση καταρράκτη. Μία ακόμη επέμβαση που μπορεί να προκαλέσει γλαύκωμα λόγω αλλαγής της αρχιτεκτονικής της γωνίας είναι η ολικού πάχους μεταμόσχευση κερατοειδούς. Σπανιότερο αλλά πολύ επιθετικό είναι το γλαύκωμα από επιθηλιακή ή ινική επέκταση στον πρόσθιο θάλαμο, μετά από ενδοβόλβια επέμβαση ή τραυματισμό (19).

32



Εικόνα 10. Οπτικό πεδίο τύπου Humphrey, όπου διακρίνεται έκπτωση του άνω κροταφικού πεδίου (βέλη), από γλαυκωματική καταστροφή νευρικών ινών.



Εικόνα 11. Η κεφαλή του οπτικού νεύρου στη βυθοσκόπηση σε ασθενή με προχωρημένο γλαύκωμα. Έχει απομείνει ελάχιστος νευρικός ιστός (1) και διακρίνεται καθαρά η "lamina cribrosa" (2) ("μεγάλη κοίλανση οπτικής θηλής").

1.9 Φαρμακευτικές θεραπείες γλαυκώματος

Εκτός από λίγες περιπτώσεις όπου η θεραπεία του γλαυκώματος είναι αιτιολογική, όπως στο γλαύκωμα από ενδοφθάλμια φλεγμονή ή από κορτικοστεροειδή, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων η θεραπεία του γλαυκώματος στοχεύει στη μείωση της IOP (25).

Η τοπική φαρμακευτική θεραπεία είναι εξαιρετικής σημασίας καθώς δύναται σε πολλές περιπτώσεις να ελέγξει την ΙΟΡ και να επιβραδύνει σημαντικά την καταστροφή των νευρικών ινών, μειονεκτεί όμως ως προς το ότι απαιτεί συνεχή καθημερινή συμμόρφωση του ασθενούς και έχει και μεγάλο κόστος, ενώ δεν είναι αμελητέες οι τοπικές ή/και συστηματικές παρενέργειες και δυσανεξίες (25).

Υπάρχουν πολλές κατηγορίες φαρμάκων, η ισχυρότερη είναι οι προσταγλανδίνες, όπως λατανοπτόστη (Xalatan), βιματοπρόστη (Lumigan) και τραβοπρόστη (Travatan). Τα φάρμακα της κατηγορίας αυτής σχετίζονται με τοπική υπεραιμία και ανάπτυξη των βλεφαρίδων (25, 19).

Άλλη κατηγορία είναι οι β-αναστολείς, όπως βηταξολόλη (Betoptic) και τιμολόλη (Temserin), τα οποία λόγω μικρής αλλά υπαρκτής συστηματικής δράσης αντενδείκνυνται σε ασθενείς με καρδιακή αρρυθμία και πνευμονική νόσο (25,19).

Άλλη κατηγορία είναι οι α-αγωνιστές, όπως βριμονιδίνη (Alphagan) και απρακλονιδίνη (Iopidine) (25, 19).

Τα μυωτικά φάρμακα, όπως η πιλοκαρπίνη (Isoptocarpine), χρησιμοποιούνται σήμερα κυρίως στις περιπτώσεις στενής γωνίας προσθίου θαλάμου, προς αποφυγή οξέως γλαυκώματος στενής γωνίας, διότι προκαλούν δυσκολία στη νυχτερινή όραση (25, 19). Άλλη κατηγορία είναι αναστολείς της καρβονικής ανυδράσης, όπως βρινζολαμίδη (Azopt) και δορζολαμίδη (Trusopt) (25). Το αντίστοιχο φάρμακο για συστηματική χορήγηση (από το στόμα και παρεντερικά) είναι η ακεταζολαμίδη (Diamox), που είναι διουρητικό της αγκύλης και χρησιμοποιείται για σύντομο χρονικό διάστημα σε περιπτώσεις υψηλής IOP που δεν ελέγχεται με τοπική αγωγή, στο μεσοδιάστημα μέχρι την αντιγλαυκωματική επέμβαση (19). Ένα ακόμη συστηματικό φάρμακο, υπερωσμωτικό, που χορηγείται ενδοφλεβίως σε περιπτώσεις οξέως γλαυκώματος, είναι η μαννιτόλη (19).

Υπάρχουν τέλος οι σταθεροί τοπικοί συνδυασμοί, όπως δορζολαμίδη και τιμολόλη (Cosopt), λατανοπρόστη και τιμολόλη (Xalacom), βριμονιδίνη και τιμολόλη (Combigan) και άλλα. Στην κλινική πράξη η μέγιστη τοπική αντιγλαυκωματική αγωγή συνιστάται σε προσταγλανδίνη και β-αναστολέα και α-αγωνιστή και αναστολέα της καρβονικής ανυδράσης (25,19).

1.10 Επεμβατικές θεραπείες γλαυκώματος

Σε όλες τις περιπτώσεις που η τοπική αντιγλαυκωματική αγωγή ή/και οι laser θεραπείες αδυνατούν να ελέγζουν την ΙΟΡ, υπάρχει η επιλογή της ενδοβόλβιας επέμβασης. Η τραμπεκουλεκτομή είναι η συχνότερη αντιγλαυκωματική επέμβαση, και ανήκει στις συριγγοποιητικές επεμβάσεις. Στηρίζεται στο σχηματισμό συριγγίου που επιτρέπει την εκροή υδατοειδούς υγρού από τον πρόσθιο θάλαμο προς τον υποτενόνιο χώρο. Το συρίγγιο "προστατεύεται" και περιορίζεται από σκληρικό κρημνό (19). Είναι επέμβαση γενικά αποτελεσματική και καλά δοκιμασμένη, αλλά, όπως κάθε ενδοβόλβια επέμβαση, δύναται να συνοδευτεί από σοβαρές επιπλοκές (26), η σοβαρότερη των οποίων είναι η ενδοφθαλμίτιδα. Άλλες, μη συριγγοποιητικές αντιγλαυκωματικές επεμβάσεις, όπως η εν τω βάθει σκληρεκτομή και η βισκοκαναλοστομία, είναι λιγότερο αποτελεσματικές και σπανιότερα εφαρμοζόμενες (19).

Η ένθεση αντιγλαυκωματικής βαλβίδας είναι αρκετά αποτελεσματική επέμβαση, που εφαρμόζεται συνήθως σε ανθεκτικά γλαυκώματα, όπου άλλες επεμβάσεις έχουν αποτύχει. Στηρίζεται στην επικοινωνία του προσθίου θαλάμου με τον υποτενόνιο χώρο με τη βοήθεια σωληναρίου σιλικόνης και την ελεγχόμενη εκροή υδατοειδούς. Οι βαλβίδες είναι γενικά εύκολες στην τοποθέτηση και αποτελεσματικές, εκτός όμως από την πιθανότητα σοβαρών επιπλοκών όπως σε κάθε ενδοβόλβια επέμβαση, σχετίζονται μακροπρόθεσμα με μείωση των ενδοθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς και συνεπώς φυσαλιδώδη κερατοπάθεια (27, 28).

1.11 Θεραπείες για το γλαύκωμα με laser

Οι θεραπείες με laser εφαρμόζονται συνήθως όπου αποτυγχάνει η τοπική αγωγή. Σε ειδικές περιπτώσεις, όπως σε στενό πρόσθιο θάλαμο ή/και στενή γωνία, η ιριδεκτομή με laser είναι θεραπεία πρώτης επιλογής, για την πρόληψη οξέως γλαυκώματος κλειστής γωνίας.

Άλλες θεραπείες με laser είναι η τραμπεκουλοπλαστική με argon laser (ALT) και η επιλεκτική τραμπεκουλοπλαστική (SLT) με ND:YAG laser. Και οι δύο τεχνικές στηρίζονται στην αύξηση της απορροής του υδατοειδούς από το σκληροκερατοειδικό ηθμό. Το αποτέλεσμα τους, όμως δεν είναι πάντα προβλέψιμο, η μακροπρόθεσμη αποτελεσματικότητα είναι περιορισμένη, ενώ συχνά προκαλούν σημαντική αύξηση της IOP τον πρώτο μήνα μετά την επέμβαση (29).

36
1.12 Κυκλοκαταστοφή

Οι επεμβάσεις κυκλοκαταστροφής στηρίζονται στη μείωση της παραγωγής του υδατοειδούς υγρού μέσω της καταστροφής (ατροφία, ουλοποίηση) σημαντικού αριθμού ακτινοειδών προβολών. Είναι οι παλιότερες, ίσως, αντιγλαυκωματικές επεμβάσεις, ξεκίνησαν το 1933 με τη κυκλοδιαθερμία, το 1950 εφαρμόστηκε για πρώτη φορά η κυκλοκρυοπηξία, το 1971 η κυκλοκαταστοφή με laser. Σήμερα χρησιμοποιούνται ακόμη η κυκλοκαταστροφή με διοδικό laser στα 810nm μήκους κύματος και με Nd:YAG laser στα 1064nm μήκους κύματος καθώς και η κυκλοκρυοπηξία (30, 31, 32).

Οι ακτινοειδείς προβολές περιέχουν πολλές νευρικές απολήξεις, επομένως οι τεχνικές αυτές είναι επώδυνες και εφαρμόζονται υπό τοπική οπισθοβόλβια αναισθησία. Επίσης, λόγω του υψηλού ποσοστού επιπλοκών, συμπεριλαμβανόμενων της ανεξέλεγκτης μείωσης της ΕΟΠ και της φθίσης του βολβού, οι επεμβάσεις αυτές περιορίζονται για επιθετικές μορφές γλαυκωμάτων ανθεκτικών σε άλλες θεραπείες (19).

Τα τελευταία έτη εφαρμόζεται μία νέα μέθοδος, η ενδοσκοπική κυκλοκαταστροφή με laser. Η τεχνική αυτή στηρίζεται στην απευθείας προσέγγιση και καταστροφή των ακτινοειδών προβολών ενδοσκοπικά είτε από κερατοειδική είτε από σκληρική τομή. Αν και η μέθοδος αυτή είναι αποτελεσματικότερη και με λιγότερες επιπλοκές σε σχέση με τις διασκληρικές μεθόδους κυκλοκαταστροφής, έχουν δημοσιευτεί περιπτώσεις ανεξέλεγκτης ΕΟΠ μετά την επέμβαση και σοβαρές επιπλοκές όπως φθίση βολβού (33, 34). Επίσης, η μέθοδος αντιμετωπίζει την πιθανότητα σοβαρών επιπλοκών κάθε ενδοβόλβιας επέμβασης.

1.13 Διασκληρική φωτοδυναμική θεραπεία ακτινωτού: ιστορική αναδρομή

Η πρώτη δημοσιευμένη CBPDT συναντάται το 1995 από τους Hill και συνεργάτες (35) του πανεπιστημίου της Καλιφόρνια, ΗΠΑ. Στη μελέτη αυτή έγινε σύγκριση της CBPDT με chloroaluminum sulfonated φθαλοκυανίνη (CASPc) ή φωτοφρίνη (PII) σε κουνέλια με τη laser κυκλοκαταστροφή με Nd:YAG. Για τη σύγκριση των μεθόδων έγινε φλουοραγγειογραφία προσθίων ημιμορίων, η οποία έδειξε έντονο οίδημα, έμφραγμα και νέκρωση στο ακτινωτό σώμα μόνο μετά από laser κυκλοκαταστροφή. Η μελέτη αυτή συμπέρανε ότι η CBPDT είναι εν δυνάμει εκλεκτική μέθοδος κυκλοκαταστροφής.

Ένα χρόνο μετά, το 1996, η ίδια ερευνητική ομάδα δημοσίευσε μελέτη CBPDT με ναφθαλοκυανίνη (SINc) σε κουνέλια (36). Και αυτή η μελέτη έδειξε την εκλεκτικότητα της μεθόδου, αφού υπήρξε εντοπισμένη καταστροφή των ακτινοειδών προβολών στα σημεία ακτινοβόλησης των πειραματικών οφθαλμών, ενώ απουσίαζαν σημαντικές θερμικές βλάβες στις ακτινοειδείς προβολές στους οφθαλμούς ελέγχου.

Το 1997 δημοσιεύτηκε η πρώτη μελέτη για CBPDT με φθαλοκυανίνη σε λευκά κουνέλια (albino) από τους Τσιλιμπάρη MK και συνεργάτες του Πανεπιστημίου Κρήτης (37). Για πρώτη φορά στη μελέτη αυτή μετρήθηκε η IOP και το αποτέλεσμα ήταν σημαντική μείωση της IOP διάρκειας 2 εβδομάδων μετά από CBPDT. Η ιστολογικές εξετάσεις των κουνελιών της μελέτης αυτής επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα των προηγούμενων μελετών.

Την ίδια χρονιά δημοσιεύτηκε νέα μελέτη των Hill και συνεργατών για CBPDT με 2 διαφορετικούς φωτοευαισθητοποιητές, το "tin ethyl etiopurpurin" και το "tin octaethyl benzochlorin" σε έγχρωμα κουνέλια (38). Η μελέτη αυτή έδειξε εκλεκτική

βλάβη μόνο του χρωστικοφόρου επιθηλίου του ακτινωτού σώματος. Η μελέτη αυτή ήταν η τελευταία για CBPDT των Hill και συνεργατών.

Η επόμενη μελέτη για CBPDT με φθαλοκυανίνη, με έγχρωμα κουνέλια, προέρχεται ξανά από τους Τσιλιμπάρη MK και συνεργάτες, το έτος 2000 (39). Η μελέτη αυτή έδειξε μείωση της IOP διάρκειας ξανά 2 εβδομάδων μετά από 1 συνεδρία CBPDT και 4 συνολικά εβδομάδων μετά από 2 συνεδρίες CBPDT (η δεύτερη έγινε την 13η ημέρα). Οι ιστολογικές εξετάσεις έδειξαν υποστροφή των αλλοιώσεων στις ακτινοειδείς προβολές 15 ημέρες μετά από CBPDT, ακόμη και μετά τη 2η συνεδρία. Εξήχθη το συμπέρασμα ότι η CBPDT με φθαλοκυανίνη προκαλεί βραχυπρόθεσμη μείωση της IOP, οφειλόμενη σε αναστρέψιμες αλλοιώσεις των ακτινοειδών προβολών.

Το ίδιο έτος (2000), όταν ο φωτοευαισθητοποιητής verteporfin έλαβε έγκριση για χρήση στον άνθρωπο για PDT για την υγρή ωχροπάθεια, δημιουργήθηκαν ελπίδες για εφαρμογή της CBPDT στον άνθρωπο. Είναι αυτό ακριβώς το αντικείμενο του κλινικού μέρους της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Προηγείται το πειραματικό μέρος, όπου μελετάται η ασφάλεια CBPDT με verteporfin σε πειραματόζωα (έγχρωμα κουνέλια) και προσδιορίζονται οι βέλτιστες ρυθμίσεις των παραμέτρων (τρόπος χορήγησης και δοσολογία του verteporfin, ισχύς, χρόνος και αριθμός εφαρμογών διασκληρικής ακτινοβόλησης).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή μελετά τη δυνατότητα εφαρμογής της διασκληρικής φωτοδυναμικής θεραπείας του ακτινωτού σώματος με verteporfin (CBPDT) για τη μείωση της ενδοφθάλμιας πίεσης (IOP). Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν 4 πειράματα με έγχρωμα κουνέλια, για τον προσδιορισμό των παραμέτρων ακτινοβόλησης και των συνθηκών ασφαλείας, και στη συνέχεια 2 κλινικές μελέτες, σε γλαυκωματικούς ασθενείς.

Αναλυτικότερα, στο πρώτο πείραμα (σελ. 41-43) επιβεβαιώθηκε η αξιοπιστία του τονομέτρου TonoPen-XL, με το οποίο μετρήθηκαν οι IOP στα πειραματόζωα. Στο δεύτερο πείραμα (σελ. 44-56) εφαρμόστηκε η CBPDT σε έγχρωμα κουνέλια και προσδιορίστηκαν οι βέλτιστοι παράμετροι δοσολογίας του φαρμάκου και ακτινοβόλησης. Στο τρίτο πείραμα (σελ. 57-71) μελετήθηκε η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της μεθόδου με 4 διαδοχικές επαναλήψεις CBPDT στον ίδιο οφθαλμό κουνελιού. Στο τέταρτο πείραμα (σελ. 72-75) έγινε σύγκριση της αποτελεσματικότητας της μεθόδου με μία παραπλήσια αντιγλαυκωματική θεραπεία, την κυκλοκαταστοφή.

Στην πρώτη κλινική μελέτη (σελ. 76-85) έγινε προσπάθεια εφαρμογής της CBPDT στον άνθρωπο, σε ασθενείς με ανθεκτικά γλαυκώματα και τυφλούς οφθαλμούς, και επαναρρύθμιση των παραμέτρων ακτινοβόλησης. Στη δεύτερη, τέλος, κλινική μελέτη (σελ. 86-94) έγινε προσπάθεια μείωσης του συνολικού χρόνου θεραπείας και αύξησης της αποτελεσματικότητας, με ταυτόχρονη ακτινοβόληση περισσότερων της μιας θέσεων του ακτινωτού σώματος.

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΠΕΙΡΑΜΑ 1 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΙΟΡ ΜΕ ΤΟΝΟΡΕΝ-ΧL ΣΕ ΚΟΥΝΕΛΙΑ

2.1 Σκοπός

Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η CBPDT προκαλεί εκλεκτική καταστροφή του ακτινωτού σώματος, που συνεπάγεται βραχυπρόθεσμη μείωση της IOP (37,39,43). Καθώς ο έλεγχος της IOP είναι το ζητούμενο στη θεραπεία του γλαυκώματος, οι ακριβείς μετρήσεις IOP σε οφθαλμούς κουνελιών μετά από CBPDT έχουν μεγάλη σημασία στην παρούσα διατριβή. Για το λόγο αυτό, το πείραμα 1 αφορά στην αξιολόγηση της αξιοπιστίας των μετρήσεων IOP με TonoPen-XL (εικόνα 9) σε οφθαλμούς έγχρωμων κουνελιών. Είναι ήδη γνωστό ότι το TonoPen-XL (εικόνα 9) είναι τονόμετρο επιπέδωσης φορητό, αξιόπιστο, επηρεάζεται ελάχιστα από το πάχος του κερατοειδούς (22) και εύκολο στη χρήση για μετρήσεις IOP σε ανθρώπινο οφθαλμό. Είναι επίσης αξιόπιστο για μετρήσεις IOP σε οφθαλμούς λευκών κουνελιών Νέας Ζηλανδίας (40).

2.2 Μεθοδολογία

Χρησιμοποιήθηκαν 10 κουνέλια. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν υπό γενική αναισθησία, με υποδόρια ένεση xylazine hydrochloride σε δόση 10mg/kg και ketamine hydrochloride επίσης 10mg/kg. Ο χειρισμός των πειραματόζωων ήταν σύμφωνος με τη "διακήρυξη του ARVO για τη χρήση πειραματόζωων για οφθαλμολογική έρευνα".

Στο πείραμα αυτό έγινε σύγκριση των μετρήσεων IOP του TonoPen-XL με τις αντίστοιχες μανομετρικές IOP στον ίδιο οφθαλμό κουνελιού. Αρχικά εισήχθη στον πρόσθιο θάλαμο η βελόνα φλεβοκαθετήρα 22 gauge, ο οποίος ήταν συνδεδεμένος σε οροστήλη με φυσιολογικό ορό, και σε αισθητήρα διαφορικής πίεσης (0–5 psi, 1-ms response time; model 286–686; RS Components, Ltd., Taipei, Taiwan). Ο αισθητήρας ήταν συνδεδεμένος με ενισχυτή σήματος και με μετατροπέα A/D 12-bit. Με διακομιστή δεδομένων (RS-232; RS Components, Ltd) ήταν δυνατή η σύνδεση με υπολογιστή για την καταγραφή των μετρήσεων IOP (1 μέτρηση ανά 0,15sec).

Υψώνοντας σταδιακά τον ορό, έγινε δυνατή η αύξηση της μανομετρικής IOP από 10 έως 70mmHg, με βήματα των 10mmHg. Για κάθε επίπεδο μανομετρικής IOP, γινόταν ταυτόχρονα στον ίδιο οφθαλμό 8 μετρήσεις με TonoPen-XL (επίπεδο αξιοπιστίας 5%) και καταγραφή τους (εικόνα 12). Απορρίφθηκαν οι ανώτερη και η κατώτερη τιμή και από τις υπόλοιπες 6 μετρήσεις εξήχθη ο μέσος όρος, ο οποίος συγκρίθηκε με την αντίστοιχη μανομετρική IOP.



Εικόνα 12. Πειραματική διάταξη για τη σύγκριση των μετρήσεων ΙΟΡ με TonoPen-XL με μανομετρικές μετρήσεις ΙΟΡ με καθετήρα στον πρόσθιο θάλαμο.

2.3 Αποτελέσματα

Η ανάλυση με γραμμική παλινδρόμηση έδειξε ότι οι μετρήσεις ΙΟΡ με το TonoPen-XL είναι αξιόπιστες για τιμές μεταξύ 10mmHg και 70mmHg (R2=0,9855) αλλά ελαφρά υποεκτιμημένες συγκριτικά με τη μανομετρική ΙΟΡ (εικόνα 13). Οι μετρήσεις ΙΟΡ με το TonoPen-XL διορθώνονται με τη χρήση του μαθηματικού τύπου: Real IOP = 1.3472*TONO-PEN-7.0333 [mmHg].

Για χαμηλές IOP, κάτω του 30mmHg, η απόκλιση είναι μικρή και πρακτικά η μέτρηση με το TonoPen-XL συμπίπτει με την αληθινή (μανομετρική) IOP.



Σύγκριση TonoPen-XL με μανόμερικές μετρήσεις IOP

Εικόνα 13. Διάγραμμα των μέσων τιμών των μετρήσεων ΙΟΡ με το TonoPen-XL και των αντίστοιχων μανομετρικών. Το TonoPen-XL είναι αξιόπιστο για μετρήσεις ΙΟΡ σε οφθαλμούς κουνελιών, υποεκτιμά, όμως, ελαφρά την ΙΟΡ.

2.4 Συμπέρασμα

Με το πείραμα αυτό, το οποίο δεν είναι αυτοτελές, αλλά τμήμα μεγαλύτερης μελέτης (41), επιβεβαιώθηκε η αξιοπιστία του τονόμετρου TonoPen-XL για μετρήσεις IOP σε οφθαλμούς έγχρωμων κουνελιών. Για τα επόμενα πειράματα, επομένως, χρησιμοποιήθηκε το τονόμετρο αυτό.

3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΠΕΙΡΑΜΑ 2 CBPDT ΣΕ ΕΓΧΡΩΜΑ ΚΟΥΝΕΛΙΑ

3.1 Σκοπός

Σε προηγούμενες μελέτες, μεταξύ 1995 και 2000, οι Hill και συνεργάτες (35,36,38) και οι Τσιλιμπάρης MK και συνεργάτες (37,39) έδειξαν ότι η CBPDT με φωτοευαισθητοποιητές δεύτερης γενεάς όπως η φθαλοκυανίνη, έχει ως αποτέλεσμα χαρακτηριστικές αλλοιώσεις στην ιστολογία των ακτινοειδών προβολών (οίδημα με διαχωρισμό των 2 επιθηλιακών στρωμάτων των ακτινοειδών προβολών, θρόμβωση σε πολλά αγγεία και στάση αίματος σε άλλα) με τελικό αποτέλεσμα τη βραχυπρόθεσμη μείωση της IOP.

Σκοπός του πειράματος 2 είναι η μελέτη της CBPDT με verteporfin σε έγχρωμα κουνέλια, για τον καθορισμό των βέλτιστων παραμέτρων χορήγησης φαρμάκου και ακτινοβόλησης και η εκτίμηση του αποτελέσματός της στην IOP.

3.2 Μεθοδολογία

3.1.1 Πειραματόζωα

Για τη CBPDT με verteporfin χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 40 έγχρωμα κουνέλια βάρους από 2,5Kg έως 3,5Kg. Ο χειρισμός των πειραματόζωων ήταν σύμφωνος με τη "διακήρυξη του ARVO για τη χρήση πειραματόζωων για οφθαλμολογική έρευνα". Όλες οι επεμβάσεις και μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν υπό γενική αναισθησία, με υποδόρια ένεση xylazine hydrochloride σε δόση 10mg/kg και ketamine hydrochloride σε δόση επίσης 10mg/kg. Συμπλήρωμα αναισθητικού

χορηγήθηκε κατά τη διάρκεια του πειράματος, όπου ήταν απαραίτητο. Όλα τα πειραματόζωα θυσιάστηκαν με ενδοκάρδια χορήγηση pentobarbital sodium.

3.2.2 Φωτοευαισθητοποιητής και διασκληρική laser ακτινοβόληση

Το verteporfin χορηγήθηκε ενδοφλεβίως εφάπαξ, από την φλέβα στο αυτί του κουνελιού, σε δοσολογία από 0,375mg/Kg έως 2mg/Kg (πίνακας 1). Για την ενεργοποίησή του χρησιμοποιήθηκε το διοδικό laser "Visulas" (Carl Zeizz Meditec) (εικόνα 14), που είναι το ίδιο που χρησιμοποιείται και για τη φωτοδυναμική θεραπεία για την ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς υγρούς τύπου, και εκπέμπει σε μήκος κύματος 689nm. Για την ακτινοβόληση χρησιμοποιήθηκε οπτική ίνα 100μm πυρήνα (Endoprobe 810nm, Iridex Corporation), η οποία έχει μεταλλικό άκρο και πλαστική λαβή (εικόνα 15). Για την ακριβή μέτρηση της ισχύος στο άκρο της οπτικής ίνας χρησιμοποιήθηκε ο μετρητής ισχύος Laser "Lasermate" (εικόνα 16).

Για την ακτινοβόληση, τα βλέφαρα διατηρήθηκαν ανοιχτά με βλεφαροδιαστολέα. Το άκρο της οπτικής ίνας ακουμπούσε, πάνω στον επιπεφυκότα-σκληρό με ελαφρά πίεση, 0,5mm πίσω από το σκληροκερατοειδικό όριο με φορά προς το ακτινωτό σώμα (εικόνα 16) και η κάθε εφαρμογή από την επόμενη απείχε 2mm. Η διάρκεια της ακτινοβόλησης ήταν από 1min έως 5min (πίνακας 1). Η ισχύς ακτινοβόλησης ήταν από 10mW έως 70mW (πίνακας 1).

Στα κουνέλια 1-30 ο αριστερός οφθαλμός (οφθαλμός ελέγχου) ακτινοβολήθηκε πριν την έγχυση verteporfin με 3 εφαρμογές στη 12η ώρα, ενώ η ακτινοβόληση του δεξιού οφθαλμού (πειραματικός οφθαλμός) ξεκίνησε 1min μετά το τέλος της έγχυσης του verteporfin, με την ίδια ισχύ laser, χρόνο, αριθμό και θέση εφαρμογών. Τα κουνέλια αυτά θυσιάστηκαν 24h μετά την ακτινοβόληση. Σκοπός ήταν η ιστολογική σύγκριση της ακτινοβοληθείσας περιοχής του ακτινωτού σώματος χωρίς verteporfin (θερμικές αλλοιώσεις) με την αντίστοιχη με verteporin (φωτοδυναμικές + θερμικές αλλοιώσεις). Η σύγκριση αυτή ήταν απαραίτητη για τον καθορισμό της βέλτιστης ισχύος laser και χρόνου εφαρμογής, ώστε να υπάρχουν επαρκείς φωτοδυναμικές αλλοιώσεις με τις ελάχιστες το δυνατόν θερμικές.

Στα κουνέλια 31-40 ακτινοβολήθηκε μόνο ο δεξιός οφθαλμός με 7 εφαρμογές, στις ανώτερες ώρες. Η ακτινοβόληση ξεκίνησε 1min μετά το τέλος της εφάπαξ έγχυσης του verteporfin. Για τον καθορισμό των παραμέτρων ακτινοβόλησης, χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα των προηγούμενων κουνελιών. Σκοπός ήταν η μελέτη της αποτελεσματικότητας στη μείωση της IOP.



Εικόνα 14. Διοδικό laser "Visulas" (Carl Zeiss Meditec), 689nm μήκους κύματος, που χρησιμοποιείται για τη φωτοδυναμική θεραπεία στην ωχροπάθεια υγρού τύπου.



Εικόνα 15. Διασκληρική ακτινοβόληση του ακτινωτού σώματος με οπτική ίνα 100μm πυρήνα (Endoprobe 810nm, Iridex Corporation).



Εικόνα 16. Μετρητής ισχύος laser "Lasermate". Χρησιμοποιήθηκε για την ακριβή μέτρηση της ισχύος στο άκρο της οπτικής ίνας.



Εικόνα 17. Φωτογραφία οφθαλμού κουνελιού, εγκάρσια τομή, ύστερα από μονιμοποίηση σε γλουταραλδεΰδη. Το βέλος δείχνει το σημείο (0,5mm πίσω από το σκληροκερατοειδικό όριο) και τη φορά της ακτινοβόλησης.

Σε όλα τα πειραματόζωα, μετά τη CBPDT χορηγήθηκε τοπική αγωγή με οφθαλμική αλοιφή τομπραμυκίνης (Tobradex, Alcon) 2 φορές/ημέρα για 3 ημέρες.

3.2.3 Ιστολογική εξέταση και μετρήσεις ΙΟΡ

Τα πειραματόζωα 1-30 θυσιάστηκαν 24h μετά τη CBPDT, έγινε εξόρυξη των οφθαλμών τους και ιστολογική εξέταση. Πριν την εξόρυξη τοποθετήθηκε ράμμα-

οδηγός στη 12η ώρα, για σημάδεμα του κέντρου του τόξου ακτινοβόλησης. Μετά την εξόρυξη οι οφθαλμοί τοποθετήθηκαν για μονιμοποίηση σε διάλυμα γλουταραλδεΰδης 2,5% σε 0.1 M cacodylate buffer (ph 7.3) στο ψυγείο (4°C) για τουλάχιστον 24h. Στη συνέχεια οι οφθαλμοί τεμαχίστηκαν στον ισημερινό και το υαλοειδές και ο φακός αφαιρέθηκαν προσεκτικά. Το ακτινωτό σώμα αποκολλήθηκε προσεκτικά από το σκληρό και τεμαχίστηκε. Ακολούθως, τα δείγματα της ακτινοβολημένης περιοχής του

ακτινωτού σώματος τοποθετήθηκαν σε διάλυμα osmium tetroxide, αφυδατώθηκαν και στερεοποιήθηκαν σε epoxy resin. Ακολούθησε τεμαχισμός των δειγμάτων αυτών σε τεμάχια 1-2μm πάχους, βαφή τριχρωματική και παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο.

Σε επιλεγμένα δείγματα έγινε εξέταση και στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, βάσει των κανονικών τεχνικών προετοιμασίας και εξέτασης. Τα τεμάχια για εξέταση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο βάφηκαν με οξικό ουρανίλιο και κιτρικός μόλυβδος.

Στα πειραματόζωα 31-40 έγιναν καθημερινή μέτρηση της ΙΟΡ, υπό γενική αναισθησία, μισή δόση, με το τονόμετρο TonoPen-XL (εικόνα 9). Προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι το τονόμετρο αυτό είναι πολύ ακριβές και ευαίσθητο για μετρήσεις ΙΟΡ σε κουνέλια (πείραμα 1, 41). Για κάθε οφθαλμό έγιναν 5 μετρήσεις και υπολογίστηκε η μέση τιμή. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με t-test ζεύγους τιμών και θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό P<0,05. Παράλληλα με της μετρήσεις της ΙΟΡ έγινε καθημερινή βιομικροσκόπηση, με έμμεσο οφθαλμοσκόπιο, των προσθίων ημιμορίων και του βυθού, για τον έλεγχο τυχόν επιπλοκών. Η παρακολούθηση τους διήρκεσε όσο υπήρχε διαφορά στη μέτρηση της ΙΟΡ μεταξύ δεξιού (ακτινοβολημένου) και αριστερού (μη ακτινοβολημένου) οφθαλμού. Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης τα πειραματόζωα βρισκόταν στο ζωοτροφείο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου.

Αριθμός	Δόση verteporfin	Ισχύς laser	Χρόνος ανά
πειραματόζωου	(mg/kg)	(mW)	εφαρμογή (min)
1-4	0.375	10	5
5-8	2	10	5
9-11	2	15	5
12-14	2	35	5
15-16	2	70	5
17-18	1	70	5
19-21	1	35	5
22-24	1	25	1
25-30	1	25	3
31-35	1	35	3
36-40	1	25	3

Πίνακας 1. Παράμετροι ακτινοβόλησης των κουνελιών του πειράματος 1. Τα πρώτα 30 κουνέλια χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό των βέλτιστων παραμέτρων δόσης verteporfin - ισχύος laser - χρόνου ακτινοβόλησης της CBPDT, ενώ. τα επόμενα 10 για τη μελέτη της αποτελεσματικότητας της στη μείωση της IOP.

3.3 Αποτελέσματα

3.3.1 Αποτελέσματα ιστολογικής εξέτασης

Τα πειραματόζωα 1-4 ακτινοβολήθηκαν με μικρή δόση verteporfin, μικρή ισχύ laser (10μmW) και μεγάλο χρόνο (5min). Τόσο στον πειραματικό όσο και στον οφθαλμό ελέγχου δεν παρατηρήθηκαν ιστολογικές αλλοιώσεις 24h μετά την ακτινοβόληση. Στα πειραματόζωα 5-8 αυξήθηκε η δόση του verteporfin στα 2mg/Kg. Και σε αυτά δεν παρατηρήθηκαν ιστολογικές αλλοιώσεις του ακτινωτού σώματος. Στα πειραματόζωα 9-11 αυξήθηκε και η ισχύς laser στα 15mW, αλλά ξανά δεν παρατηρήθηκαν ιστολογικές του ακτινωτού.

Τα πειραματόζωα 12-14 ακτινοβολήθηκαν με δόση verteporfin 2mg/Kg, 35mW ισχύ laser και 5min χρόνο ανά εφαρμογή. Η ιστολογική εξέταση έδειξε οίδημα ακτινωτού σώματος και θρόμβωση αγγείων τόσο στους πειραματικούς όσο και στους οφθαλμούς ελέγχου. Παρατηρήθηκε επίσης εκτεταμένη εξαγγείωση ερυθροκυττάρων, που υποδηλώνει καταστροφή των αγγείων και θερμική βλάβη (εικόνα 18). Για την επιβεβαίωση των παραπάνω ευρημάτων θερμικής βλάβης, στα πειραματόζωα 15-18 αυξήθηκε η ισχύς στα 70mW και η ιστολογική εξέταση έδειξε πράγματι εντονότερη θερμική βλάβη.



Εικόνα 18. Ασπρόμαυρη φωτογραφία ακτινοειδούς προβολής (οπτικό μικροσκόπιο, μεγέθυνση 200) 24h ύστερα από CBPDT με verteporfin 2mg/Kg, 35mWatt και 5min ανά εφαρμογή. Οι αστερίσκοι δείχνουν οίδημα, τα "t" θρομβωμένα αγγεία και τα "bc" είναι ερυθροκύτταρα εξαγγειωμένα, ευρήματα χαρακτηριστικά θερμικής βλάβης.

Στα πειραματόζωα 19-21 η δόση verteporfin μειώθηκε στο 1mg/Kg και η ισχύς laser μειώθηκε στα 35mW, ενώ ο χρόνος ακτινοβόλησης διατηρήθηκε στα 5min ανά εφαρμογή. Η ιστολογική εξέταση έδειξε σαφώς μικρότερες αλλοιώσεις του ακτινωτού σώματος στους οφθαλμούς ελέγχου σε σχέση με τους πειραματικούς. Στα πειραματόζωα 22-24 διατηρήθηκε σταθερή η δόση verteporfin στο 1mg/Kg, ενώ μειώθηκε και η ισχύς laser στα 25mW και ο χρόνος ακτινοβόλησης σώματος μόνο στους πειραματικούς.



Εικόνα 19. Ασπρόμαυρη φωτογραφία ακτινοειδούς προβολής (οπτικό μικροσκόπιο, μεγέθυνση 200) 24h ύστερα από CBPDT με verteporfin 1mg/Kg, 25mWatt και 3min ανά εφαρμογή. Ο αστερίσκος δείχνει οίδημα μεταξύ των επιθηλιακών στρωμάτων και τα "t" θρομβωμένα αγγεία, ευρήματα χαρακτηριστικά της CBPDT.

Τα αποτελέσματα των προηγούμενων 2 ρυθμίσεων έδειξαν ότι οι βέλτιστες ρυθμίσεις είναι κάπου στη μέση, επομένως τα κουνέλια 25-30 έλαβαν verteporfin 1mg/Kg, ισχύ 25mW και 3min ανά εφαρμογή. Η ιστολογική τους εξέταση έδειξε στους πειραματικούς οφθαλμούς θρόμβωση αγγείων και οίδημα ανάμεσα στα επιθηλιακά στρώματα (εικόνα 19), χαρακτηριστικά της CBPDT (37,39). Οι ακτινοειδείς προβολές που δεν ακτινοβολήθηκαν και αυτές των οφθαλμών ελέγχου ήταν αναλλοίωτες.



Εικόνα 20. Ασπρόμαυρη φωτογραφία τμήματος ακτινοειδούς προβολής (ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, μεγέθυνση 3000) 24h μετά από CBPDT με verteporfin 1mg/Kg, 25mWatt και 3min ανά εφαρμογή. Οι αστερίσκοι δείχνουν οίδημα μεταξύ των επιθηλιακών στρωμάτων και τα "ν" κυστικούς χώρους στα επιθηλιακά κύτταρα. Η διάταξη των ινών κολλαγόνου "cf" δείχνει ήπια θερμική βλάβη.

Η εξέταση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο των ακτινοβοληθέντων περιοχών των πειραματικών οφθαλμών των πειραματόζωων 25-30 έδειξε εμφάνιση κυστικών χώρων μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα και αλλοιώσεων των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων όπου θρόμβωση (εικόνα 20). Ξανά, δεν παρατηρήθηκαν αλλοιώσεις στους οφθαλμούς ελέγχου.

3.3.2 Αποτελέσματα μετρήσεων IOP

Βάσει των προηγούμενων αποτελεσμάτων, θεωρήθηκε μικρή η πιθανότητα η ακτινοβόληση χωρίς verteporfin με τις παρακάτω ρυθμίσεις να προκαλεί μεταβολή της ΙΟΡ. Για το λόγο αυτό, στα πειραματόζωα 31-35 ακτινοβολήθηκε μόνο ο δεξιός οφθαλμός (πειραματικός) με ισχύ 35mW και χρόνο 3min ανά εφαρμογή επί 7 εφαρμογές, ύστερα από ενδοφλέβια εφάπαξ έγχυση verteporfin 1mg/Kg. Στα πειραματόζωα 36-40 η δόση verteporfin και ο χρόνος ακτινοβόλησης παρέμειναν αμετάβλητα, ενώ η ισχύς του laser μειώθηκε στα 25mW. Οι ρυθμίσεις αυτές προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση της ΙΟΡ εμφανή 24h μετά τη θεραπεία, κατά μέσο όρο 2,2mmHg±1,2, με μέγιστη μείωση κατά 3mmHg±1,1, διάρκειας 6 ημερών στα πειραματόζωα 31-35 (εικόνα 21A). Στα πειραματόζωα 36-40 η μείωση της ΙΟΡ ήταν επίσης εμφανή 24h μετά τη θεραπεία, κατά μέσο όρο 1,8mmHg±1,2, με μέγιστη μείωση κατά 2,5mmHg±1,5 και διάρκεια 4 ημέρες (εικόνα 21B).

Η βιομικροσκόπηση των προσθίων μορίων των πειραματικών οφθαλμών των πειραματόζωων 31-40 έδειξε ήπιο οίδημα βλεφάρων και χήμωση του επιπεφυκότα τις πρώτες 1-2 ημέρες μετά τη θεραπεία. Η βυθοσκόπηση των οφθαλμών αυτών δεν είχε παθολογικά ευρήματα. Verteporfin 1mg/Kg - 35mW - 3min x 7spots

(A)

7 -| 6 -|



Εικόνα 21. Μέσες τιμές ΙΟΡ συναρτήσει του χρόνου, με ράβδους σταθερής απόκλισης, στους πειραματικούς οφθαλμούς και στους οφθαλμούς ελέγχου. Οι πειραματικοί οφθαλμοί υπεβλήθησαν σε CBPDT με verteporfin δόση 1mg/Kg, χρόνο 3min ανά εφαρμογή επί 7 εφαρμογές και ισχύ laser 35mW (γράφημα A) ή 25mW (γράφημα B). Οι οφθαλμοί ελέγχου δεν ακτινοβολήθηκαν. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση της ΙΟΡ διάρκειας 6 ημερών (A) και 4 ημερών (B) αντίστοιχα.

Πειραματικοί οφθαλμοί

Χρόνος (ημέρες)

Οφθαλμοί ελέγχου

3.4 Συμπεράσματα

Μεγάλη δόση verteporfin ή/και μεγάλη ισχύς και χρόνος προκαλούν σημαντικές επιπλοκές και θερμικές αλλοιώσεις στις ακτινοειδείς προβολές. Στο άλλο άκρο των ρυθμίσεων, οι ακτινοειδείς προβολές παραμένουν αναλλοίωτες.

Οι παράμετροι που προκαλούν σχετικά καθαρές φωτοδυναμικές αλλοιώσεις στις ακτινοειδείς προβολές είναι verteporfin 1mg/Kg, 25-35mW και 3min ανά εφαρμογή. Η ιστολογική μορφή των φωτοδυναμικών αλλοιώσεων στις ακτινοειδείς προβολές (οίδημα ανάμεσα στα επιθηλιακά στρώματα και αγγειακή στάση και θρόμβωση) είναι παρόμοιες αυτών που προκαλούνται από άλλους φωτοευαισθητοποιητές (35, 36, 37, 38, 39).

Οι ρυθμίσεις αυτές προκαλούν μείωση της ΙΟΡ μικρής διάρκειας (4-6ημέρες), μικρότερης αυτής της CBPDT με φθαλοκυανίνη (2 εβδομάδες). Επειδή οι αλλοιώσεις είναι εντοπισμένες στις ακτινοειδείς προβολές που ακτινοβολήθηκαν, ενώ οι διπλανές είναι αναλλοίωτες (ιστολογία), η αύξηση της έκτασης της περιοχής ακτινοβόλησης πιθανόν θα επηρέαζε τα αποτελέσματα στην ΙΟΡ.

Τα αποτελέσματα αυτά δημοσιεύθηκαν το 2006 (42), σχεδόν ταυτόχρονα με τη δημοσίευση της μελέτης των Matsubara και συνεργατών, για CBPDT με verteporfin με μεγαλύτερη ίνα (600μm πυρήνα) σε αρουραίους γενετικά τροποποιημένους γλαυκωματικούς (43). Στη μελέτη αυτή η διάρκεια της μείωσης της IOP ήταν σημαντικά μεγαλύτερη (7 εβδομάδες). Στην ίδια μελέτη, η CBPDT σε φυσιολογικούς αρουραίους προκάλεσε μείωση της IOP για 1-2 εβδομάδες, αναλόγως τη δόση του verteporfin. Οι ιστολογικές αλλοιώσεις ήταν συγκρίσιμες με το παρόν πείραμα. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής ενισχύουν την άποψη ότι η CBPDT είναι αρκετά ασφαλής και αποτελεσματική για να εφαρμοστεί σε γλαυκωματικούς ασθενείς.

4. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΠΕΙΡΑΜΑ 3 CBPDT ΣΕ ΕΓΧΡΩΜΑ ΚΟΥΛΕΛΙΑ : 4 ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ

4.1 Σκοπός

Τα αποτελέσματα του πειράματος 2 έδειξαν ότι η CBPDT με verteporfin είναι λιγότερο αποτελεσματική της CBPDT με άλλους φωτοευαισθητοποιητές ως προς τη διάρκεια μείωσης της IOP, παραμένει όμως μία ασφαλής εκλεκτική μέθοδος κυκλοκαταστροφής - κυκλοκαταστολής.

Σκοπός του 1ου μέρους του 3ου πειράματος έγινε επαναπροσδιορισμός των παραμέτρων ακτινοβόλησης, (ισχύς, χρόνος, αριθμός εφαρμογών) λόγω της διαφορετικής οπτικής ίνας.

Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι οι αλλοιώσεις είναι εντοπισμένες μόνο στις ακτινοειδείς προβολές που ακτινοβολούνται (37, 39, 42, 43), στο 2ο μέρος του πειράματος μελετήθηκε αν η χρήση οπτικής ίνας σημαντικά μεγαλύτερης διαμέτρου πυρήνα (από 100μm στο πείραμα 2 στα 600μm στο παρόν πείραμα) αυξάνει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου ως προς τη διάρκεια και το εύρος μείωσης της ΙΟΡ (λόγω πιθανής αύξησης της ακτινοβοληθείσας έκτασης). Χρησιμοποιήθηκαν οι ρυθμίσεις των παραμέτρων ακτινοβόλησης που προέκυψαν από το 1ο μέρος.

Προηγούμενη μελέτη CBPDT με φθαλοκυανίνη από τους Τσιλιμπάρη και συνεργάτες (39) και πρόσφατη μελέτη από τους Matsubara και συνεργάτες (43) έδειξαν ότι η επανάληψη CBPDT επιμηκύνει το χρόνο μείωσης της IOP. Για το λόγο αυτό, στο 3ο μέρος του πειράματος έγιναν 4 διαδοχικές συνεδρίες CBPDT στους ίδιους οφθαλμούς κουνελιών, με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης των πολλαπλών CBPDT στην αποτελεσματικότητα και στην ασφάλεια.

4.2.1 Πειραματόζωα

Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 64 έγχρωμα κουνέλια, βάρους από 2,5Kg έως 3Kg. Όλες οι CBPDT και οι μετρήσεις ΙΟΡ έγιναν υπό γενική αναισθησία, όπως στα προηγούμενα 2 πειράματα. Ο χειρισμός των πειραματόζωων ήταν σύμφωνος με τη διακήρυξη του ARVO.

4.2.2 Φωτοευαισθητοποιητής και διασκληρική laser ακτινοβόληση

Ως φωτοευαισθητοποιητής χρησιμοποιήθηκε ξανά το verteporfin σε εφάπαξ ενδοφλέβια έγχυση, όπως στο προηγούμενο πείραμα, και δοσολογία 1mg/Kg. Χρησιμοποιήθηκε, επίσης το διοδικό laser του πειράματος 2 (Visulas, Carl Zeiss Meditec) και ο μετρητής ισχύος laser επίσης του πειράματος 2. Άλλαξε, όμως, η οπτική ίνα για τη διασκληρική ακτινοβόληση του ακτινωτού σώματος των κουνελιών. Η νέα οπτική ίνα είχε πυρήνα "fused silica" διαμέτρου 600μm και μεταλλικό άκρο (Avantes, The Netherlands) (εικόνα 22). Η αλλαγή της οπτικής ίνας έγινε στα πλαίσια της προσπάθειας αύξησης της επιφάνειας ακτινοβόλησης.

4.2.3 Μέρος 1ο: ρύθμιση παραμέτρων ακτινοβόλησης

Από τα 36 έγχρωμα κουνέλια του πρώτου μέρους του παρόντος πειράματος, 20 κουνέλια χαρακτηρίστηκαν ως "πειραματικά", διότι ακτινοβολήθηκε ο δεξιός οφθαλμός τους μετά από έγχυση verteporfin 1mg/Kg, ενώ τα υπόλοιπα 16 ως "ελέγχου" διότι η ακτινοβόληση έγινε χωρίς verteporfin.

Λόγω της μεγαλύτερης διαμέτρου της οπτικής ίνας σε σχέση με αυτή του πειράματος 2, οι δοκιμές ισχύος ξεκίνησαν από υψηλότερες τιμές (30mW - 40mW - 80mW). Ο χρόνος ακτινοβόλησης, αρχικά 3min ανά εφαρμογή επί 7 εφαρμογές (πείραμα 1), μειώθηκε στη συνέχεια σε 1,5min ανά εφαρμογή επί 10 εφαρμογές.

Όπως στο πείραμα 2, το άκρο της οπτικής ίνας ήταν σε επαφή με τον επιπεφυκότα 0,5mm πίσω από το σκληροκερατοειδικό όριο, ελαφρά κεκλιμένο με φορά προς το ακτινωτό σώμα, και ασκούσε ελαφριά πίεση στον επιπεφυκότα σκληρό, με σκοπό να είναι όσο το δυνατόν πιο κοντά στο ακτινωτό σώμα. Ακτινοβολήθηκαν οι ανώτερες 180° ακτινωτού σώματος και τα μεσοδιαστήματα μεταξύ μίας εφαρμογής και της επόμενης ήταν περίπου 2mm.

Μετά τη CBPDT, σε όλα τα πειραματόζωα του πειράματος 3 χορηγήθηκε τοπική αγωγή με οφθαλμική αλοιφή τομπραμυκίνης (Tobradex, Alcon) 2 φορές/ημέρα για 3 ημέρες. Οι ρυθμίσεις ισχύος και χρόνου και τα αποτελέσματά τους συνοψίζονται στον πίνακα 2.



Εικόνα 22. Οπτική ίνα πυρήνα "fused silica" διαμέτρου 600μm (Avantes, The Netherlands). Το άκρο της είναι μεταλλικό. Σκοπός της νέας οπτικής ίνας ήταν η ακτινοβόληση μεγαλύτερης επιφάνειας ακτινωτού σώματος.

4.2.4 Μέρος 20: αποτελεσματικότητα από 1 συνεδρία CBPDT

Στο δεύτερο μέρος του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα του πρώτου (ισχύς laser 40mW, χρόνος ακτινοβόλησης 1,5min ανά εφαρμογή επί 10 εφαρμογές). Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 12 πειραματόζωα, από τα οποία 6 ήταν πειραματικά και 6 ελέγχου. Δύο πειραματικά και 2 ελέγχου θυσιάστηκαν 24h μετά την ακτινοβόληση, για ιστολογική εξέταση, ενώ στα υπόλοιπα έγιναν καθημερινή μέτρηση της IOP και βιομικροσκόπηση με έμμεσο οφθαλμοσκόπιο επί 10 ημέρες.

4.2.5 Μέρος 3ο: ασφάλεια και αποτελεσματικότητα από 4 CBPDT

Σκοπός της δεύτερης και κύριας φάσης του δεύτερου μέρους του πειράματος 3 είναι η μελέτη των αλλοιώσεων στο ακτινωτό σώμα και η επίδρασή τους στην ΙΟΡ μετά από 4 επαναλήψεις.

Για το σκοπό αυτό, μετά την ολοκλήρωση της πρώτης φάσης του δεύτερου μέρους του πειράματος 3 και βάσει των αποτελεσμάτων της σχεδιάστηκε η πραγματοποίηση 4 διαδοχικών CBPDT, ανά 4 ημέρες, στις ίδιες θέσεις των ίδιων οφθαλμών των ίδιων κουνελιών. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 16 έγχρωμα κουνέλια, όλα πειραματικά, από τα οποία 6 υποβλήθηκαν σε 4 συνεδρίες CBPDT τις ημέρες 0,4,8 και 12. Τα υπόλοιπα 10 κουνέλια θυσιάστηκαν, ανά 2, για ιστολογία, τις ημέρες 1 (24h μετά την πρώτη συνεδρία CBPDT), 4 (πριν από τη δεύτερη συνεδρία CBPDT), 5 (24h μετά τη δεύτερη συνεδρία CBPDT), 12 (αμέσως πριν την τέταρτη συνεδρία CBPDT), 13 (24h μετά την τέταρτη συνεδρία CBPDT) και 17 (5 ημέρες μετά την τέταρτη συνεδρία CBPDT). Προ της ιστολογικής εξέτασης ελήφθησαν μακροσκοπικές φωτογραφίες του ακτινωτού σώματος, με σκοπό την αναζήτηση μακροσκοπικών αλλοιώσεων.

4.2.6 Ιστολογική εξέταση και μετρήσεις ΙΟΡ

Η ιστολογική εξέταση και οι μετρήσεις ΙΟΡ έγιναν όπως στο πείραμα 2.

4.3 Αποτελέσματα

4.3.1 Μέρος 1ο : ρύθμιση ισχύος, χρόνου και αριθμού εφαρμογών

Στα κουνέλια 1-4 (πειραματικά) η ακτινοβόληση με 30mW διάρκειας 3 λεπτών ανά εφαρμογή επί 7 εφαρμογές προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της IOP διάρκειας 4 ημερών, αποτέλεσμα συγκρίσιμο με τα κουνέλια 36-40 του πειράματος 2 (25mW ισχύς). Στα κουνέλια 5-8 (πειραματικά) η ισχύς αυξήθηκε στα 40mW και αυτό προκάλεσε αύξηση της διάρκειας μείωσης της IOP στις 6 ημέρες, αποτέλεσμα συγκρίσιμο με τα κουνέλια 31-35 του πειράματος 2 (35mW). Στα αντίστοιχα κουνέλια ελέγχου (9-12) δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της IOP.

Το επόμενο βήμα ήταν η μείωση του χρόνου ακτινοβόλησης στο 1,5min και η αύξηση του αριθμού των εφαρμογών στις 10. Στα κουνέλια αυτά (13-16, πειραματικά) παρατηρήθηκε μείωση της ΙΟΡ διάρκειας 6 ημερών, μη στατιστικά διαφορετικής από αυτή των κουνελιών 5-8. Ξανά στα αντίστοιχα κουνέλια ελέγχου (17-20) δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της ΙΟΡ.

Τέλος, δοκιμάστηκε η αύξηση της ισχύος στα 80 mW, τόσο με χρόνο 3min επί 7 εφαρμογές όσο και 1,5min επί 10 εφαρμογές. Σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της IOP στα κουνέλια ελέγχου, η οποία δεν διέφερε στατιστικά από αυτή των πειραματικών κουνελιών.

Τα αποτελέσματα αυτά, τα οποία συνοψίζονται στον πίνακα 2, έδειξαν ότι οι βέλτιστοι παράμετροι με τη νέα οπτική ίνα 600μm πυρήνα είναι ισχύς laser 40mW και χρόνος ακτινοβόλησης 1,5min επί 10 εφαρμογές. Προτιμάται ο χρόνος αυτός σε σχέση με τα 3 λεπτά ανά εφαρμογή επί 7 εφαρμογές, διότι μειώνει τη συνολική διάρκεια της συνεδρίας CBPDT στα 15min (από 21min) και αυξάνει τη συνολική επιφάνεια του ακτινωτού σώματος που ακτινοβολείται (περισσότερες εφαρμογές). Η δόση του verteporfin ήταν σε όλες τις περιπτώσεις σταθερή στο 1mg/Kg.

Η βέλτιστη ισχύς ήταν 40mW και ο βέλτιστος χρόνος ακτινοβόλησης 1,5min ανά εφαρμογή επί 10 εφαρμογές.

Αριθμός πειραματό- ζωου	Πειραματικό ή ελέγχου	Ισχύς laser (mW)	Χρόνος ακτινοβό- λησης (min)	Αριθμός εφαρμογών	Διάρκεια μείωσης ΙΟΡ (ημέρες)
1-4	Πειραματικό	30	3	7	4
5-8	Πειραματικό	40	3	7	6
9-12	Ελέγχου	40	3	7	0
13-16	Πειραματικό	40	1,5	10	6
17-20	Ελέγχου	40	1,5	10	0
21-24	Πειραματικό	80	3	7	13
25-28	Ελέγχου	80	3	7	10
29-32	Πειραματικό	80	1,5	10	12
33-36	Ελέγχου	80	1,5	10	12

Πίνακας 2. Παράμετροι ακτινοβόλησης των κουνελιών του πρώτου μέρους του πειράματος 2. Τα 36 αυτά έγχρωμα κουνέλια χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό των βέλτιστων παραμέτρων ισχύος laser και χρόνου ακτινοβόλησης, βάσει των αποτελεσμάτων ως προς τη μείωση της IOP. Η δόση verteporfin ήταν πάντα 1mg/Kg.

4.3.2 Μέρος 2ο : 1 συνεδρία CBPDT

Επιβεβαιώθηκαν τα προηγούμενα αποτελέσματα, ότι η CBPDT με δόση verteporfin 1mg/Kg, ισχύς 40mW και χρόνος ακτινοβόλησης 1,5min επί 10 εφαρμογές σε τόξο 180° ακτινωτού σώματος προκαλεί στατιστικά σημαντική μείωση της IOP, κατά μέσο όρο 2,79mmHg±0,78, διάρκειας 6 ημερών (εικόνα 23).



1 συνεδρία CBPDT

Εικόνα 23. Μέσες τιμές ΙΟΡ συναρτήσει του χρόνου , με ράβδους σταθερής απόκλισης, στους πειραματικούς οφθαλμούς και στους οφθαλμούς ελέγχου. Οι πειραματικοί οφθαλμοί υπεβλήθησαν σε CBPDT με verteporfin δόση 1mg/Kg, χρόνο 1,5min ανά εφαρμογή επί 10 εφαρμογές και ισχύ laser 40mW. Οι οφθαλμοί ελέγχου δεν ακτινοβολήθηκαν. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση της ΙΟΡ διάρκειας 6 ημερών.

4.3.3 Μέρος δεύτερο : 4 διαδοχικές συνεδρίες CBPDT

Μετά από κάθε συνεδρία CBPDT παρατηρήθηκε μείωση της ΙΟΡ. Η μείωση αυτή ήταν πιο εμφανής μετά την πρώτη συνεδρία. Η συνολική διάρκεια σημαντικής μείωσης της ΙΟΡ ήταν 15 ημέρες, δηλαδή την 4η μέρα μετά την 4η συνεδρία CBPDT οι διαφορές στην ΙΟΡ μεταξύ πειραματικών οφθαλμών και οφθαλμών ελέγχου ήταν μη σημαντικές (εικόνα 24).

Η ιστολογική εξέταση δειγμάτων ακτινωτού σώματος στο οπτικό μικροσκόπιο 24h μετά την πρώτη συνεδρία CBPDT έδειξε οίδημα ανάμεσα στα επιθηλιακά κύτταρα, θρόμβωση σε πολλά αγγεία και αιματική στάση σε άλλα (εικόνα 25), εικόνα τυπική αλλοιώσεων από CBPDT (πείραμα 2 και παλιότερες μελέτες). Όπως και στο πείραμα 2, οι αλλοιώσεις αυτές των ακτινοειδών προβολών είχαν αποσπασματική κατανομή, δηλαδή ήταν παρόντες όπου έγινε διασκληρική ακτινοβόληση.

Η σύγκριση των ιστολογικών εξετάσεων 24h μετά τη δεύτερη συνεδρία (εικόνα 26) και 24h μετά την 4η συνεδρία (εικόνα 27) δείχνει μικρή τάση αύξησης του ποσοστού των ακτινοειδών προβολών όπου παρατηρούνται τυπικές αλλοιώσεις CBPDT. Κατά τη διασκληρική ακτινοβόληση του ακτινωτού σώματος ήταν ίσα τα μεσοδιαστήματα μεταξύ μιας εφαρμογής και της επόμενης. Επειδή, όμως σε κάθε επόμενη συνεδρία δεν ήταν ορατά τα σημεία ακτινοβόλησης της προηγούμενης, δεν μπορεί να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα αν το αποτέλεσμα αυτό οφείλεται σε διάχυση των αλλοιώσεων από CBPDT ή σε ακτινοβόληση όχι ακριβώς πάνω σε αυτή της προηγούμενης συνεδρίας.

Η ιστολογική εξέταση δειγμάτων ακτινωτού σώματος 5 ημέρες μετά την 4η συνεδρία (εικόνα 28) έδειξε υπολείμματα αλλοιώσεων CBPDT και τάση επιστροφής στο φυσιολογικό. Με άλλα λόγια, οι ακτινοειδείς προβολές διατηρούν τη

μικροσκοπική τους δομή, ακόμη και μετά από 4 διαδοχικές συνεδρίες CBPDT, και οι αλλοιώσεις από CBPDT είναι αντιστρεπτές.

Το παραπάνω αποτέλεσμα επιβεβαιώθηκε και από τη μακροσκοπική εξέταση της ίριδος και του ακτινωτού σώματος στην ίδια χρονική στιγμή (εικόνα 29), όπου δεν παρατηρείται καμία αλλαγή στην αρχιτεκτονική και μορφολογία συγκριτικά με το φυσιολογικό (οφθαλμοί ελέγχου).



4 διαδοχικές συνεδρίες CBPDT

— Οφθαλμοί ελέγχου

Εικόνα 24. Μέσες τιμές ΙΟΡ συναρτήσει του χρόνου , με ράβδους σταθερής απόκλισης, στους πειραματικούς οφθαλμούς και στους οφθαλμούς ελέγχου. Οι πειραματικοί οφθαλμοί υπεβλήθησαν σε 4 συνεδρίες, ανά 4 ημέρες, CBPDT με verteporfin δόση 1mg/Kg, χρόνο 1,5min ανά εφαρμογή επί 10 εφαρμογές και ισχύ laser 40mW. Οι οφθαλμοί ελέγχου δεν ακτινοβολήθηκαν. Παρατηρήθηκε μείωση της IOP των πειραματικών οφθαλμών μέχρι και 4 ημέρες μετά την τέταρτη συνεδρία.



Εικόνα 25. Ασπρόμαυρη φωτογραφία ιστολογικής εξέτασης στο οπτικό μικροσκόπιο με μεγάλη μεγέθυνση (200) ακτινοειδούς προβολής πειραματικού οφθαλμού 24h μετά την 1η συνεδρία CBPDT. Όπως και στο πείραμα 2, παρατηρείται οίδημα ανάμεσα στα επιθηλιακά στρώματα, θρόμβωση αγγείων και αιματική στάση.



Εικόνα 26. Ασπρόμαυρη φωτογραφία ιστολογικής εξέτασης στο οπτικό μικροσκόπιο με μικρή μεγέθυνση (50) ακτινοειδούς σώματος 24h μετά τη 2η συνεδρία CBPDT. Παρατηρούνται τυπικές αλλοιώσεις CBPDT (οίδημα, θρόμβωση και στάση) στις μισές περίπου ακτινοειδείς προβολές, ενώ οι υπόλοιπες μοιάζουν φυσιολογικές.



Εικόνα 27. Ασπρόμαυρη φωτογραφία ιστολογικής εξέτασης στο οπτικό μικροσκόπιο με μικρή μεγέθυνση (50) ακτινοειδούς σώματος 24h μετά την 4η συνεδρία CBPDT Παρατηρούνται τυπικές αλλοιώσεις CBPDT (οίδημα, θρόμβωση και στάση) στις περισσότερες ακτινοειδείς προβολές.



Εικόνα 28. Ασπρόμαυρη φωτογραφία ιστολογικής εξέτασης στο οπτικό μικροσκόπιο με μικρή μεγέθυνση (50) ακτινοειδούς σώματος 5 ημέρες μετά την 4η συνεδρία CBPDT. Υπάρχουν ακόμα αγγεία θρομβωμένα και το ελάχιστο οίδημα μεταξύ των επιθηλιακών στρωμάτων. Οι ακτινοειδείς προβολές διατηρούν, επομένως, την αρχιτεκτονική τους και δείχνουν σημεία αναστροφής των αλλοιώσεων από CBPDT.



Εικόνα 29. Μακροσκοπική φωτογραφία του ακτινωτού σώματος (Α) και της ίριδος (Β) 5 ημέρες μετά την 4η συνεδρία CBPDT. Η μακροσκοπική αρχιτεκτονική του ακτινωτού σώματος παραμένει αναλλοίωτη.

Η οπτική παρατήρηση και η βιομικροσκόπηση των οφθαλμών όλων των πειραματόζωων μετά από κάθε συνεδρία CBPDT δεν έδειξε σημαντικές επιπλοκές. Αναλυτικότερα, παρατηρήθηκε ήπιο οίδημα βλεφάρων και ήπια χύμωση και υπεραιμία επιπεφυκότα τις πρώτες 1-2 ημέρες μετά τη CBPDT (εικόνα 30), ενώ η βιομικροσκόπηση των προσθίων μορίων και του βυθού με έμμεσο οφθαλμοσκόπιο δεν είχε παθολογικά ευρήματα. Πέντε ημέρες μετά την 4η συνεδρία η μακροσκοπική παρατήρηση και η βιομικροσκόπηση των προσθίων ημιμορίων είναι σχεδόν φυσιολογικά, εκτός από σποραδικές σημειακές αιμορραγίες στην περιοχή που ακτινοβολήθηκε (εικόνα 31).



Εικόνα 30. Μία ημέρα μετά την πρώτη συνεδρία CBPDT η μακροσκοπική παρατήρηση των προσθίων μορίων δείχνει ήπια χύμωση και υπεραιμία επιπεφυκότα στην περιοχή που ακτινοβολήθηκε.



Εικόνα 31. Πέντε ημέρες μετά την 4η συνεδρία CBPDT η μακροσκοπική παρατήρηση των προσθίων μορίων είναι σχεδόν φυσιολογική, εκτός από σποραδικές σημειακές αιμορραγίες (βέλος) στην περιοχή που ακτινοβολήθηκε.

4.4 Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα του 1ου μέρους έδειξαν ότι λόγω της νέας οπτικής ίνας πυρήνα μεγαλύτερης διαμέτρου χρειάστηκε μικρή αύξηση της ισχύος στα 40mW για την επίτευξη φωτοδυναμικής δράσης. Το σημαντικότερο αποτέλεσμα ήταν η μείωση του χρόνου ανά εφαρμογή στο 1,5min, που δεν άλλαξε την αποτελεσματικότητα ως προς τη μείωση της IOP, έδωσε όμως τη δυνατότητα για περισσότερες εφαρμογές και μικρότερο συνολικό χρόνο θεραπείας.

Κάθε εφάπαξ (bolus) ενδοφλέβια έγχυση έχει ως αποτέλεσμα συνήθως υψηλά επίπεδα φαρμάκου στο πλάσμα αμέσως μετά την έγχυση, που γρήγορα μειώνονται στη συνέχεια. Προηγούμενη μελέτη με φθαλοκυανίνη για PDT σε νεοαγγείωση κερατοειδούς κουνελιού των Τσιλιμπάρη και συνεργατών (44) έδειξε ότι 19min μετά από εφάπαξ έγχυση τα επίπεδα της φθαλοκυανίνης στο πλάσμα ήταν τα μισά της αρχικής. Είναι πιθανό ότι το verteporfin έχει παρόμοια συμπεριφορά.

Η χρήση της νέας οπτικής ίνας μεγαλύτερης διαμέτρου πυρήνα και η αύξηση του αριθμού των εφαρμογών είχαν αποτέλεσμα την αύξηση της επιφάνειας ακτινοβόλησης. Επίσης, η μείωση του συνολικού χρόνου ακτινοβόλησης πιθανόν προσέφερε υψηλότερα πλασματικά επίπεδα verteporfin μετά την εφάπαξ έγχυση. Όλα τα παραπάνω δημιούργησαν προϋποθέσεις για αύξηση της αποτελεσματικότητας, παρά ταύτα αυτό δεν συνέβη, όπως δείχνουν τα αποτελέσματα του 2ου μέρους του 3ου πειράματος, δηλαδή τόσο το εύρος όσο και τη διάρκεια μείωσης της ΙΟΡ (6 ημέρες), παρέμειναν συγκρίσιμα με το πείραμα 2.

Σε μία ακόμη προσπάθεια αύξησης της αποτελεσματικότητας, βάσει προηγούμενων μελετών που έδειξαν ότι η επανάληψη CBPDT αυξάνει τη διάρκεια μείωσης της IOP (39, 43), έγιναν στο 3ο μέρος 4 διαδοχικές συνεδρίες CBPDT ανά 4 ημέρες. Τα αποτελέσματα του πειράματος 2 έδειξαν ότι οι φωτοδυναμικές αλλοιώσεις στις ακτινοειδείς προβολές είναι αντιστρεπτές. Ο χρόνος 4 ημέρες επιλέχτηκε σε μία προσπάθεια μονιμοποίησης των αλλοιώσεων αυτών, αφού κάθε επόμενη CBPDT θα προσέθετε φωτοδυναμικές αλλοιώσεις σε ήδη αλλοιωμένη περιοχή. Παρά ταύτα, τα αποτελέσματα του 3ου μέρους δεν έδειξαν καμία τάση αύξησης της διάρκειας και του εύρους της μείωσης της IOP, αντιθέτως η επαναφορά της IOP στα προ της CBPDT επίπεδα μετά την 4η συνεδρία έγινε ταχύτερα απ' ότι μετά την 1η.

Η βιομικροσκόπηση των πειραματόζωων έδειξε ότι οι επιπλοκές μετά από κάθε συνεδρία CBPDT ήταν ήπιες (ήπια χύμωση και υπεραιμία επιπεφυκότα 24h μετά από κάθε CBPDT και πολύ μικρές στον επιπεφυκότα 5 ημέρες μετά την 4η συνεδρία). Η παρατήρηση της μακροσκοπικής εικόνας του ακτινωτού σώματος και οι ιστολογικές εξετάσεις επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα του προηγούμενου πειράματος, ότι οι αλλοιώσεις από CBPDT στις ακτινοειδείς προβολές είναι αντιστρεπτές.

Τα αποτελέσματα του 3ου πειράματος συνολικά έδειξαν ότι η CBPDT με verteporfin είναι μέθοδος ασφαλής και βραχυπρόθεσμα αποτελεσματική όταν εφαρμόζεται σε φυσιολογικούς οφθαλμούς κουνελιών. Οι ηπιότατες μεθεπεμβατικές επιπλοκές και η αντιστρεπτότητα των φωτοδυναμικών αλλοιώσεων στις ακτινοειδείς προβολές καθιστούν τη CBPDT μέθοδο ασφαλή για χρήση στον άνθρωπο. Έμεινε, επομένως, να μελετηθεί η αποτελεσματικότητά της σε γλαυκωματικούς οφθαλμούς ασθενών.

Το πείραμα 3 έγινε δεκτό προς δημοσίευση τον Αύγουστο 2009 (48).

5. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΠΕΙΡΑΜΑ 4 κγκλοκργοπηξία σε εγχρωμα κογνελια

5.1 Σκοπός

Πριν την εφαρμογή της CBPDT στον άνθρωπο, για επιβεβαίωση της ασφάλειας της μεθόδου, επιλέχτηκε να συγκριθούν οι επιπλοκές και τα αποτελέσματά της με αυτά μιας παλιάς και καλά δοκιμασμένης στον άνθρωπο μεθόδου κυκλοκαταστροφής, της κυκλοκρυοπηξίας (32, 30).

5.2 Μεθοδολογία

Η κυκλοκρυοπηξία εφαρμόστηκε σε 6 έγχρωμα κουνέλια, υπό γενική αναισθησία, όπως στα προηγούμενα πειράματα. Χρησιμοποιήθηκε κρυόδιο διασκληρικής κυκλοκρυοπηξίας (ECOMED, Θεσσαλική) (εικόνα 30). Πραγματοποιήθηκαν 7 εφαρμογές στις ανώτερες ώρες (180 μοίρες περίπου), 0,5mm πίσω από το σκληροκερατοειδικό όριο (εικόνα 32), καθεμία διάρκειας 1min, όπως και στον άνθρωπο. Μόνο ο δεξιός οφθαλμός (πειραματικός οφθαλμός) των κουνελιών υποβλήθηκε σε κυκλοκρυοπηξία, ενώ ο αριστερός χρησιμοποιήθηκε ως οφθαλμός ελέγχου.

Μετά την κυκλοκρυοπηξία εφαρμόστηκε τοπική αγωγή με οφθαλμική αλοιφή τομπραμυκίνης (Tobradex, Alcon) 2 φορές/ημέρα για 3 ημέρες. Η παρακολούθηση των πειραματόζωων διήρκεσε 1 μήνα, με καθημερινές μετρήσεις ΙΟΡ με το τονόμετρο TonoPen-XL (εικόνα 9) υπό γενική αναισθησία κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας και ανά 2-3 ημέρες στη συνέχεια, και βιομικροσκόπηση των προσθίων μορίων και του βυθού με έμμεσο οφθαλμοσκόπιο. Στη συνέχεια τα πειραματόζωα θυσιάστηκαν, έγινε εξόρυξη των οφθαλμών, μακροσκοπική φωτογράφηση του ακτινωτού σώματος και της ίριδος και ιστολογική εξέταση.


Εικόνα 32. Κυκλοκρυοπηξία οφθαλμού έγχρωμου κουνελιού υπό γενική αναισθησία, με το κρυόδιο ECOMED. Πραγματοποιήθηκαν 7 εφαρμογές στις ανώτερες ώρες, 0,5mm πίσω από το σκληροκερατοειδικό όριο, διάρκειας 1min καθεμιά.

5.3 Αποτελέσματα

Από την 5^η ημέρα μέχρι και την 30^η, οπότε και διακόπηκε η παρακολούθηση, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της ΙΟΡ κατά μέσον όρο 6mmHg ± 1,35 (εικόνα 33). Οι μεθεπεμβατικές επιπλοκές ήταν έντονη χύμωση επιπεφυκότα και οίδημα βλεφάρων, διάρκειας τουλάχιστον 2 ημερών. Η μακροσκοπική εικόνα του ακτινωτού σώματος, σε αντίθεση με αυτή του πειράματος 2, έδειξε μεγάλες περιοχές με ουλή και καταστροφή των ακτινοειδών προβολών (εικόνα 34). Κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας για ιστολογική εξέταση, η αποκόλληση της ίριδος και του ακτινωτού σώματος από το χοριοειδή έγινε με πολύ μεγάλη ευκολία, αντίθετα με τη διαδικασία αυτή στα πειράματα 1 και 2.



Εικόνα 33. Μέσες τιμές ΙΟΡ συναρτήσει του χρόνου , με ράβδους σταθερής απόκλισης, στους οφθαλμούς πειραματικού και ελέγχου. Από την 5^{η} ημέρα και μέχρι και την 30^{η} , παρατηρήθηκε μείωση της ΙΟΡ των πειραματικών κατά 6mmHg ± 1,35.



Εικόνα 34. Μακροσκοπική φωτογραφία ίριδος και ακτινωτού σώματος 30 ημέρες μετά την κυκλοκρυοπηξία. Η ποιότητα της φωτογραφίας είναι χαμηλή, είναι όμως εμφανείς μεγάλες περιοχές με ουλή και καταστροφή των ακτινοειδών προβολών.

5.4 Συμπεράσματα

Η κυκλοκρυοπηξία είναι παλιά και καλά δοκιμασμένη στον άνθρωπο μέθοδος κυκλοκαταστροφής (32, 30). Είναι καλά γνωστές οι παρενέργειες και επιπλοκές της, οι σοβαρότερες των οποίων είναι η μείωση της οπτικής οξύτητας και η φθίση του βολβού. Εξίσου σοβαρές είναι οι επιπλοκές και άλλων πιο σύγχρονων μεθόδων κυκλοκαταστροφής, όπως διασκληρική και ενδοσκοπική laser κυκλοφωτοπηξία (32, 33, 34, 30, 31).

Η κυκλοκρυοπηξία εφαρμόστηκε σε κουνέλια με παρόμοιο τρόπο (εικόνα 31) με την CBPDT και είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της IOP για τουλάχιστον 1 μήνα (εικόνα 32). Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με τη μακροσκοπική εικόνα και την ιστολογία του ακτινωτού σώματος, που έδειξαν ολική καταστροφή των ακτινοειδών προβολών, με συνοδό ουλοποίηση (εικόνα 33).

Αντίθετα, η CBPDT προκάλεσε αντιστρεπτές αλλοιώσεις στις ακτινοειδείς προβολές και βραχυπρόθεσμη μόνο μείωση της ΙΟΡ (πειράματα 2 και 3). Αν η κυκλοκρυοπηξία είναι μέθοδος κυκλοκαταστροφής, τότε η CBPDT είναι μέθοδος κυκλοκαταστολής, αφού δεν προκαλεί καταστροφή των ακτινοειδών προβολών αλλά παροδικές αλλοιώσεις.

Τα παραπάνω επιβεβαιώνουν ότι η CBPDT είναι μέθοδος ασφαλής για χρήση στον άνθρωπο, ως μέθοδος κυκλοκαταστολής.

6. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟ 1 ΠΙΛΟΤΙΚΗ CBPDT ΣΕ ΑΝΘΕΚΤΙΚΑ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΑ

6.1 Σκοπός

Τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα από τα προηγούμενα καθώς και από προηγούμενες μελέτες άλλων ερευνητών (37, 39, 42, 43) έδειξαν ότι η CBPDT είναι μέθοδος ασφαλής και βραχυπρόθεσμα αποτελεσματική, όταν εφαρμόζεται σε πειραματόζωα. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η μετάβαση από τα πειραματόζωα στον άνθρωπο.

6.2 Μεθοδολογία

6.2.1 Κλινικό πρωτόκολλο, έντυπο συγκατάθεσης, προετοιμασία ασθενούς

Σε πρώτη φάση συντάχθηκε ερευνητικό πρωτόκολλο, το οποίο εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου (ΠαΓΝΗ). Επειδή η CBPDT είναι μέθοδος πειραματική και δεν υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα εφαρμογής της στον κόσμο, για λόγους ασφαλείας, επιλέχθηκε να εφαρμοστεί μόνο σε νομικά τυφλούς οφθαλμούς (οπτική οξύτητα μικρότερη του 1/20) πάσχοντες από ανθεκτικό γλαύκωμα.

Συντάχθηκε, επίσης, έντυπο ενημέρωσης και συγκατάθεσης (παράρτημα 1), όπου περιγράφεται αναλυτικά η μέθοδος, ο σκοπός της, οι πιθανές επιπλοκές καθώς και οι κίνδυνοι. Στο έντυπο αυτό εξηγείται, επίσης, σαφώς ότι η μέθοδος είναι πειραματική και ότι η χρήση του φαρμάκου verteporfin (Visudyne, Novartis) είναι μη ενδεδειγμένη (off-label) και προτείνεται εναλλακτική μέθοδος κυκλοκαταστροφής. Πριν από κάθε CBPDT ελήφθη ιατρικό ιστορικό και έγινε οφθαλμολογική εξέταση, με μέτρηση της καλύτερα διορθωμένης οπτικής οξύτητας (BCVA), μέτρηση της IOP με το τονόμετρο Goldmann και βιομικροσκόπηση των προσθίων μορίων και του βυθού. Στη συνέχεια συζητήθηκε εκτενώς το περιεχόμενο του εντύπου ενημέρωσης και ελήφθη η ενυπόγραφη συγκατάθεση του ασθενούς.

6.2.2 Verteporfin με συνεχή έγχυση και δοσολογία όπως στην PDT

Ο ασθενής ήταν ξαπλωμένος στο εξεταστικό κρεβάτι. Χορηγήθηκε τοπική οπισθοβόλβια αναισθησία με 6ml ξυλοκαΐνης. Στη συνέχεια, καθετηριάστηκε η βραχιόνια φλέβα του και ξεκίνησε η συνεχής verteporfin σε δοσολογία και χρόνο όπως ακριβώς στην PDT για την υγρή ωχροπάθεια (20). Έγινε υπολογισμός της δόσης (mg) verteporfin βάσει ύψους και βάρους σύμφωνα με το νομόγραμμα της Novartis για την PDT. Ετοιμάστηκε διάλυμα verteporfin σε ορό Dextrose 10%, μέχρι συμπλήρωσης 30ml, και τοποθετήθηκε στην αντλία συνεχούς έγχυσης με σταθερή ροή και συνολικό χρόνο έγχυσης10min. Όπως στην PDT, εξηγήθηκε στον ασθενή η πιθανότητα μυοσκελετικού άλγους κατά τη διάρκεια της CBPDT ήταν παρόν νοσηλευτής/τρια και σε ετοιμότητα αναισθησιολόγος για κάθε ενδεχόμενο σοβαρής επιπλοκής.

Στην υγρή ωχροπάθεια υπάρχει διαρροή των νέο-αγγείων υπό της ωχράς, που προκαλεί τη λίμναση του verteporfin (18), επομένως στην PDT η ακτινοβόληση ξεκινάει 5min μετά το τέλος της έγχυσης verteporfin. Στην περίπτωση των αιμοφόρων αγγείων του ακτινωτού σώματος δεν υπάρχει διαρροή και λίμναση verteporfin, αλλά έχει σημασία η συγκέντρωση του στο πλάσμα, η οποία μειώνεται συναρτήσει του χρόνου. Για τους λόγους αυτούς στην CBPDT η ακτινοβόληση του ακτινωτού σώματος ξεκίνησε αμέσως μετά το τέλος της έγχυσης του verteporfin.

Λίγο πριν το τέλος της έγχυσης τοποθετήθηκε βλεφαροδιαστολέας και ελέγχθηκε η επάρκεια της αναισθησίας.

6.2.3 Laser, οπτική ίνα 600μm, παράμετροι ακτινοβόλησης

Χρησιμοποιήθηκε (πειράματα 2 και 3) το laser "Visulas" (εικόνα 13). Χρησιμοποιήθηκε, επίσης η οπτική ίνα με πυρήνα 600μm (πείραμα 3).

Ακτινοβολήθηκαν 180° ακτινωτού σώματος με 12 εφαρμογές, και η απόσταση μεταξύ 2 διαδοχικών εφαρμογών ήταν περίπου 2mm. Το άκρο της οπτικής ίνας ήταν σε επαφή με επιπεφυκότα - σκληρό, 1mm πίσω από το σκληροκερατοειδικό όριο, κάθετο στην επιφάνεια και με ελαφρά πίεση (εικόνα 35). Η μακροσκοπική εικόνα των προσθίων μορίων του οφθαλμού πριν και μετά από κάθε CBPDT φωτογραφήθηκε. Μετά την CBPDT οι ασθενείς έλαβαν τοπική αγωγή με σταγόνες τομπραμυκίνης και δεξαμεθαζόνης (Tobradex, Alcon) 4 φορές/ημέρα για 4 ημέρες.

6.2.4 Επιλογή ασθενών

Οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε CBPDT έπασχαν από ανθεκτικό στην τοπική θεραπεία γλαύκωμα και είχαν οπτική οξύτητα κάτω του 1/20 και επώδυνο οφθαλμό. Η ηλικία, το φύλο, η αρχική IOP και η αιτιολογία γλαυκώματος των ασθενών που υποβλήθηκαν σε CBPDT παρουσιάζονται στον πίνακα 3.

Μετά τη CBPDT οι ασθενείς νοσηλεύτηκαν στην Οφθαλμολογική Κλινική του Πα.Γ.Ν.Η. Για λόγους ασφαλείας, δεν ορίστηκε εξαρχής συγκεκριμένος χρόνος νοσηλείας, αλλά εκτιμήθηκε κατά περίπτωση ο χρόνος και η ανάγκη άλλης αντιγλαυκωματικής επέμβασης. Έγιναν καθημερινές μετρήσεις IOP με το τονόμετρο Goldmann και εξέταση των προσθίων μορίων και του βυθού στη σχισμοειδή λυχνία.



Εικόνα 35. Φωτογραφία χωρίς βλεφαροδιαστολέα πριν από CBPDT. Το άκρο της οπτικής ίνας (600μm) ήταν σε επαφή με επιπεφυκότα - σκληρό, 1mm πίσω από το σκληροκερατοειδικό όριο, κάθετο στην επιφάνεια και ασκούσε ελαφρά πίεση.

Αριθμός ασθενούς	Ηλικία	Φύλο	Αρχική IOP (mmHg)	Αιτιολογία γλαυκώματος
1	50	Άνδρας	50	Σιλικονικό
2	61	Γυναίκα	47	Νεοαγγειακό από θρόμβωση κεντρικής φλέβας (CRVO)
3	82	Άνδρας	55	Νεοαγγειακό από CRVO
4	52	Γυναίκα	45	Νεοαγγειακό από CRVO
5	79	Γυναίκα	23	Φακολυτικό
6	50	Άνδρας	25	Μετατραυματικό

Πίνακας 3. Ηλικία, φύλο, αρχική ΙΟΡ και αιτιολογία γλαυκώματος των ασθενών που υποβλήθηκαν σε CBPDT με συνεχή έγχυση verteporfin και 1 οπτική ίνα.

6.3.1 Παράμετροι ακτινοβόλησης και συνολικός χρόνος θεραπείας

Τα αποτελέσματα του πειράματος 2 έδειξαν ότι για την ίνα αυτή η βέλτιστη ισχύς laser στο άκρο της, για απουσία θερμικής βλάβης, είναι 40mW και ο χρόνος ακτινοβόλησης ανά εφαρμογή 1,5min ή 3min. Ο ανθρώπινος οφθαλμός, όμως έχει σημαντικά παχύτερο σκληρό χιτώνα και μεγαλύτερες ακτινοειδείς προβολές σε σχέση με του κουνελιού. Επίσης, όλοι οι ασθενείς, παρουσίαζαν σημαντική υπεραιμία στον επιπεφυκότα.

Η ισχύς της φωτεινής δέσμης laser που φτάνει στις ακτινοειδείς προβολές είναι σε κάθε περίπτωση μικρότερη της αρχικής στο άκρο της οπτικής ίνας, διότι σημαντικό μέρος των φωτονίων σκεδάζεται από τον επιπεφυκότα και το σκληρό χιτώνα (εικόνα 36), ενώ ένα άλλο μέρος απορροφάται από τους ιστούς αυτούς. Στο B.Ε.Μ.Μ.Ο. πραγματοποιήθηκαν πειράματα μέτρησης της απώλειας ισχύος laser σε πτωματικούς οφθαλμούς γουρουνιών διαφόρων μεγεθών και μέτρησης του πάχους του σκληρού. Τα δεδομένα των μετρήσεων αυτών χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό με το πρόγραμμα Matlab (Mathworks) μοντέλου σκέδασης του φωτός στο σκληρό χιτώνα και το σχεδιασμό διαγράμματος απώλειας ισχύος συναρτήσει του πάχους του σκληρού χιτώνα (εικόνα 37, 45). Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, το πάχος του σκληρού χιτώνα του ανθρώπινου οφθαλμού (46) κοντά στο σκληροκερατοειδικό όριο είναι 0.53mm ± 0.14mm, ενώ μετρήσεις στο B.Ε.Μ.Μ.Ο.

Ο ακριβής υπολογισμός της ισχύος laser στον άνθρωπο in vivo είναι αδύνατος. Ο υπολογισμός αυτός έγινε συνεπώς προσεγγιστικά και κατ' εκτίμηση, βάσει των παραπάνω και γραφημάτων και λαμβάνοντας υπόψη ότι υπάρχουν και άλλες πιθανές μη μετρήσιμες αιτίες απώλειας ισχύος (υπεραιμία και πάχος επιπεφυκότα, ηλικία ιστών, ζωντανός ανθρώπινος ιστός - πτωματικός γουρουνιού ή κουνελιού). Υπολογίστηκε ότι ισχύς 30mW σε οφθαλμό κουνελιού 2,5-3Kg αντιστοιχεί σε 50-60mW σε ανθρώπινο οφθαλμό και αντίστοιχα ισχύς 40mW στο κουνέλι σε 65-80 στον άνθρωπο.

Η ισχύς laser, ο χρόνος ακτινοβόλησης και ο συνολικός χρόνος θεραπείας και τα αποτελέσματα στην ΙΟΡ (συμπεριλαμβανομένου του χρόνου έγχυσης συνοψίζονται στον πίνακα 4. Για λόγους ασφαλείας, στους 2 πρώτους ασθενείς χρησιμοποιήθηκε χαμηλή ισχύς laser (50mW) ενώ στους επόμενους 4 η ισχύς αυξήθηκε στα 80mW. Δοκιμάστηκε επίσης χρόνος ακτινοβόλησης 1,5min και 3min ανά εφαρμογή (επί 12 εφαρμογές). Οι παράμετροι ακτινοβόλησης των ασθενών συνοψίζονται στον πίνακα 4.

Αριθμός ασθενούς	Ισχύς (mW)	Χρόνος ανά εφαρμογή (min)	Αριθμός εφαρμογών	Συνολικός χρόνος CBPDT (min)
1	50	1,5	12	28
2	50	3	12	46
3	80	1,5	12	28
4	80	3	12	46
5	80	3	12	46
6	80	3	12	46

Πίνακας 4. Ισχύς, χρόνος ανά εφαρμογή, αριθμός εφαρμογών και συνολικός χρόνος CBPDT (συνεχή έγχυση verteporfin και 1 οπτική ίνα).



Εικόνα 36. Ασπρόμαυρη φωτογραφία σκέδασης φωτός μήκους κύματος 689nm στο σκληρό χιτώνα οφθαλμού γουρουνιού. Στη φωτογραφία Α φαίνεται το φως όπως εξέρχεται από το σκληρό (πρόσθια σκέδαση), ενώ στη Β το φως που ανακλάται (οπίσθια σκέδαση). Ο μαύρος κύκλος στο κέντρο της φωτογραφίας Β αντιστοιχεί στο άκρο της οπτικής ίνας 600μm πυρήνα που βρίσκεται σε επαφή με το σκληρό.

Ποσοστό αρχικής ισχύος laser που μεταδίδεται



Εικόνα 37. Το διάγραμμα αυτό παρουσιάζει την απώλεια ισχύος συναρτήσει του πάχους του σκληρού, που υπολογίστηκε στο Β.Ε.Μ.Μ.Ο., με πειράματα σε πτωματικούς οφθαλμούς γουρουνιών. Τα δεδομένα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της ισχύος laser στην CBPDT στον άνθρωπο.

6.3.2 Διάρκεια και εύρος μείωσης IOP, παρακολούθηση και άλλη επέμβαση

Ο ασθενής 1, σιλικονικό γλαύκωμα με αρχική IOP 50mmHg, παρουσίασε μείωση της IOP κατά 7mmHg διάρκειας 6 ωρών. Η παρακολούθηση του ασθενούς διήρκεσε 2 ημέρες, αρνήθηκε δεύτερη επέμβαση και εξήλθε οικειοθελώς.

Ο ασθενής 2, νεοαγγειακό γλαύκωμα από CRVO με αρχική IOP 47mmHg, παρουσίασε μείωση της IOP κατά 25mmHg έως 15mmHg διάρκειας 2 ημερών, μετά αυξήθηκε αλλά παρέμεινε χαμηλότερη της αρχικής κατά 8-12mmHg. Η παρακολούθησή του διήρκεσε 1 μήνα και δεν υποβλήθηκε σε άλλη επέμβαση.

Ο ασθενής 3, νεοαγγειακό γλαύκωμα από CRVO με αρχική IOP 55mmHg, παρουσίασε μείωση της IOP κατά 30mmHg διάρκειας 12 ωρών, μετά αυξήθηκε αλλά παρέμεινε έως 9mmHg χαμηλότερη της αρχικής έως τη 2η ημέρα. Τη 2η ημέρα ο ασθενής υπεβλήθηκε σε ένθεση αντιγλαυκωματικής βαλβίδας.

Ο ασθενής 4, νεοαγγειακό γλαύκωμα από CRVO με αρχική IOP 45mmHg, παρουσίασε μείωση της IOP κατά 10-15mmHg διάρκειας 4 ημερών. Την 4η ημέρα υποβλήθηκε σε επέμβαση ένθεσης αντιγλαυκωματικής βαλβίδας.

Ο ασθενής 5, επώδυνο φακολυτικό γλαύκωμα με αρχική IOP 23mmHg, δεν παρουσίασε μεταβολή της IOP τις πρώτες 3 ημέρες. Ο οφθαλμός (τυφλός) παρέμεινε επώδυνος και ο ασθενής επέλεξε να υποβληθεί σε εξόρυξη.

Ο ασθενής 6, μετατραυματικό γλαύκωμα με αρχική τιμή 25mmHg και ιστορικό ένθεσης αντιγλαυκωματικής βαλβίδας, παρουσίασε μείωση της IOP κατά 10-12 μονάδες διάρκειας 2 ημερών. Την 3η ημέρα παρατηρήθηκε απόφραξη του στομίου του σωληναρίου της βαλβίδας, πιθανόν από φλεγμονώδη στοιχεία, με ταυτόχρονη επαναφορά της IOP στην αρχική τιμή. Έγινε Yag laser καθαρισμός του στομίου και η IOP μειώθηκε ξανά κατά 10mmHg και παρέμεινε μειωμένη. Η παρακολούθησή του διήρκεσε 1 μήνα και δεν υποβλήθηκε σε άλλη επέμβαση.

6.3.3 Επιπλοκές

Δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές επιπλοκές σε κανέναν ασθενή. Παρατηρήθηκε χύμωση επιπεφυκότα κατά τη διάρκεια της CBPDT και τις πρώτες 48h, ήπιο οίδημα βλεφάρων τις πρώτες 48h και ήπια φλεγμονώδη αντίδραση στον πρόσθιο θάλαμο σταδιακά μειούμενη τις πρώτες 2-4 ημέρες. Μικρά επιθηλιακά ελλείμματα επιπεφυκότα, στα σημεία επαφής του άκρου της ίνας, ήταν παρόντα τις πρώτες 3 ημέρες μετά τη CBPDT. Παρατηρήθηκαν, επίσης, μικρές αιμορραγίες επιπεφυκότα (εικόνα 37). Οι επιπλοκές αυτές ήταν παρόμοιες σε όλους τους ασθενείς.



Εικόνα 38. Φωτογραφία προσθίων μορίων ασθενούς 2 πριν από τη CBPDT (A), 1h μετά (B) και 24h μετά (Γ). Παρατηρείται ήπια χύμωση επιπεφυκότα (B) και μικρές αιμορραγίες (Γ, βέλος).

6.4 Συμπεράσματα

Η ακριβής αναγωγή των ρυθμίσεων ακτινοβόλησης των κουνελιών του 3ου πειράματος στον άνθρωπο, λόγω διαφορών μεγέθους του οφθαλμού είναι αδύνατη. Με τη βοήθεια πειραματικών μετρήσεων και υπολογισμών, τη χρήση βιβλιογραφικών δεδομένων ανατομίας (B01, B02, 19) και τα αποτελέσματα των 6 αυτών CBPDT σε ασθενείς, ορίστηκαν ως βέλτιστοι παράμετροι ακτινοβόλησης ισχύς 80mW και χρόνος ακτινοβόλησης ανά εφαρμογή 3min.

Τα αποτελέσματα της CBPDT στους πρώτους 6 ασθενείς με ανθεκτικό γλαύκωμα έδειξαν μείωση της ΙΟΡ πολύ μικρής διάρκειας, από μερικές ώρες έως μερικές ημέρες αναλόγως την περίπτωση και τις παραμέτρους ακτινοβόλησης.

Όπως στα πειραματόζωα, έτσι και στον άνθρωπο επιβεβαιώθηκε η ασφάλεια της μεθόδου, αφού οι μεθεπεμβατικές επιπλοκές ήταν σε κάθε περίπτωση αναμενόμενες και ήπιες, ενώ δεν υπήρξαν σοβαρές επιπλοκές. Επίσης, χάρη στην οπισθοβόλβια αναισθησία η εφαρμογή του άκρου της οπτικής ίνας επί του επιπεφυκότα με ελαφρά πίεση δεν ενόχλησε τον ασθενή.

Η μελέτη αυτή είχε αρκετούς περιορισμούς. Καταρχήν ο αριθμός των ασθενών ήταν μικρός και το είδος του γλαυκώματος ήταν σε κάθε περίπτωση δύσκολα θεραπεύσιμο. Ο συνολικός χρόνος της θεραπείας ήταν πολύ μεγάλος, περίπου 46min, συμπεριλαμβανομένης της συνεχούς έγχυσης verteporfin και της ακτινοβόλησης, δηλαδή η μέθοδος είναι δύσκολα εφαρμόσιμη στην καθημερινή κλινική πράξη. Η παρακολούθηση των ασθενών διεκόπη πρόωρα στις περισσότερες περιπτώσεις και οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε εναλλακτική αντιγλαυκωματική επέμβαση, για λόγους ασφαλείας, επομένως δεν υπάρχουν δεδομένα μακροχρόνιας παρακολούθησης. Στην επόμενη κλινική μελέτη έγινε προσπάθεια επίλυσης των παραπάνω περιορισμών.

7. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟ 2 κλινική μελετή cbpdt me tpiπλή οπτική ina

7.1 Σκοπός

Οι πρώτες 6 κλινικές εφαρμογές έδειξαν ότι η CBPDT είναι ασφαλής αλλά πολύ περιορισμένης αποτελεσματικότητας. Σκοπός της 2ης κλινικής μελέτης ήταν η μείωση του σημαντικότερου από τους περιορισμούς της πρώτης, δηλαδή του συνολικού χρόνου θεραπείας. Η παράμετρος αυτή πιθανόν θα τροποποιούσε την αποτελεσματικότητα, καθώς η συγκέντρωση στο πλάσμα του verteporfin μειώνεται συναρτήσει του χρόνου. Επίσης θα έκανε τη μέθοδο ευκολότερα εφαρμόσιμη στην καθημερινή κλινική πράξη.

7.2 Μεθοδολογία

7.2.1 Verteporfin bolus έγχυση

Σε μία προσπάθεια αύξησης της αποτελεσματικότητας και μείωσης του συνολικού χρόνου θεραπείας έγιναν 2 σημαντικές αλλαγές. Πρώτα, η συνεχής έγχυση verteporfin άλλαξε σε εφάπαξ (bolus) ενδοφλέβια έγχυση, βάσει μελέτης (47) που αποδείκνυε την ασφάλεια της μεθόδου σε ασθενείς με ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς υγρού τύπου που υποβλήθηκαν σε PDT.

7.2.2 Laser και οπτική ίνα με 3 άκρα, παράμετροι ακτινοβόλησης

Η δεύτερη σημαντική αλλαγή ήταν η χρησιμοποίηση νέας οπτικής ίνας με 3 ξεχωριστά άκρα, το καθένα πυρήνα 200μm (Avantes, The Netherlands) (εικόνα 39). Η νέα οπτική ίνα επέτρεπε την ταυτόχρονη ακτινοβόληση 3 περιοχών του ακτινωτού σώματος. Τα 3 άκρα της ίνας ενώθηκαν σε μία λαβή, με διάταξη που επέτρεπαν την ταυτόχρονη ακτινοβόληση 3 περιοχών ακτινωτού τόξου 90° (εικόνα 41). Τα μεσοδιαστήματα μεταξύ 2 διαδοχικών εφαρμογών αυξήθηκαν επομένως στα 4mm περίπου. Έγιναν 4 εφαρμογές της οπτικής αυτής διάταξης (σύνολο 12 εφαρμογές) οι οποίες κάλυψαν τόξο 360° ακτινωτού σώματος. Όπως στην προηγούμενη μελέτη, η ισχύς ακτινοβόλησης ήταν 80mW και ο χρόνος 3min ανά εφαρμογή.

Για να αποδώσει το κάθε άκρο της ίνας ισχύ 80mW, δεδομένου των απωλειών ισχύος σε κάθε σημείο οπτικής ζεύξης, δεν επαρκούσε πλέον το laser "Visulas" της προηγούμενης διάταξης. Χρησιμοποιήθηκε, επομένως ένα νέο διοδικό laser (εικόνα 40) που αποδίδει μεγαλύτερη ισχύ (μέγιστο 1500mW), το "Dio-Endo" (Frankfurt Laser Company, Germany). Το διοδικό αυτό laser δεν είναι εγκεκριμένο για την PDT, είναι όμως εξίσου κατάλληλο, αφού εκπέμπει στο ίδιο μήκος κύματος (689nm) με το "Visulas". Οι μετρήσεις ισχύος στο κάθε άκρο της οπτικής ίνας έγιναν ξανά με το μετρητή ισχύος "Lasermate" (εικόνα 16).



Εικόνα 39. Οπτική ίνα με 3 ξεχωριστά άκρα 200μm πυρήνα το καθένα (Avantes, The Netherlands).



Εικόνα 40. Διοδικό laser "Dio-Endo" (Frankfurt Laser Company, Germany) μήκους κύματος 689nm και μεγάλης ισχύος (μέγιστο 1500mW).



Εικόνα 41. Η νέα οπτική ίνα με τα 3 ξεχωριστά άκρα επέτρεψε την ταυτόχρονη ακτινοβόληση 3 περιοχών του ακτινωτού σώματος σε τόξο 90°. Τα μεσοδιαστήματα μεταξύ 2 διαδοχικών περιοχών ήταν περίπου 4mm. Α: προ έναρξης ακτινοβόλησης στο άνω τεταρτημόριο. Β: ακτινοβόληση του κροταφικού τεταρτημορίου.

7.2.3 Επιλογή ασθενών, παρακολούθηση

Όπως στο κλινικό μέρος 1 επιλέχθηκαν ασθενείς με ανθεκτικά γλαυκώματα και οπτική οξύτητα κάτω του 1/20. Πριν από τη CBPDT έγινε εκτενής ενημέρωσή τους προφορικά και γραπτά με το έντυπο ενημέρωσης και συγκατάθεσης και ελήφθη γραπτή συναίνεση. Δεδομένου των αποτελεσμάτων ασφαλείας των προηγούμενων κλινικών εφαρμογών, μετά τη CBPDT με bolus έγχυση verteporfin και τριπλή ίνα οι ασθενείς δεν νοσηλεύτηκαν στην Οφθαλμολογική Κλινική, εκτός αν συνυπήρχαν άλλες παθήσεις που απαιτούσαν νοσηλεία ή που δυσκόλευαν τη μετακίνησή τους.

Υποβλήθηκαν σε CBPDT (με τριπλή ίνα) συνολικά 5 ασθενείς, 4 άνδρες και 1 γυναίκα, ηλικίας από 48 έως 88 με μέσο όρο τα 68 έτη, 3 νεοαγγειακά γλαυκώματα από CRVO με συνοδό φυσαλιδώδη κερατοπάθεια και 2 ιδιοπαθή ανθεκτικά γλαυκώματα. Τα στοιχεία αυτά παρουσιάζονται στον πίνακα 5.

Υπό τοπική αναισθησία με σταγόνες, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις ΙΟΡ με το τονόμετρο Goldmann προ της CBPDT, 1,2 και 3 ημέρες μετά, 1 εβδομάδα μετά., 2 εβδομάδες μετά και 1, 2 και 3 μήνες μετά. Όλες οι μετρήσεις έγιναν με το ίδιο τονόμετρο και χρησιμοποιήθηκαν οι απόλυτες τιμές, δηλαδή δεν πραγματοποιήθηκε καμία διόρθωση βάσει παχυμετρίας.

Όπως στο κλινικό μέρος 1, για λόγους ασφαλείας, εκτιμήθηκε κατά περίπτωση η ανάγκη διακοπής της παρακολούθησης και υποβολής του ασθενούς σε άλλη αντιγλαυκωματική επέμβαση.

Η παρακολούθηση των ασθενών διήρκεσε 3 μήνες. Δεν έγιναν αλλαγές στην προηγούμενη τοπική αντιγλαυκωματική αγωγή. Μετά τη CBPDT χορηγήθηκε τοπική αγωγή με σταγόνες τομπραμυκίνης και δεξαμεθαζόνης 4 φορές/ημέρα για 4 ημέρες.

Αριθμός ασθενούς	Ηλικία	Φύλο	Αιτιολογία γλαυκώματος
1	75	Άνδρας	Νεοαγγειακό από CRVO
2	68	Γυναίκα	Νεοαγγειακό CRVO
3	48	Άνδρας	Ανθεκτικό γλαύκωμα
4	63	Άνδρας	Νεοαγγειακό από CRVO
5	88	Άνδρας	Ανθεκτικό γλαύκωμα

Πίνακας 5. Ηλικία, φύλο, αρχική ΙΟΡ και αιτιολογία γλαυκώματος των ασθενών που υποβλήθηκαν σε CBPDT με bolus έγχυση verteporfin και τριπλή οπτική ίνα.

7.3 Αποτελέσματα

7.3.1 Μετρήσεις ΙΟΡ

Στον πίνακα 6 συνοψίζονται οι μετρήσεις ΙΟΡ πριν και μετά τη CBPDT σε όλους τους ασθενείς. Παρατηρήθηκε μείωση της ΙΟΡ μετά τη CBPDT σε όλους τους ασθενείς, κατά 30%, στατιστικά οριακά σημαντική μόνο κατά την πρώτη εβδομάδα (one way Anova). Στους ασθενείς 1, 3 και 4 παρατηρήθηκε μείωση της ΙΟΡ καθ' όλη τη διάρκεια της παρακολούθησης (3 μήνες), ενώ στους ασθενείς 2 και 5 η μείωση της ΙΟΡ είχε διάρκεια 1-2 μήνες (εικόνα 41).

7.3.2 Επιπλοκές

Όλοι οι ασθενείς ανέχτηκαν καλά τη CBPDT. Δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές μεθεπεμβατικές επιπλοκές. Ήπια υπεραιμία και χύμωση επιπεφυκότα και ήπιο οίδημα βλεφάρων παρατηρήθηκε σε όλους τους ασθενείς τις πρώτες 24-48h μετά τη CBPDT.Μικρά επιθηλιακά ελλείμματα στον επιπεφυκότα στα σημεία εφαρμογής των άκρων της οπτικής ίνας ήταν επίσης παρόντα τις πρώτες 3 ημέρες μετά τη CBPDT. Παρατηρήθηκε, επίσης, ήπιο επιθηλιακό οίδημα στην περιφέρεια του κερατοειδούς σε 2 ασθενείς κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας παρακολούθησης, που σταδιακά εξαφανίστηκε. Περιοχές με υπό τον επιπεφυκότα αιμορραγίες ήταν παρόντες 360° γύρω από το σκληροκερατοειδικό όριο τις πρώτες 2 εβδομάδες μετά τη CBPDT, οφειλόμενες, πιθανώς, στη φωτοδυναμική θρόμβωση των αγγείων του επιπεφυκότα. Ένα μήνα μετά τη CBPDT δεν παρατηρήθηκε καμία επιπλοκή σε κανέναν ασθενή. Στην εικόνα 43 παρουσιάζονται φωτογραφίες των προσθίων μορίων πριν και σε διάφορες χρονικές στιγμές μετά τη CBPDT.

7.3.2 Συνολικός χρόνος CBPDT ανά ασθενή

Η εφάπαξ (bolus) έγχυση verteporfin και η νέα οπτική διάταξη είχαν ως αποτέλεσμα τον υποτριπλασιασμό του συνολικού χρόνου θεραπείας. Αναλυτικότερα, ο συνολικός χρόνος θεραπείας στην προηγούμενη κλινική μελέτη ήταν 46min. Στην παρούσα κλινική μελέτη, χρειάζονται 1-2min για την bolus έγχυση verteporfin, 1min επιπλέον αναμονή για την αύξηση των επιπέδων verteporfin στα αγγεία του ακτινωτού σώματος, και 12min συνολικός χρόνος ακτινοβόλησης (3min x 4 = 12min) δηλαδή ο συνολικός χρόνος θεραπείας δεν υπερέβη τα 15min.

Δαιθμός	IOP (mmHg)						
Αρισμος ασθενούς	προ	Μετά 3	Μετά 7	Μετά 14	Μετά 1	Μετά 2	Μετά 3
	CBPDT	ημέρες	ημέρες	ημέρες	μήνα	μήνες	μήνες
1	28	27	22	22	24	24	14
2	54	35	36	36	34	40	54
3	30	26	12	20	14	10	9
4	47	30	30	33	36	30	25
5	23	20	12	15	15	-	-

Πίνακας 6. Μετρήσεις ΙΟΡ των 5 ασθενών πριν και μετά τη CBPDT με τριπλή οπτική ίνα και bolus έγχυση verteporfin.



Εικόνα 42. Μέσες τιμές ΙΟΡ με μπάρες τυπικής απόκλισης των 5 ασθενών που υποβλήθηκαν σε CBPDT με την τριπλή οπτική ίνα και bolus έγχυση verteporfin. Οριακά σημαντική μείωση (κατά 30%) παρατηρείται μόνο κατά την 1η εβδομάδα. Σε 3 ασθενείς παρατηρήθηκε μειωμένη ΙΟΡ και τους 3 μήνες παρακολούθησης.



Εικόνα 43. Προ της CBPDT (Α) παρατηρείται υπεραιμία. Μία ώρα μετά (Β) έντονη χύμωση και υπεραιμία επιπεφυκότα. Μία ημέρα μετά (Γ) ήπια χύμωση, υπεραιμία και αιμορραγίες. Μία εβδομάδα μετά (Δ) παραμένουν ίδιες αιμορραγίες, πολύ λιγότερες 2 εβδομάδες μετά (Ε). Ένα 1 μήνα μετά (Ζ) φυσιολογική όψη, χωρίς υπεραιμία.

7.4 Συμπεράσματα

Αν και τα αποτελέσματα της μελέτης ως προς μείωση της ΙΟΡ δεν είναι στατιστικά σημαντικά, κυρίως λόγω του μικρού αριθμού ασθενών, υπάρχει μεγάλη βελτίωση της αποτελεσματικότητας σε σχέση με την προηγούμενη, υπό τις ίδιες συνθήκες ασφάλειας (ήπιες μεθεπεμβατικές παρενέργειες, απουσία σοβαρών επιπλοκών).

Χάρη στην αλλαγή του τρόπου ενδοφλέβιας έγχυσης του verteporfin (από συνεχή σε εφάπαξ) μειώθηκε ο απαιτούμενος εξοπλισμός και απλουστεύθηκε η διαδικασία. Επίσης, η χρήση της νέας οπτικής ίνας με τα 3 άκρα υποτριπλασίασε το χρόνο ακτινοβόλησης. Ο συνολικός χρόνος θεραπείας ήταν 15min. Συνεπώς, με τις τελευταίες ρυθμίσεις η CBPDT έγινε μέθοδος "φιλική" στην καθημερινή κλινική πράξη.

Παρέμειναν σημαντικοί περιορισμοί της μελέτης ο μικρός αριθμός ασθενών και ο περιορισμένος χρόνος παρακολούθησης. Επίσης, θα ήταν χρήσιμη η μελέτη της ακτινοβόλησης χωρίς προηγούμενη έγχυση verteporfin (ομάδα ελέγχου).

8. ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

8.1 Ορισμός γλαυκώματος και φωτοδυναμικής θεραπείας

Το γλαύκωμα είναι μία από τις σημαντικότερες αιτίες τύφλωσης παγκοσμίως, οφειλόμενη στην προοδευτική μη αναστρέψιμη καταστροφή των νευρικών ινών του οπτικού νεύρου (23,24). Ο σημαντικότερος παράγοντας προόδου του γλαυκώματος είναι η ενδοφθάλμια πίεση (IOP) και όλες οι παρούσες θεραπείες στοχεύουν στη μείωσή της (19). Η IOP είναι αποτέλεσμα ισορροπίας μεταξύ παραγωγής και απορροής του υδατοειδούς υγρού, ενός διαυγούς υγρού που γεμίζει τα πρόσθια μόρια του οφθαλμού και παράγεται από τις ακτινοειδείς προβολές του ακτινωτού σώματος (21). Οι τοπικές θεραπείες, οι θεραπείες με laser και οι χειρουργικές θεραπείες του γλαυκώματος, που σκοπό έχουν τη μείωση της ΙΟΡ μέσω αύξησης της απορροής του υδατοειδούς, δεν δύνανται να ελέγζουν την ΙΟΡ σε όλες τις περιπτώσεις (25,27,28,29,51). Οι σύγχρονες μέθοδοι κυκλοκαταστροφής, που σκοπό έχουν τη μείωση της ΙΟΡ μέσω καταστροφής ακτινοειδών προβολών, έχουν συχνά σοβαρές παρενέργειες (33,34,30,31,52).

Η φωτοδυναμική θεραπεία (PDT) είναι το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης μεταξύ φωτοευαίσθητης ουσίας και φωτός παρουσία οξυγόνου, με αποτελέσματα την έκλυση ελευθέρων ριζών οξυγόνου, την καταστροφή των ενδοθηλιακών κυττάρων και τη θρόμβωση των αγγείων (18). Η ιδέα της εκλεκτικής καταστροφής-καταστολής των ακτινοειδών προβολών, που είναι ιστός αγγειοβριθής, μέσω της διασκληρικής PDT του ακτινωτού σώματος (CBPDT) ξεκίνησε στα μέσα της δεκαετίας του 1990, σε πειραματόζωα και με φωτοευαισθητοποιητές κυρίως της κατηγορίας της φθαλοκυανίνης (35,36,37,39).

Το έτος 2000 ο φωτοευαισθητοποιητής verteporfin έλαβε έγκριση για χρήση στον άνθρωπο για PDT στην ωχροπάθεια συνοδό χοριοειδική νεοαγγείωση (18). Το μήκος κύματος που ενεργοποιεί το verteporfin (689nm) είναι κατάλληλο για διασκληρική ακτινοβόληση, καθώς δεν απορροφάται από αίμα, μελανίνη και ινικό ιστό (18). Επίσης, οι υποδοχείς των λιποπρωτεϊνών LDL, δεσμευμένο στις οποίες κυκλοφορεί το verteporfin (REF), αυξάνουν στις περιπτώσεις νεο-αγγείων, όπως στο νεοαγγειακό γλαύκωμα. Τα δεδομένα αυτά έδωσαν νέα ώθηση στα πειράματα CBPDT.

8.2 CBPDT: Πειράματα σε έγχρωμα κουνέλια

Οι τελευταίες μελέτες CBPDT, με φθαλοκυανίνη σε φυσιολογικά κουνέλια (37, 39) και με verteporfin σε γενετικά τροποποιημένους γλαυκωματικούς αρουραίους (43) έδειξαν ότι η μέθοδος προκαλεί βραχυπρόθεσμη μείωση της IOP, διάρκειας από ημέρες έως μερικές εβδομάδες, υπό συνθήκες μεγάλης ασφάλειας (ήπιες παρενέργειες, απουσία σοβαρών επιπλοκών). Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η βέλτιστη ρύθμιση των παραμέτρων δοσολογίας και ακτινοβόλησης σε πειραματόζωα και στη συνέχεια η εφαρμογή της CBPDT στον άνθρωπο σε ανθεκτικά γλαυκώματα. Ως πειραματόζωα χρησιμοποιήθηκαν έγχρωμα κανονικά κουνέλια.

Τα κουνέλια πλεονεκτούν σε σύγκριση με άλλα συνηθισμένα πειραματόζωα (ποντίκια, αρουραίοι) διότι το μέγεθος και η ανατομία του οφθαλμού τους (49) πλησιάζει αυτά του ανθρώπου.

Η αξιοπιστία των μετρήσεων ΙΟΡ σε κουνέλια είναι παράμετρος θεμελιώδης στην παρούσα διατριβή, επομένως το πρώτο πείραμα στόχευσε και απέδειξε ότι το

τονόμετρο TonoPen-XL είναι κατάλληλο για τις μετρήσεις ΙΟΡ στα παρακάτω πειράματα.

Στη συνέχεια, στο 2ο πείραμα έγινε αρχικά ρύθμιση των παραμέτρων CBPDT βάσει των ευρημάτων από την ιστολογική εξέταση του ακτινωτού σώματος, ύστερα από θυσία των πειραματόζωων και εξόρυξη των οφθαλμών. Βάσει προηγούμενων μελετών, αναζητήθηκαν οι παράμετροι που προκαλούν σημαντικές φωτοδυναμικές αλλοιώσεις στις ακτινοειδείς προβολές (οίδημα μεταξύ των επιθηλιακών στρωμάτων θρόμβωση αγγείων), χωρίς συνοδό θερμική βλάβη. Οι βέλτιστοι παράμετροι βρέθησαν verteporfin δόση 1mg/Kg, 25-35mW ισχύς laser στο άκρο της οπτικής ίνας και χρόνος ακτινοβόλησης 3 λεπτά ανά εφαρμογή. Η απουσία θερμικής βλάβης και η παρουσία φωτοδυναμικών αλλοιώσεων μόνο στις ακτινοβοληθείσες ακτινοειδείς προβολές και όχι στις διπλανές έδειξαν την εκλεκτικότητα της μεθόδου.

Εφαρμογή των παραμέτρων αυτών σε άλλα πειραματόζωα έδειξε σημαντική μείωση της IOP διάρκειας 4-6 ημερών. Αναλυτικά έγιναν 7 εφαρμογές CBPDT, με μεσοδιαστήματα 2mm, που κάλυπταν 180° ακτινωτού σώματος. Σε καθεμία εφαρμογή το μεταλλικό άκαμπτο άκρο της οπτικής ίνας ήταν σε επαφή με τον επιπεφυκότα-σκληρό πάνω από το ακτινωτό σώμα, δηλαδή 0,5mm πίσω από το σκληροκερατοειδικό όριο και ασκούσε ελαφρά πίεση. Η βιομικροσκόπηση των οφθαλμών των πειραματόζωων αυτών έδειξε ήπιες παρενέργειες τις πρώτες 48h, απουσία σοβαρών επιπλοκών.

Στο 3ο πείραμα έγινε προσπάθεια αύξησης της αποτελεσματικότητας, μέσω αύξησης της επιφάνειας ακτινοβόλησης με μία νέα οπτική ίνα μεγαλύτερης διαμέτρου πυρήνα (600μm αντί 100μm στο πείραμα 2). Λόγω της διαφορετικής ίνας, έγινε επαναρρύθμιση των παραμέτρων CBPDT, σε ισχύ laser 40mW, και χρόνο ακτινοβόλησης 1,5min επί 10 εφαρμογές. Ο υποδιπλασιασμός του χρόνου ακτινοβόλησης και η αύξηση του αριθμού των εφαρμογών δεν επηρέασαν το εύρος και τη διάρκεια της μείωσης της CBPDT, που παρέμεινε στις 6 ημέρες.

Με αυτές τις παραμέτρους ακτινοβόλησης έγιναν στη συνέχεια 4 διαδοχικές συνεδρίες CBPDT, ανά 4 ημέρες, στους ίδιους οφθαλμούς κουνελιών και μελετήθηκε η IOP και οι ιστολογικές αλλοιώσεις του ακτινωτού σώματος στις διάφορες χρονικές στιγμές. Και σε αυτή την περίπτωση δεν αυξήθηκε η αποτελεσματικότητα, ως προς τη μείωση της IOP, αφού 5 ημέρες μετά την 4η συνεδρία CBPDT η IOP πλησίασε τις προ θεραπείας τιμές. Παράλληλα, οι ιστολογικές εξετάσεις επιβεβαίωσαν την εκλεκτικότητα της μεθόδου και, επιπλέον, έδειξαν ότι οι φωτοδυναμικές αλλοιώσεις στις ακτινοειδείς προβολές είναι αντιστρεπτές. Όπως η ιστολογική εικόνα, έτσι και η μακροσκοπική εικόνα του ακτινωτού σώματος παρέμεινε αναλλοίωτη μετά από τις 4 συνεδρίες CBPDT. Ξανά, η βιομικροσκόπηση των προσθίων μορίων των οφθαλμών των κουνελιών έδειξε ήπιες παρενέργειες τις πρώτες 1-2 ημέρες μετά τη CBPDT, απουσία σοβαρών επιπλοκών.

Ακόμη και μετά από 4 διαδοχικές CBPDT η διάρκεια της μείωσης της ΙΟΡ ήταν μικρή (5-6 ημέρες). Μία πιθανή αιτία την μικρής αυτής αποτελεσματικότητας είναι το μήκος κύματος του φωτός που χρησιμοποιείται για τη διέγερση του verteporfin (689nm) παρουσιάζει χαμηλή διασκληρική διαπερατότητα (50). Αυτό συνεπάγεται ότι αφενός χρειάζεται σχετικά υψηλή ισχύς laser για την επίτευξη φωτοδυναμικών αλλοιώσεων στις ακτινοειδείς προβολές, αφετέρου η ισχύς laser έχει ένα ανώτατο όριο πέρα από το οποίο παρατηρείται θερμική βλάβη. Πιθανόν η χρήση άλλων φωτοευαισθητοποιητών με καλύτερη διασκληρική διαπερατότητα θα επηρέαζε θετικά την αποτελεσματικότητα της μεθόδου.

Έγινε, τέλος, με το 4ο πείραμα, σύγκριση των αποτελεσμάτων στην ιστολογία και στην ΙΟΡ της CBPDT με αυτά της "παραδοσιακής" και καλά δοκιμασμένης μεθόδου κυκλοκαταστροφής, της κυκλοκρυοπηξίας (30). Η εφαρμογή της κυκλοκρυοπηξίας σε κουνέλια προκάλεσε πλήρη καταστροφή των ακτινοειδών προβολών, με συνοδό ουλοποίηση, και μείωση της ΙΟΡ διάρκειας άνω του μηνός. Οι

παρενέργειες ήταν επίσης εντονότερες και μεγαλύτερης διάρκειας (εβδομάδα). Τα αποτελέσματα και αυτού του πειράματος επιβεβαίωσαν ότι η CBPDT είναι μέθοδος κυκλοκαταστολής (και όχι κυκλοκαταστροφής) ασφαλής για χρήση στον άνθρωπο.

8.3 CBPDT: Κλινικές εφαρμογές σε ανθεκτικά γλαυκώματα

Το πειραματικό μέρος της διατριβής απέδειξε ότι η CBPDT είναι ασφαλής και βραχυπρόθεσμα αποτελεσματική. Για την εφαρμογή της στον άνθρωπο συντάχθηκε ερευνητικό πρωτόκολλο, το οποίο εγκρίθηκε από την τοπική επιστημονική επτιτροπή. Επίσης συντάχθηκε έντυπο ενημέρωσης και συγκατάθεσης, το οποίο συζητήθηκε εκτενώς με τον ασθενή προ της CBPDT και ελήφθη ενυπόγραφη συγκατάθεση. Επίσης, προ της CBPDT ο ασθενής υποβλήθηκε σε πλήρη οφθαλμολογική εξέταση, για τον ακριβή προσδιορισμό του είδους του γλαυκώματος και των συνοδών οφθαλμικών παθήσεων. Όλες οι μετρήσεις ΙΟΡ έγιναν με το τονόμετρο Goldman, που είναι το πλέον αξιόπιστο για τον άνθρωπο (19).

Η πρώτη πιλοτική εφαρμογή της CBPDT σε έγινε σε 6 ασθενείς, 6 ανθεκτικά γλαυκώματα, από τα οποία 5 νεοαγγειακά και 1 από σιλικόνη. Σε κάθε περίπτωση, ο ασθενής ήταν ξαπλωμένος στο εξεταστικό κρεβάτι και έγινε οπισθοβόλβια τοπική αναισθησία. Έγινε υπολογισμός της δόσης του verteporfin, σύμφωνα με το ύψος και βάρος του ασθενούς, και ενδοφλέβια χορήγηση με αντλία συνεχούς έγχυσης, όπως και στην PDT για την ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς υγρού τύπου (20). Αμέσως μετά το τέλος της έγχυσης ξεκίνησε η διασκληρική ακτινοβόληση με εφαρμογή του άκρου

της οπτικής ίνας (του 3ου πειράματος) επί του επιπεφυκότα-σκληρού 1mm πίσω από το σκληροκερατοειδικό όριο. Λόγω των διαφορετικών διαστάσεων του ανθρώπινου οφθαλμού, βάσει πειραμάτων σκέδασης του φωτός και μαθηματικών υπολογισμών, ορίστηκε ως ελάχιστη ισχύς laser 50mW και ως μέγιστη 80mW. Δοκιμάστηκαν χρόνος ακτινοβόλησης 1,5min και 3min ανά εφαρμογή επί 12 εφαρμογές, σε τόξο 180° ακτινωτού σώματος, με μεσοδιαστήματα 2mm.

Οι πρώτες 6 κλινικές εφαρμογές επιβεβαίωσαν την ασφάλεια της CBPDT, αφού οι μεθεπεμβατικές παρενέργειες ήταν ήπιες και δεν σημειώθηκαν σοβαρές επιπλοκές. Η αποτελεσματικότητα, όμως, της μεθόδου στη μείωση της IOP ήταν πολύ περιορισμένη (από 6 ώρες έως μερικές ημέρες). Σε αυτό συνέβαλαν το είδος των γλαυκωμάτων) που ήταν σε κάθε περίπτωση δύσκολα θεραπεύσιμα. Επίσης, ο συνολικός χρόνος της θεραπείας ήταν πολύ μεγάλος, περίπου 46min, συμπεριλαμβανομένης της συνεχούς έγχυσης verteporfin και της ακτινοβόλησης, που σήμαινε δυσκολία εφαρμογής της CBPDT στην καθημερινή κλινική πράξη. Τέλος, για λόγους ασφαλείας, η παρακολούθηση των ασθενών διεκόπη πρόωρα στις περισσότερες περιπτώσεις και οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε εναλλακτική αντιγλαυκωματική επέμβαση, επομένως δεν υπήρξαν δεδομένα μακροχρόνιας παρακολούθησης.

Σκοπός της 2ης κλινικής μελέτης ήταν η μείωση του σημαντικότερου από τους περιορισμούς της πρώτης, δηλαδή του συνολικού χρόνου θεραπείας. Βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων (E04), έγινε αλλαγή του τρόπου χορήγησης του verteporfin από συνεχή ενδοφλέβια έγχυση σε εφάπαξ (bolus), χωρίς μεταβολή της δόσης. Η 2η σημαντική αλλαγή ήταν η χρήση νέας οπτικής ίνας με 3 μεταλλικά άκαμπτα άκρα, τα οποία εφαρμόστηκαν σε μεταλλικό σκελετό, επιτρέποντας την ταυτόχρονη ακτινοβόληση 3 περιοχών του ακτινωτού σώματος. Για λόγους ευθυγράμμισης και για αποφυγή αλληλοεπικάλυψης, τα μεσοδιαστήματα μεταξύ 2 ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

άκρων αυξήθηκαν στα 4mm και κάθε τριπλή εφαρμογή κάλυπτε τόξο 90° ακτινωτού σώματος. Στο ένα τρίτο, επομένως του χρόνου έγιναν 12 εφαρμογές CBPDT, που κάλυψαν 360° ακτινωτού. Η ισχύς laser κάθε άκρου ρυθμίστηκε στα 80mW και ο χρόνος ακτινοβόλησης ανά εφαρμογή στα 3 λεπτά.

Υποβλήθηκαν σε CBPDT 5 ασθενείς. Παρατηρήθηκε μείωση της ΙΟΡ μετά τη CBPDT σε όλους κατά 30%, οριακά σημαντική μόνο κατά την πρώτη εβδομάδα, σε 3 από τους 5 η ΙΟΡ παρέμεινε κατώτερη της αρχικής καθ' όλους τους 3 μήνες της παρακολούθησης, ενώ στους άλλους 2 η διάρκεια της μείωσης της ΙΟΡ ήταν 1-2 μήνες. Η CBPDT ήταν καλά ανεκτή και δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές επιπλοκές.

Αν και μη στατιστικά σημαντικά, λόγω του περιορισμένου αριθμού ασθενών, τα αποτελέσματα της κλινικής αυτής μελέτης δείχνουν αξιοσημείωτη αποτελεσματικότητα της μεθόδου ως προς τη μείωση της IOP, υπό συνθήκες ήπιων παρενεργειών και απουσία σοβαρών επιπλοκών. Ο συνολικός χρόνος θεραπείας (15min), όπως διαμορφώθηκε με τις τελευταίες ρυθμίσεις, και η απλούστευση της ενδοφλέβιας έγχυσης του φαρμάκου (bolus) καθιστούν τη μέθοδο "φιλική" στην καθημερινή κλινική πράξη. Παραμένουν άλυτα προβλήματα ότι η χρήση του φαρμάκου είναι μη ενδεδειγμένη (off-label), καθώς και το υψηλό του κόστος.

Συμπερασματικά, η φωτοδυναμική θεραπεία ακτινωτού σώματος με verteporfin, υπό τις παρούσες ρυθμίσεις, είναι μία ελπιδοφόρα μέθοδος κυκλοκαταστολής, φιλική προς τον οφθαλμό και εύκολα εφαρμόσιμη στην καθημερινή κλινική πράξη για τη βραχυπρόθεσμη αντιμετώπιση του γλαυκώματος. Για τον ακριβή προσδιορισμό των ενδείξεων και την επίτευξη μακροχρόνιας αποτελεσματικότητας χρειάζονται νέες μελέτες, για την περεταίρω βελτίωση των ρυθμίσεων και την εφαρμογή της σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών.

101

Ciliary body photodynamic therapy with verteporfin : experimental and clinical trial

Glaucoma is one of the leading causes of blindness worldwide, due to progressive irreversible loss of optic nerve fibers (23,24). The main risk factor of glaucoma is the intraocular pressure (IOP) and all current anti-glaucoma treatments aim to its reduction (19). Topical anti-glaucoma medications and current surgical treatments, cannot always control the IOP (25,27,28,29,51). Current cyclodestructive procedures have a high rate of serious complications (33,34,30,31,52). The purpose of this study is to investigate the potential of transcleral ciliary body photodynamic treatment with verteporfin (CBPDT) for use in refractory glaucoma cases.

Four experiments with rabbits were first performed, to test safety and efficacy of CBPDT. Since all IOP measurements in rabbits were performed with TonoPen-XL under general anesthesia, the first experiment studied its accuracy and concluded it is reliable for IOPs between 10 and 70mmHg and that it slightly underestimates IOP in rabbits (Real_IOP = 1.3472*TONO-PEN-7.0333 mmHg). The second experiment studied the treatment settings necessary for CBPDT in pigmented rabbits, without thermal damage (controlled with histology), and resulted in verteporfin dose 1mg/Kg, laser power 25-35mW and irradiation time 3 min (100µm core optic fiber). These settings produced significant IOP reduction for 4-6 days. In an effort to increase efficacy, a 600µm core optic fiber was used in the third experiment and treatment parameters were readjusted to laser power 40mW and treatment time 1,5min per spot. These settings produced significant IOP reduction again for 6 days. Four consecutive CBPDT every 4 days (same settings) was then performed, which concluded that both IOP reduction and photodymic ciliary body histological alterations (vascular

SUMMARY

thrombosis, edema and separation of the 2 epithelial layers) are reversible a week after. No serious adverse events were observed in experiments 2 and 3. In the fourth experiment cyclocryotherapy was performed in rabbits, which resulted in IOP reduction for more than a month, permanent ciliary processes' destruction and significant side effect during the first week after treatment. All 4 experiments concluded that CBPDT is a cyclosuppressive procedure safe for human use.

In the first, pilot, clinical study CBPDT settings were readjusted for human use, in verteporfin dose and continuous infusion as for macular PDT, laser power 80mW (thicker human sclera) and irradiation time 3 min per spot, for 12 spots. CBPDT with these settings in cases of refractory glaucoma and blind eyes, under retrobulbar anesthesia, produced IOP reduction that lasted from some hours to few days. In the second clinical study, a new triple optic fiber was used, to irradiate 3 spots contemporarily, and verteporfin (dose same as for macular PDT) was infused in bolus. These settings reduced whole treatment time to 15min. Irradiation was performed again under retrobulbar anesthesia and total number of spots was 12 (360° of ciliary body). The metallic tip of the optic fiber was in contact with conjunctiva-sclera, with mild pressure, 1 mm behind the sclerocorneal limbus. Five cases of refractory glaucoma and legally blind eyes were so treated. IOP reduction of about 30% of the initial value was observed in all cases during the first week after CBPDT. In 2 cases the IOP returned to pretreatment values 1-2 months after treatment, while in the rest 3 cases the IOP reduction lasted for more than 3 months. No serious adverse events were observed in any case.

This study concluded that CBPDT is a cyclosuppressive procedure safe for human use, which has a short term efficacy. Further study is required in order to increase efficacy and best determine its possible role in the treatment of glaucoma.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

 Moan, J.; Q. Peng (2003). "An outline of the history of PDT". in Thierry Patrice. Photodynamic Therapy. Comprehensive Series in Photochemistry and Photobiology.
The Royal Society of Chemistry. pp. 1–18.

2. Karagianis G, Hill JS, Stylli SS, Kaye AH, Varadaxis NJ, Reiss JA, Phillips DR. Evaluation of porphyrin C analogues for photodynamic therapy of cerebral glioma. Br J Cancer. 1996 Feb;73(4):514-21.

3. Popovic EA, Kaye AH, Hill JS. Photodynamic therapy of brain tumors. J Clin Laser Med Surg. 1996 Oct;14(5):251-61. Review.

4. Panagopoulos, J.A., P.P. Svitra, C.A. Puliafito and E.S. Gragoudas (1989) Photodynamic therapy for intraocular melanoma using chloroaluminum sulfonated phthalocyanine. *Arch Ophthalmol.* 107, 886-890.

5. Winther JB. The effect of photodynamic therapy on a retinoblastoma-like tumour. An experimental in vitro and in vivo study on the potential use of photodynamic therapy in the treatment of retinoblastoma. Acta Ophthalmol Suppl. 1990;(197):1-37.

6. Wilson CA, Saloupis P, Hatchell DL. Treatment of experimental preretinal neovascularization using photodynamic thrombosis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1991 Aug;32(9):2530-5.

7. Miller, J.W., W.G. Stinson, W.A. Gregory, H.A. El-Koumy and C.A. Puliafito (1991). Phthalocyanine photodynamic therapy of experimental iris neovascularization. *Ophthalmology*. 98, 1711-1719.

8. Tsilimbaris, M.K., I.G. Pallikaris, I.I. Naoumidi, I.G. Vlahonikolis, A.K. Tsakalof and S.E. Lydataki (1994) Phthalocyanine mediated photodynamic thrombosis of experimental corneal neovascularization: effect of phthalocyanine dose and irradiation onset time on vascular occlusion rate. *Lasers Surg Med.* 15(1), 19-31.

9. Schmidt-Erfurth U, Hasan T, Gragoudas E, Michaud N, Flotte TJ, Birngruber R. Vascular targeting in photodynamic occlusion of subretinal vessels. Ophthalmology. 1994 Dec;101(12):1953-61.

10. Favilla I, Favilla ML, Gosbell AD, Barry WR, Ellims P, Hill JS, Byrne JR. Photodynamic therapy: a 5-year study of its effectiveness in the treatment of posterior

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

uveal melanoma, and evaluation of haematoporphyrin uptake and photocytotoxicity of melanoma cells in tissue culture. Melanoma Res. 1995 Oct;5(5):355-64

11. Obana A, Gohto Y, Kanai M, Nakajima S, Kaneda K, Miki T. Selective photodynamic effects of the new photosensitizer ATX-S10(Na) on choroidal neovascularization in monkeys. Arch Ophthalmol. 2000 May;118(5):650-8.

12. Gohto Y, Obana A, Kanai M, Nagata S, Miki T, Nakajima S. Photodynamic therapy for corneal neovascularization using topically administered ATX-S10 (Na). Ophthalmic Surg Lasers. 2000 Jan-Feb;31(1):55-60.

13. Fossarello, M., E. Peiretti, I. Zucca and A. Serra (2003) Photodynamic therapy of corneal neovascularization with verteporfin. *Cornea*. 22(5), 485-8.

14. Fossarello, M., E. Peiretti, I. Zucca, M.T. Perra, A. Serra (2004) Photodynamic therapy of pterygium with verteporfin: a preliminary report. *Cornea*. 23(4), 330-8.

15. Barbazetto, I.A., T.C. Lee, D.H. Abramson (2004) Treatment of conjunctival squamous cell carcinoma with photodynamic therapy. *Am J Ophthalmol*. 138(2),183-9

16. Parodi MB, Iacono P. Photodynamic therapy with verteporfin for anterior segment neovascularizations in neovascular glaucoma. Am J Ophthalmol 2004; 138(1):157-8.

17. Parodi MB, Iacono P, Ravalico G. Verteporfin photodynamic therapy for anterior segment neovascularization secondary to ischaemic central retinal vein occlusion. Clin Experiment Ophthalmol 2008; 36(3):232-7.

18. Schmidt-Erfurth U, Hasan T. Mechanisms of Action of Photodynamic Therapy with Verteporfin for the Treatment of Age-Related Macular Degeneration. Surv Ophthalmol 2000; 45(3):195-214.

19. Myron Yanoff and Jay S. Duker, Editors, Ophthalmology (2nd Edition), Mosby, St. Louis (2004)

20. Guidelines for using verteporfin (visudyne) in photodynamic therapy to treat choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration and other causes. Retina 2002; 22(1):6-18.

21. Kaufman P.L. and A. Albert.(2003) Aqueous humor hydrodynamics. In *Adler's physiology of the eye*. Edited by Gabelt B.T. and P.L. Kaufman), 237-239. Mosby, St. Louis, Missouri, USA

22. Bhan A, Browning A, Hamilton R, Dave D, Dua H: Effect of corneal thickness on intraocular pressure measurements with the pneumotonometer, Goldmann applanation tonometer, and Tono-Pen. Invest Ophthalmol Vis Sci 2002, 43(5):1389-1392.

23. Kozobolis VP, Detorakis ET, Tsilimbaris M, Siganos DS, Vlachonikolis IG, Pallikaris IG. Crete, Greece Glaucoma Study. J Glaucoma 2000; 9: 143–149.

24. Cedrone C, Mancino R, Cerulli A, Cesareo M, Nucci C. Epidemiology of primary glaucoma: prevalence, incidence, and blinding effects. Prog Brain Res 2008;173:3-14.

25. Schuman JS. Antiglaucoma Medications: A Review of Safety and Tolerability Issues Related to Their Use. Clin Ther 2000; 22(2):167-208.

26. Jampel HD, Musch DC, Gillespie BW, Lichter PR, Wright MM, Guire KE; Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study Group. Perioperative complications of trabeculectomy in the Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study (CIGTS). Am J Ophthalmol 2005; 140(1):16-22.

27. Hong CH, Arosemena A, Zurakowski D, Ayyala RS. Glaucoma Drainage Devices: A Systematic Literature Review and Current Controversies. Surv Ophthalmol 2005; 50(4):411.

28. Minckler DS, Francis BA, Hodapp EA, Jampel HD, Lin SC, Samples JR, Smith SD, Sing K. Aqueous shunts in glaucoma: a report by the American Academy of Ophthalmology. Ophthalmology 2008; 115(6):1089-98.

29. Juzych MS, Chopra V, Banitt MR, Hughes BA, Kim C, Goulas MT, Shin DH. Comparison of long-term outcomes of selective laser trabeculoplasty versus argon laser trabeculoplasty in open-angle glaucoma. Ophthalmology 2004; 111(10):1853-9.

30. Bellows, A.R. (1981) Cyclocryotherapy for glaucoma. *Int Opthalmol Clin.* 21, 99-111.

31. Beckman, H. and J. Waeltermann (1984) Transcleral ruby laser Cyclophotocoagulation. *Am J Opthalmol.* 98, 788-795.

32. Schubert HD, Federman JL. A comparison of CW Nd:YAG contact transscleral cyclophotocoagulation with cyclocryopexy. Invest Ophthalmol Vis Sci 1989; 30(3):536-42.

33. Netland PA, Mansberger SL, Lin S. Uncontrolled intraocular pressure after endoscopic cyclophotocoagulation. J Glaucoma 2007; 16(2):265-7.

34. Ahmad S, Wallace DJ, Herndon LW. Phthisis after endoscopic cyclophotocoagulation. Ophthalmic Surg Lasers Imaging 2008; 39(5):407-8.

35. Hill RA, Esterowitz T, Ryan J, Liaw LH, Nelson JS, Yashiro H, Krasieva T, Berns MW. Photodynamic laser cyclodestruction with chloroaluminum sulfonated phthalocyanine (CASPc) or Photofrin (PII) vs. Nd:YAG laser cyclodestruction in a pigmented rabbit model. Lasers Surg Med 1995; 17(2):166-71.

36. Hill RA, Garrett J, Reddi S, et al. Photodynamic therapy (PDT) of the ciliary

body with silicon naphthalocyanine (SINc) in rabbits. Lasers Surg Med 1996; 18:86-91.

37. Tsilimbaris MK, Naoumidi II, Naoumidis LP, Papageorgiou E, Pallikaris IG. Transscleral ciliary body photodynamic therapy using phthalocyanine and a diode laser: functional and morphologic implications in albino rabbits. Ophthalmic Surg Lasers 1997; 28(6):483-94.

38. Hill RA, Crean DH, Doiron DR, Ghosheh F, Ryan JA, Kelly H, Booth M, Liaw LH, Newman L, Berns MW. Photodynamic therapy of the ciliary body with tin ethyl etiopurpurin and tin octaethyl benzochlorin in pigmented rabbits. Ophthalmic Surg Lasers 1997; 28(11):948-53.

39. Tsilimbaris MK, Naoumidi II., Naoumidis LP, Papageorgiou E, Pallikaris IG.: Ciliary body PDT in pigmented rabbit eyes: effect of single and repeated treatment. Current Eye Res 2000; 20(6):469-479.

40. Lim S, Wickremasinghe S, Cordeiro F, Bunce C, Khaw P: Accuracy of intraocular pressure measurements in New Zealand white rabbits. Invest Ophthalmol Vis Sci 2005, 46(7):2419-2423.

41. Charisis SK, Ginis HS, Kounis GA and Tsilimbaris MK: Tono-Pen XL tonometry during application of a suction ring in rabbits. BMC Ophthalmology 2008, 8:14

42. Tsilimbaris MK, Charisis SK, Naoumidi T, Panteleontidis V, Skondra D, Christodoulakis E, Naoumidi I. Contact transscleral ciliary body photodynamic therapy in pigmented rabbits using verteporfin and diode laser: evaluation of treatment parameters. Curr Eye Res 2006; 31(7-8):577-85.

43. Matsubara A, Nakazawa T, Husain D, Iliaki E, Connolly E, Michaud N, Gragoudas ES, Miller JW. Investigating the Effect of Ciliary Body Photodynamic

Therapy in a Glaucoma Mouse Model. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006; 47(6):2498-507.

44. Tsilimbaris, M.K., I.G. Pallikaris and S. Lydataki (1995) Photothrombosis using two different phthalocyanine administration routes: continuous i.v. infusion versus bolus i.v. injection. Photochemistry and Photobiology. 62(3), 535-541.

45. Καρυωτάκης Ν. Διασκληρική Φωτοδυναμική Κυκλοκαταστροφή. Πανεπιστήμιο Κρήτης, Μεταπτυχιακή Διατριβή 2005.

46. Olsen TW, Aaberg SY, Geroski DH, Edelhauser HF. Human sclera: thickness and surface area. Am J Ophthalmol 1998; 125(2):237-41.

47. Michels S, Hansmann F, Geitzenauer W, Schmidt-Erfurth U. Influence of treatment parameters on selectivity of verteporfin therapy. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006; 47(1):371-6.

48. Spyridon K. Charisis, Irene I. Naoumidi, Harilaos S. Ginis, Efstathios T. Detorakis, Miltiadis K. Tsilimbaris: Contact Transcleral Ciliary Body Photodynamic Therapy with Verteporfin in Pigmented Rabbits: Effect of Repeated Treatments. Photochemistry and Photobiology (accepted 31 August 2009)

49. Prince, JH, Diesem, DC, Eglitis, I, Ruskell, GL. (1960) The rabbit Anatomy and Histology of the Eye and Orbit in Domestic Animals. Springfield, IL: Charles C

50. Vogel, A., C. Dlugos, R. Nuffer and R. Birngruber (1991) Optical properties of human sclera, and their consequences for transcleral laser applications. *Lasers Surg Med*. 11(4), 331-40.

51. Jampel HD, Musch DC, Gillespie BW, Lichter PR, Wright MM, Guire KE; Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study Group. Perioperative complications of trabeculectomy in the Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study (CIGTS). Am J Ophthalmol 2005; 140(1):16-22.

52. Lin SC. Endoscopic and transscleral cyclophotocoagulation for the treatment of refractory glaucoma. J Glaucoma 2008; 17(3):238-47.
ПАРАРТНМАТА

	ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜ Ο Φ Θ Α Λ Μ Ο Λ Ο ΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ Δ/ντής: Επικ. Καθ. Μ. Κ. Τσιλιμηάρης	IEIO HPAKA	EIOY
Ð	Πανεπιστήμιο Κρήτης / Σχοθή Επισ Ινστιτούτο Οπτικής இ Όρασης - ΒΕΜ Δ/ντής: Καθηγητής Ι. Γ. Παθθήκαρης	τημών Υγε ΜΟ	ías
		Δελτίο ε	νημέρωσης ασθενούς
	ΦΩΤΟΔΥΝΑΜ	IKH	ΘΕΡΑΠΕΙ
	ΤΟΥ ΑΚΤΙΝΩ	ΤΟΥ	ΣΩΜΑΤΟ
	Mł	C VER	TEPORFI
Αναπητέ α	σθενή		Æ
Η θεραπεί σας. Για το Παρακαλώ συνέχεια ν 1) την πά 2) το είδο συνέπειες τη συγκεκρ	α που σας συνιστούμε χρειάζεται τη συγκατάθεσή λόγο αυτό σας ενημερώνουμε με αυτό το δελτίο. διαβάστε το προσεκτικά, ώστε να μπορείτε στη α συζητήσετε με τον θεράποντα ιατρό για: θησή σας ς, τη σημασία αλλά και τις πιθανές αρνητικές και τους πιθανούς κινδύνους που συνοδεύουν ιμένη επέμβαση.		C
		ΣΤΟΙΧΕΙΑ Α	ΣΘΕΝΟΥΣ
Ov	οματεπωνυμο		
Ov Na	οματεπωνυμο		
Ov Na A/I	οματεπωνυμο τρώνυμο Λ:		

Έντυπο ενημέρωσης και συγκατάθεσης ασθενούς για CBPDT : Σελίδα 1

Πάθηση / Θεραπευτικές Επιλογές

Το πρόσθιο τμήμα του οφθαλμού, πρόσθιος θάλαμος, περιέχει ένα υγρό που λέγεται υδατοειδές, παράγεται από το ακτινωτό σώμα και αποχετεύεται από τη γωνία του προσθίου θαλάμου. Το υγρό αυτό ευθύνεται για την πίεση του ματιού και συνεπώς όλες οι καταστάσεις που αυξάνουν την παραγωγή του ή που μειώνουν την αποχέτευσή του ευθύνονται για την αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης. Η αυξημένη ενδοφθάλμια πίεση προκαλεί τη σταδιακή καταστροφή του οπτικού νεύρου, που μπορεί να φτάσει μέχρι την τύφλωση, και η πάθηση αυτή ονομάζεται **γλαύκωμα**.

Υπάρχουν διάφορα είδη γλαυκώματος, τα περισσότερα από τα οποία αντιμετωπίζονται επαρκώς με κολλύρια, ενώ κάποιες πιο βαριές μορφές χρειάζονται επέμβαση. Όταν ούτε τα κολλύρια ούτε η επέμβαση δύνανται να ελέγξουν την ενδοφθάλμια πίεση, μιλάμε για ανθεκτικό γλαύκωμα. Το συχνότερο **ανθεκτικό γλαύκωμα** είναι το νεοαγγειακό, που προκαλείται όταν παθολογικές καταστάσεις στο βυθό του οφθαλμού, όπως παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και απόφραξη κεντρικής φλέβας, προκαλούν την έκκριση ουσιών που διεγείρουν την ανάπτυξη καινούριων αγγείων στην ίριδα και τη γωνία του προσθίου θαλάμου. Τα αγγεία αυτά φέρνουν στην περιοχή τα δομικά υλικά για το σχηματισμό και ανάπτυξη μεμβρανών, οι οποίες σταδιακά φράσσουν την αποχέτευση του υδατοειδούς υγρού, με συνέπεια την μεγάλη αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης. Άλλα ανθεκτικά γλαυκώματα είναι το αφακικό και το ψευδοφακικό και το γλαύκωμα από σιλικόνη.

Τα ανθεκτικά γλαυκώματα αντιμετωπίζονται με κυκλοκαταστροφή, δηλαδή με την μερική καταστροφή των ιστών που παράγουν το υδατοειδές υγρό. Σήμερα κυκλοκαταστροφή γίνεται είτε με θερμικό έγκαυμα, από laser, είτε με ψυχρό έγκαυμα, δηλαδή κυκλοκρυσπηξία. Σε κάθε περίπτωση πρόκειται για μία επέμβαση επώδυνη και μη εκλεκτική, δηλαδή εκτός από τα παθολογικά αγγεία καταστρέφονται και οι φυσιολογικοί ιστοί, με συνέπεια επιπλοκές, όπως μείωση της οπτικής οξύτητας, ραγοειδίτις πόνος, αιμορραγία και φθίση βολβού δεν είναι σπάνιες. Τέλος, στις περισσότερες περιπτώσεις χρειάζονται επαναλήψεις. Στην Οφθαλμολογική Κλινική του ΠαΓΝΗ η μέθοδος κυκλοκαταστροφής που εφαρμόζεται είναι η κυκλοκρυοπηξία (εικόνα 1).



Η laser ακτινοβόληση θα γίνει σε 9-10 σημεία και θα εκτείνεται σε τόξο 180 μοιρών.

Έντυπο ενημέρωσης και συγκατάθεσης ασθενούς για CBPDT : Σελίδα 3

Κίνδυνοι – Επιπλοκές

Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η προτεινόμενη θεραπεία έχει επιπλοκές πολύ ηπιότερες της κυκλοκρυοπηξίας, δηλαδή λιγότερος πόνος, μικρότερο οίδημα στα βλέφαρα και κόκκινο μάτι που διαρκεί για λιγότερες μέρες μετά τη θεραπεία. Για προφύλαξη από μολύνσεις και ταχύτερη αποκατάσταση, όπως και με την κυκλοκρυοπηξία, μετά το τέλος της θεραπείας και για τις επόμενες 3 μέρες θα βάζετε στο μάτι 3 φορές την ημέρα αλοιφή με αντιβίωση και μικρή δόση κορτιζόνης, ενώ για τον πόνο μπορείτε να χρησιμοποιείτε παυσίπονα.

Επειδή για την προτεινόμενη θεραπεία θα χρειαστεί να πάρετε την ουσία ενδοφλε-<u>βίως</u>, υπάρχει μικρή πιθανότητα να προκληθεί κάποιου είδους αλλεργία. Αν είστε αλλεργικό άτομο παρακαλώ ενημερώστε τον υπεύθυνο Ιατρό και συζητήστε το μαζί του.

Συγκατάθεση του ασθενούς

•	Ο υπογράφων ασθενής βεβαιώνω ότι ο ιατρός κ.
	με ενημέρωσε με αυτό το δελτίο, απάντησε στις ερωτήσεις μου και μου έδωσε όλες
	τις απαραίτητες πληροφορίες για την Φωτοδυναμική Θεραπεία του Ακτινωτού
	Σώματος με Verteporfin για την αντιμετώπιση του ανθεκτικού γλαυκώματος.
•	Γνωρίζω ότι η θεραπεία βρίσκεται σε πειραματικό στάδιο.
•	Συμφωνώ να έρθω για επανεξέταση την επομένη της θεραπείας και ανά εβδομάδα
•	τον πρώτο μήνα, μετά ανά μήνα.

- Αν χρειαστεί, θα γίνει επανάληψη της θεραπείας.
- Εάν υπάρχουν σοβαρές επιπλοκές, συμφωνώ να υποβληθώ σε συμπληρωματικές θεραπείες – επεμβάσεις.
- Δεν έχω λάβει καμιά εγγύηση ότι η θεραπεία θα είναι επιτυχής.

Υπογραφή ασθενούς.....Ημερομηνία.....

Υπογραφή ιατρού......Ημερομηνία.....

Έντυπο ενημέρωσης και συγκατάθεσης ασθενούς για CBPDT : Σελίδα 4



Προφορική ανακοίνωση : 39° Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο (2007)



Προφορική ανακοίνωση : 40° Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο (2007)



Προφορική ανακοίνωση : Συνέδριο 10° Aegean Retina (2007)



Προφορική ανακοίνωση : 41° Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο (2008)



Προφορική ανακοίνωση : 42° Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο (2009)



Προφορική ανακοίνωση : Συνέδριο 11° Aegean Retina (2009)



Αναρτημένη ανακοίνωση (Poster) : Συνέδριο ARVO (Florida USA, 2006)



Αναρτημένη ανακοίνωση (Poster) : Συνέδριο ARVO (Florida USA, 2007)

C TREATMENT ris MK	Results: Adverse events Mild eyeld and conjunctival hyperemia and edema was present during the first 24 hours after treatment. All patients had small conjunctival epithelial defects at the spots' sites, that reaction was observed during the first 3 days after treatment. Mild anterior chamber reaction was observed during the first 3 days after treatment. Mild anterior chamber reaction was observed during the first 3 days after treatment. Mild anterior chamber reaction was observed during the first 3 days after treatment. Mild epithelial efferma in the peripheral comea developed in 50% of cases during the first week after treatment and resolved afterwards. Mild epithelial efferma in the peripheral comea developed in 50% of cases during the first week after treatment and resolved afterwards. Mild epithelial efferma in the peripheral comea developed in 50% of cases during the first week after treatment and resolved afterwards. Mild epithelial efferma in the peripheral comea developed in 50% of cases during the first week after treatment and resolved afterwards. Mild epithelial efferm in the peripheral comea developed in 50% of cases during the first week after treatment and resolved afterwards. Mild epithelial efferm in the peripheral comea developed of n50% of cases during the first week after treatment and resolved afterwards. Mild epithelial efferm in the peripheral comea developed of n50% of cases during the first week after treatment and resolved afterwards. Mild epithelial effert treatment, possibly due to photodynamic trrounbosis of conjunctival vessels. Mild be observed to the treated eyes.	
DDY PHOTODYNAMI CTORY GLAUCOMA T, Panteleontidis VA, Tsilimbal raklion - Crete - Greece	Results:10P All cases displayed a significant reduction was 31% of the initial IOP during the first week. IOP reduction was 31% of the initial IOP during the first week. IOP reduction lasted from 1 week to more than 1 month.	
NSCLERAL CILIARY BO IN CASES OF REFRA Is SK, Vitanova VS, Detorakis E University Eye Clinic of He	Methods Methods Areteporfin 6 mg/m*2 was infused in bolus over 1 min, and trans- scleral ciliary body irradiation started 1 minute later with a tripple 200um core optic-fibers device (Avantes BV, Netherlands) connected to a 689nm diode laser (Frankturt Laser Company). Energy at each ther's tip measured with a lasermeter (Laser Mate-1, Coherent, Santa Clara, CA) was 80 mW. Four applications, of 3 minutes each, gave 12 spots, over 360 degrees. The splications, of 3 minutes each, gave 12 spots, over 360 degrees.	
CONTACT TRA	<i>P</i> ur p o s e <i>P</i> Previous studies showed that contact transcleral ciliary body photodynamic treatment with verteporfin is a safe procedure, with significant but termporary hypotensive effect in animal models. The purpose of this study is to evaluate the safety and efficacy of trans-scleral ciliary body photodynamic treatment (CB-PDT) in refractory photodynamic treatment (CB-PDT) in refractory photodynamic treatment (CB-PDT) in refractory photodynamic treatment (CB-PDT) in refractory photodynamic treatment (CB-PDT) in refractory plaucoma cases. <i>Financial Disclosures</i> <i>Ministry of Development-CST</i> (25%) and the Greek Ministry of Development-CST (25%) and the Greek Ministry of Development-CST (25%). <i>PDC</i> Tailinbatis has received an unrestricted research grant supportfrom Novarits Pharmaceuticals Corporation <i>References</i> (<i>PDC</i>) and <i>PDC</i> (<i>PDC</i>) and <i>PDC</i> (<i>PDC</i>) <i>Corporation</i> (<i>PDC</i>) (<i>PDC</i>) (<i>PDC</i>) (<i>PDC</i>) (<i>PDC</i>) <i>CDC</i>) Tailinbatis has received an unrestricted research grant supportfrom Novarits Pharmaceuticals Corporation <i>References</i> (<i>PDC</i>) (<i>PDC</i>) <i>CDC</i>) (<i>PDC</i>) <i>PDC</i>) (<i>PDC</i>	

Αναρτημένη ανακοίνωση (Poster) : Συνέδριο Α.Α.Ο. (Atlanta USA, 2008)

Charisis SK, Ginis HS, Kounis GA and Tsilimbaris MK: **Tono-Pen XL tonometry during application of a suction ring in rabbits.** *BMC Ophthalmol* 2008, **8**:14

Abstract

Purpose: The purpose of this study is to evaluate the use of Tono-Pen XL in measuring IOP during the application of a suction ring in rabbit eyes with manometrically controlled IOP.

Methods: Tono-Pen XL was calibrated against direct manometry in 10 rabbit eyes. A suction ring was then applied in 4 rabbit eyes and the IOP was determined manometrically during suction ring application at 350 mmHg vacuum pressure. Finally, in 6 catheterized rabbit eyes the IOP was measured with Tono-Pen XL during suction ring application at suction vacuum from 350 to 650 mmHg, while keeping actual IOP stable at 30 mmHg and 60 mmHg.

Results: Linear regression analysis revealed that the Tono-pen XL was reliable for IOPs between 10 and 70 mmHg (R2 = 0.9855). Direct manometry during suction ring application showed no statistically significant variation of Tono-Pen XL readings when the incanulation manometry intraocular pressure changed from 30 mmHg to 60 mmHg and no statistically significant correlation between suction vacuum and IOP measurements.

Conclusion: Tono-Pen XL measurements are unreliable during the application of a suction ring on living rabbit eyes even when the actual IOP is forced to be within the validated range of Tono-Pen XL measurements. This inaccuracy is probably related to altered corneal and scleral geometry and stress.

Tsilimbaris M, Charisis S, Naoumidi T, Panteleontidis V, Skondra D, Christodoulakis E, Naoumidi I.: Contact Transscleral Ciliary Body Photodynamic Therapy in Pigmented Rabbits Using Verteporfin and Diode Laser: Evaluation of Treatment Parameters. Curr Eye Research 2006, Vol 31(7-8), 577-585

Abstract

Purpose : To evaluate the treatment parameters necessary for achieving ciliary body photodynamic damage, enough to significantly reduce IOP, using verteporfin and a diode laser. Design : Animal study.

Methods : The right eye ciliary body of 30 pigmented rabbits was irradiated using verteporfin (Visudyne) and a diode laser. Photosensitizer dose ranged from 0.375 to 2 mg/kg. Three adjacent laser spots were applied 0.5 mm behind limbus at 12 o'clock position using a contact transscleral technique. The laser power was ranging from 10 to 70 mW and the duration of irradiation from 1 to 5 min per spot. The left eyes of the rabbits were used as controls. Animals were sacrificed 24 hours after the procedure and their eyes were evaluated by means of light and electron microscopy. A step-by-step approach was adopted with adjustment of experimental parameters according to histological findings. The end point was to identify the irradiation parameters necessary for induction of photodynamic damage while minimizing thermal damage. Subsequently, 10 more animals were used in order to verify the effectiveness of these irradiation parameters in reducing the intraocular pressure.

Results : The therapy parameters that led to photodynamic effect avoiding thermal damage were laser power of 25 mW, irradiation time of 3 min per spot, and verteporfin dose of 1 mg/kg. Transscleral ciliary body irradiation using these parameters resulted in vascular thrombosis of ciliary vessels and in substantial edema,

resulting in separation of the two ciliary epithelium layers. These parameters were applied to 4 rabbits, resulting in a mean IOP reduction of 1.8 mmHg \pm 1.2 that lasted for 4 days. An increase of the laser power to 35 mW tested in 6 additional animals, resulted in mean IOP reduction of 2.2 mmHg \pm 1.2, lasting 6 days; some minimal thermal damage was seen with the later settings.

Conclusion : The combination of verteporfin and 690 nm diode laser is effective for the induction of ciliary body photodynamic damage, which results in significant but temporary IOP reduction, after transscleral PDT in pigmented rabbits. With appropriate parameter selection, intraocular pressure reduction can be achieved while thermal damage is kept to a minimum. Spyridon K. Charisis, Irene I. Naoumidi, Harilaos S. Ginis, Efstathios T. Detorakis, Miltiadis K. Tsilimbaris: Contact Transcleral Ciliary Body Photodynamic Therapy with Verteporfin in Pigmented Rabbits: Effect of Repeated Treatments. Photochemistry and Photobiology (accepted 31 August 2009)

Abstract

Purpose: We studied the effect on the intraocular pressure (IOP) and the ciliary body (CB) morphology after four consecutive contact transcleral photodynamic treatments of the ciliary body (CB-PDT) with verteporfin in pigmented rabbits.

Methods: Twenty-two pigmented rabbits underwent CB-PDT (study group), performed once (six rabbits) or repeated for up to four times (16 rabbits). Six additional rabbits received only laser treatment without photosensitizer administration (control group). CB-PDT was performed in one eye in rabbits of the study group, with the fellow eye serving as internal control. Verteporfin dosage was 1 mg/kg as bolus injection and laser settings were 40 mW(600 lM core optical fiber) for 1.5 min per spot, for 10 spots. In repeated CB-PDT, treatments were performed in 4-days intervals. Daily IOP measurements were recorded. Histological studies were performed at selected time points.

Results: An IOP reduction, more sustained following repeated treatments, was detected in all treated eyes but not in fellow eyes or in the control group. On the average, the IOP was restored to pretreatment levels 4 days after the last treatment. No serious adverse events were observed and the CB architecture was intact at the end of the experiment.

Conclusions: Repeated CB-PDT is safe and results in a short-term reduction of IOP. Induced CB alterations are reversible.