13. Přílohy

Věkem podmíněná makulární degenerace

1. Kolář P. Věkem podmíněná makulární degenerace. *Časopis lékařů českých*, 2005, 144(8), s. 516-520.
2. Kolář P., Vlková E., Vižďová D. Fotodynamická terapie s preparátem Visudyne v léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace – dvouleté výsledky. *Časopis lékařů českých*, 2006 145(10), s. 795-800.
3. Kolář, P. Ranibizumab. *Farmakoterapie*. 2007, 5, s. 431-434.
4. Kolář, P. Macugen v léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace. *Oftalmochirurgie*. 2008 (3), 2, s. 37-42.
5. Kolář P. Věkem podmíněná makulární degenerace. *Oftalmochirurgie*. 2008(3), 2, s. 9-21.
6. Kolář, P. Ranibizumab (Lucentis) – nový lék k léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace. *Praktické lékárenství*. 2008, 6, s. 271-274.
7. Sivaprasad S., Hykin P., Saeed A., Beatty S., Grisanti S., Staurenghi G., Olea J., Campos A., Kolar P., et al. Intravitreal pegaptanib sodium for choroidal neovascularisation secondary to age-related macular degeneration: Pan-European experience. *Eye*, 2010, 24(5), p. 793-798.
8. Kolář P. Epidemiologie věkem podmíněné makulární degenerace. *Česká a Slovenská oftalmologie*, 2010, 66, 3, s. 127-130.
9. Kolář P. Ranibizumab u pacientů s vlhkou formou věkem podmíněné makulární degenerace – studie SUSTAIN. *Farmakoterapie*, 2009, 6, s.

Matematické zpracování obrazu sítnice

10. Kolář P., Štarha P., Hájek D., Vlková E., Druckmüller M. Význam matematického zpracování obrazu sítnice u diabetické retinopatie. *Česká a Slovenská oftalmologie*, 2003, 59(3), s. 160-170.
11. Kolar P., Starha P., Vlkova E. Utilization of mathematical processing of retinal images with use of adaptive contrast control (ACC) method to detect quantity of vascular endings. *European Journal of Ophthalmology*, 2005, 15(6), p. 782-786.

Diabetická retinopatie

12. Beránek M., Kaňková K., Kolář P. Polymorphism in the von Willebrand factor gene are not associated with proliferative retinopathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ophthalmic Research*, 2002, 34(5), p. 327-330.
13. Beránek M., Kaňková K., Tschöplová S, Kolář P., Vácha J. Three novel polymorphysms in the promoter region of the TIMP-3 gene are not associated with proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Current Eye Research*, 2003, 27(2), p. 91-93.
14. Beránek, M., Kolář, P., Tschoplová, S., at al. Genetic variation and plasma level of the basic fibroblast growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2008, 79(2), p. 362-367.
15. Beránek, M., Kolář, P., Tschoplová, S. Genetic variations and plasma levels of gelatinase A (matrix metalloproteinase-2) and gelatinase B (matrix metalloproteinase-9) in proliferative diabetic retinopathy. *Molecular vision*. 2008, 14, p. 1114-1121.

Idiopatická makulární díra

16. Kolář P. – Idiopatická makulární díra – epidemiologie, klasifikace, přirozený průběh, terapie. *Praktický lékař*, 2005, 85(12), s. 697-700.
17. Kolář P., Vlková E. Dlouhodobé výsledky chirurgického řešení idiopatické makulární díry s peelingem vnitřní limitující membrány. *Česká a Slovenská oftalmologie*, 2006, 62(1), s. 34-41.
18. Kolar P., Vlkova E. Results of Surgical Treatment of Idiopathic Full Thickness Macular Hole with Peeling of Internal Limiting Membrane. *EVRS Educational Electronic Journal*, 2006, 2(1), p. 37-44, last update 2006, http://www.evrs.org/memon/articles/2006_1_5/article.pdf
19. Karkanová M., Vlková E., Došková H., Kolář P. Vliv operace idiopatické makulární díry s peelingem MLI a plynnou tamponádou na elektrickou funkci sítnice. *Česká a Slovenská oftalmologie*, 2010, 66, 2, s. 84-88.

Hereditární onemocnění sítnice

20. Kolář P. Fluorescenční angiografie u Stargardtovy choroby. *Česká a Slovenská oftalmologie*, 2000, 56(1), s. 60-63.
21. Kolář P., Vlková E. Adultní forma Bestovy viteliformní dystrofie makuly – kazuistiky. *Česká a Slovenská oftalmologie*, 2004, 60(4), s. 300-306.

Radiální neurotomie optického nervu u sítnicové venózní okluze

22. Kolář P., Vlková E., Vysloužilová D. Radiální neurotomie optiku u kmenové okluze vena centralis retinae (kazuistiky). *Česká a Slovenská oftalmologie*, 2005, 61(5), s. 321-329.

Operační terapie onemocnění sítnice

23. Kolář P., Vlková E. Leberova miliární aneurysmata – kazuistika. *Česká a Slovenská oftalmologie*, 2003, 59(2), s. 127-133
24. Kolář P. Makulopatie při jamce terče zrakového nervu – kazuistika. *Česká a Slovenská oftalmologie*, 2005, 61(5), s. 331-335.

Plné znění příloh

Příloha 1

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Věkem podmíněná makulární degenerace

Kolář P.
Oftalmologická klinika LF MU a FN, Brno

SOUHRN

V souladu s trendem stárnutí populace v České republice se stává věkem podmíněná makulární degenerace významným problémem. Terminální stadia tohoto onemocnění ve většině případů vedou k velmi nízké zrakové ostrosti na úrovni praktické slepoty, což představuje významný socio-ekonomický problém. Podle posledních údajů postihuje až 30 % pacientů starších 75 let. Snahou všech terapeutických postupů, jejichž rozmach jsme v posledních 25 letech zažili, je tedy zajistit našim pacientům postiženým věkem podmíněnou makulární degenerací použitelnou zrakovou ostrost na co nejdelší dobu.
Klíčová slova: věkem podmíněná makulární degenerace, chorioideální neovaskulární membrána, fluorescenční angiografie, optická koherentní tomografie.

SUMMARY

Kolář P.: Age-related Macular Degeneration
Along with the ageing of the population in Czech Republic, the age-related macular degeneration becomes a serious problem. Terminal stages of this disease lead to very low visual acuity close to the practical blindness which becomes an important socioeconomic problem. Age-related macular degeneration affects 30 % patients older than 75 years. The effort of all therapeutic procedures developed in the last 25 years is to guarantee to patients with age-related macular degeneration prolongation of the effective visual acuity.
Key words: age-related macular degeneration, choroideal neovascular membrane, fluorescence angiography, optical coherence tomography.
Ko.

Čas. Lék. čes., 2005, 144, pp. 516–520.

Věkem podmíněná makulární degenerace (VPMD) je nejčastější příčinou těžké ztráty zraku ve vyspělých zemích v populaci nad 65 let věku (1, 2). Jedná se o multifaktoriální onemocnění způsobené kombinací vlivů prostředí a genetických faktorů (3, 4). Výsledkem přirozeného průběhu onemocnění je těžké postižení centrální zrakové ostrosti (CZO) až na úroveň praktické slepoty.

HISTORIE

Onemocnění bylo poprvé popsáno velmi záhy po objevu Helmholtzova oftalmoskopu. Bylo to v roce 1855, kdy oftalmolog Donders popsal jako první drúzy v makulární oblasti sítnice. Další publikace popisující taktéž drúzy makuly na sebe nenechaly dlouho čekat a byly vydány v roce 1875 Pangenstecherem a v roce 1885 Haabem.

Převratnou změnou v historii VPMD byl objev metodiky fluorescenční angiografie (FA) (5), která umožnila zobrazení cévního systému retiny. Dalším mezníkem byl objev indocyaninové angiografie (ICGA) (6), která umožnila zobrazit chorioideální cirkulaci.

Do doby rozvoje laserové terapie nebyla známa účinná léčba VPMD. První zmínku o použití laserové terapie u VPMD přináší Gass (7) a Bird (8). Nový pohled na laserovou terapii VPMD přinesla randomizovaná prospektivní studie Macular Photocoagulation Study Group (MPS) (9). Tato studie prokázala zcela jasně efekt laserové terapie u klasických chorioideálních neovaskularizací (CNV). Naproti tomu u okultních CNV tento účinek shledán nebyl.

Další významnou etapou v historii VPMD byl objev možnosti léčby CNV pomocí fotosenzibilizujících látek. Jako první účinný fotosenzibilizátor byl použit verteporfin (Visudyne) (10). Tím byl dán základ pro rozvoj fotodynamické terapie (PDT).

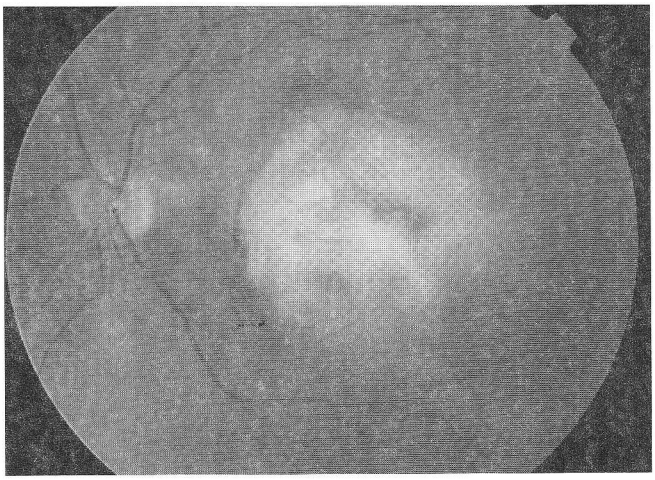
INCIDENCE A PREVALENCE

VPMD je onemocněním s velmi úzkou věkovou vazbou a jeho prevalence roste s věkem. U pacientů mezi 50–60 rokem věku činí asi 2 %, naproti tomu u pacientů starších 75 let představuje již téměř 30 % a u pacientů starších 90 let je to více než 40 % (1–4, 11).

Jedná se většinou o onemocnění oboustranné, přičemž nález na obou očích může být asymetrický (jedno z očí je postiženo pokročilejším stadiem choroby). Riziko postižení některou z forem VPMD u druhého oka je podle velkých klinických studií asi 40 %

MUDr. Petr Kolář, Ph.D.
625 00 Brno, Jihlavská 20
fax: 532 232 378, e-mail: pkolar@fnbrno.cz

Obr. 2. Geografická atrofie – terminální stadium suché formy VPMD



Obr. 2. Subretinální fibróza – terminální stadium vlhké formy VPMD

v průběhu 5 let (1–4). Vzhledem ke světovému trendu stárnutí populace bude prevalence onemocnění s největší pravděpodobností i nadále narůstat.

ETIOPATOGENEZE

Ve studiu etiopatogeneze VPMD došlo v posledních 10 letech k výraznému posunu. Bylo zjištěno, že vlivem věku dochází ke snižování počtu buněk pigmentového epitelu sítnice (PE) (12). Tím dochází ke snížení počtu melanozómů, které mají protektivní efekt vůči toxickým účinkům zejména modrého světla (13). Vlivem zvyšujícího se věku dochází dále k akumulaci lipofuscinu, proteinu stárnutí, jehož aktivace volnými kyslíkovými radikály vede k urychlení procesu apoptózy (přirozené buněčné smrti).

Dalším patogenetickým mechanizmem hrajícím významnou roli je snižování propustnosti Bruchovy membrány (14). Tento stav je způsobován depozicí odpadních produktů buněk PE (granulární a vezikulární struktury). Pokud dochází k výraznému lokálnímu snížení propustnosti Bruchovy membrány, vznikají mezi jejím povrchem a vrstvou buněk PE drúzy. Tyto mohou mít dle svého vzhledu solitární nebo konfluentní charakter. Solitární drúzy do velikosti 63 μm jsou označovány jako tvrdé, konfluentní větší než 63 μm poté jako měkké. Výskyt drúz znamená již sám o sobě velmi výrazný zásah do retinální architektury, který ve své podstatě poté může vyústit v rupturu Bruchovy membrány komplikovanou tvorbou CNV.

Zásadní roli hrají v tomto případě vazogenní faktory, především vascular endotelial growth factor (VEGF) (15). K normální funkci sítnice je nutná rovnováha mezi produkcí a potřebou VEGF. Ve stáří ale dochází vlivem snížené propustnosti Bruchovy membrány k nadprodukci VEGF retinou, a tím tedy ke stimulaci tvorby neovaskulárního komplexu (16).

KLASIFIKACE

Na základě výsledků velkých klinických studií (1, 2), které se zabývaly vývojem VPMD v populaci, bylo onemocnění rozděleno na 2 základní podskupiny: časnou VPMD, která je charakterizována drúzami a změnami na úrovni pigmentového epitelu sítnice (PE), a pozdní VPMD, která se projevuje výskytem geografické atrofie (GA) či CNV.

Klasifikační schéma obvykle používané v naší odborné terminologii rozlišuje 2 formy VPMD: suchou a vlhkou. Suchá forma značně převažuje a je jí postiženo asi 85 % pacientů. Vlhkou formou je postiženo zbylých 15 %. Co do závažnosti postižení centrální zrakové ostrosti je však vlhká forma zodpovědná v 85 % za težkou ztrátu vizu (1, 2).

Suchá forma VPMD je charakteristická výskytem drúz, změnami ve vrstvě PE a v konečném stadiu onemocnění GA (obr. 1). Vlhká forma VPMD je poté charakterizována CNV, subretinální hemoragií v makule nebo ablací PE. Terminální stadium vlhké formy VPMD představuje disciformní jizva (obr. 2).

Základním projevem vlhké formy VPMD je tedy CNV. Jedná se o patologickou proliferaci cév chorioidey. Podle lokalizace neovaskulárního komplexu vůči PE rozeznáváme 2 typy: klasickou a okultní CNV. Existují však i smíšené formy CNV. Podle podílu jednotlivých složek hovoříme o převážně klasické, či převážně okultní formě CNV. Podle lokalizace vůči fovee rozeznáváme extrafoveolární, juxtafoveolární či subfoveolární CNV. Základním diagnostickým kritériem je v tomto případě vzdálenost okraje CNV od centra fovey. Extrafoveolární CNV je vzdálena více než 200 μm, juxtafoveolární 1–200 μm a subfoveolární je lokalizována pod foveou.

RIZIKOVÉ FAKTORY

Jedná se o multifaktoriální onemocnění, které je způsobeno kombinací vlivů zevního prostředí a predisponujících genů. V protikladu k monogenně dědičným chorobám nevykazuje VPMD rysy, které je možné přiřadit účinku jednoho genu (3, 4).

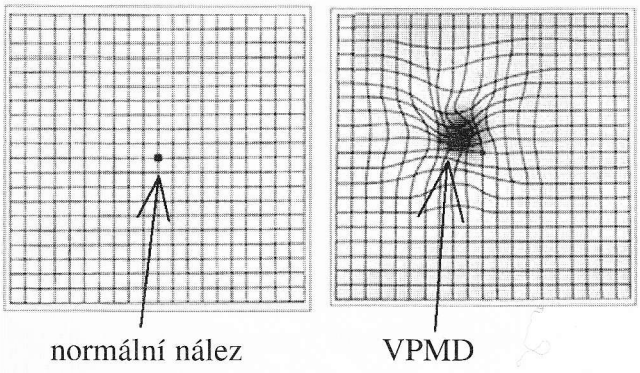
Očními rizikovými faktory jsou světlá barva iris, hypermetropie, nukleární katarakta a operace katarakty (17). Spojení barvy iris a VPMD opět souvisí s protektivním efektem melaninu, který se u světlých duhovek uplatňuje méně. Extrakce katarakty představuje taktéž velmi významný rizikový faktor progrese VPMD. Katarakta by měla být proto operována pouze v případech, kdy je možné očekávat prokazatelné zlepšení vízu.

Dále byla prokázána přímá vazba mezi nadměrnou expozicí modrému světlu a výskytem pozdních forem VPMD (13).

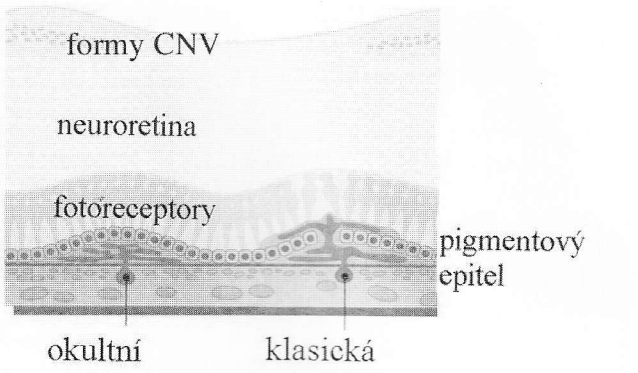
Základním rizikovým faktorem VPMD je příslušnost k bílé rase. Podle velkých klinických studií byl zjištěn nižší výskyt VPMD u příslušníků černé rasy (17). Uvažuje se o možném protektivním účinku vyšší koncentrace melaninu v sítnici, která ji chrání před nadměrnou expozicí světlu.

Dalším rizikovým faktorem je příslušnost k ženskému pohlaví (17). Uvažuje se o vymizení protektivního účinku estrogenů v menopauze. Naopak byl prokázán pozitivní efekt hormonální substituční terapie ve smyslu snížení rizika vzniku a rozvoje VPMD.

K cévním rizikovým faktorům, které vedou ke zvýšení rizika



Obr. 3. Amslerova mřížka



Obr. 4. Klasická a okultní chorioideální neovaskulární membrána

vzniku a progrese VPMD patří hypertenze, ischemická choroba srdeční, diabetes mellitus a poruchy metabolizmu lipidů (15).

Taktéž vlivy zevního prostředí jako kouření cigaret a nadměrná expozice světlu vedou ke zvýšení rizika VPMD. Kouření 25 cigaret denně zvyšuje riziko vzniku VPMD 2x (17).

Negativní vliv nadměrného požívání alkoholu nebyl ve velkých studiích přesvědčivě prokázán (18).

Přesvědčivý pozitivní účinek antioxidantů (betakaroteniody, vitamin C, E) zatím nebyl prokázán. Naopak negativní efekt nedostatečného přísunu antioxidatů stravou byl přesvědčivě prokázán (19).

KLINICKÝ OBRAZ

VPMD se projevuje především poklesem centrální zrakové ostrosti. Nejdříve je postižena zraková ostrost do blízka, což je společným znakem všech makulárních onemocnění. Podle charakteru VPMD je pokles vizu buď pozvolný (suchá forma), nebo rychle progredující (vlhká forma). Dalším charakteristickým znakem je výskyt metamorfopsií při vyšetření Amslerovou mřížkou, které většinu pacientů výrazně obtěžují (obr. 3).

Pokud není proveden v případě časně diagnostikované vlhké formy adekvátní terapeutický zásah, onemocnění končí do několika měsíců až let težkou poruchou centrální zrakové ostrosti většinou na úrovni praktické slepoty.

VYŠETŘOVACÍ METODY

Základní vyšetřovací metodou, která přinese první cenné informace, je biomikroskopické vyšetření sítnice v makulární oblasti v arteficiální mydriáze. Dovede odhalit změny v neuroretině, ale i ve vrstvě PE. Nezastupitelnou roli zde hraje vyšetření na štěrbinové lampě za pomoci 90, 78 či 66 D čočky, nebo vyšetření makuly klasickou Goldmannovou čočkou. Výhodou těchto vyšetřovacích postupů je možnost binokulárního vyšetření, které umožňuje vznik prostorového vjemu u vyšetřujícího.

Základní diagnostickou metodou je fluorescenční angiografie sítnice. Je založena na principu fluorescence a dokáže odhalit, zda má neovaskulární komplex charakter klasické CNV (je lokalizován mezi neuroretinou a PE) či okultní CNV (je lokalizován mezi buňkami PE a Bruchovou membránou) (obr. 4). V případě okultní CNV však nedokáže zobrazit její kompletní rozsah.

Proto byla vyvinuta indocyaninová angiografie, která dokáže zobrazit cévní řečiště chorioidey, a tím odhalit zde se vyskytující patologii. Má význam především u okultních formem CNV.

Další velmi přínosnou metodou, která se prosadila v posledních letech, je optická koherentní tomografie (OCT), která bývá označována jako „biopsie bez operace". Za pomoci interference referenčního a měřícího paprsku je přístroj schopen vytvořit optický řez neuroretinou a vrstvou PE. Zobrazení chorioidey není možné pro blokádu průchodu skenovacího paprsku buňkami PE. OCT však umožní upřesnit lokalizaci neovaskulárního komplexu vzhledem k neuroretině a PE, a tím pomoci v rozlišení mezi klasickou a okultní CNV.

TERAPIE VPMD

Terapie VPMD zaznamenala v posledních letech výrazný posun. Byly vyvinuty nové způsoby terapie, které umožňují pacientům zachovat alespoň použitelnou zrakovou ostrost na zbytek jejich života. Přesto je nutno říci, že nemáme doposud k dispozici kauzální terapii VPMD.

Profylaktická farmakoterapie u počátečních stadií VPMD jistě kauzálně neřeší podstatu onemocnění, ale dovede alespoň oddálit rozvoj časných stadií onemocnění (drúzy a depozita lipofuscinu), ale taktéž podle výsledků klinických studií pozastavují progresi onemocnění k pozdním formám (GA, CNV) (20). V tomto smyslu se v posledních několika letech intenzivně diskutuje význam dostatečného přísunu vitaminů a minerálů. Na základě výsledků Age-related Eye Disease Study (21), kdy byly pacientům podávány vysoké dávky antioxidantů (500 mg vitaminu C, 15 mg (β-karotenu, 400 IU vitaminu E, 80 mg zinku v kombinaci s 2 mg mědi), byl zjištěn pozitivní efekt ve smyslu statisticky signifikantního snížení rizika rozvoje pozdních forem VPMD (GA, CNV). Dále byl prokázán antioxidativní efekt a protektivní efekt vůči toxickému působení modrého světla u makulárních pigmentů typu luteinu a zeexantinu (22). Naopak jejich neodstatek prokazatelně vede ke zvýšení rizika rozvoje VPMD.

Pro léčbu vlhké formy VPMD je v současnosti používána řada terapeutických postupů. Úsilí v poslední době směřuje zejména k výzkumu látek, které dovedou ovlivňovat samotný proces chorioideální neovaskularizace. Jde především o inhibitory a protilátky vůči angiogenním retinálním substancím. Koncept této terapie byl vyvinut v 70. letech minulého století v protinádorové terapii. Pozornost se soustřeďuje především na VEGF (23). Protilátka proti VEGF (anti-VEGF aptamer) je ve III. fázi klinického výzkumu. Nevýhodou této metody je nutnost opakované nitrooční aplikace.

Nové možnosti farmakoterapie zahrnují taky aplikaci steroidů (triamcinolon) či jejich analogů (anecortave acetát) do prostoru sklivce, u anecortavu je prokazován vůči placebu podle posledních klinických studií dobrý terapeutický efekt. Tento efekt je dán podle mnoha autorů up-regulací inhibitorů aktivátoru plasminogenu. Anecortave jako analog steroidu má tu výhodu, že vykazuje menší nežádoucí účinky, které s sebou intraokulární aplikace steroidů přináší (kataraktogenita, zvýšení nitroočního tlaku) při zachované antiangioproliferativní aktivitě (33).

Další metodou k léčbě VPMD je fotodynamická terapie s preparátem Visudyne (PDT), která je založena na aktivaci molekuly fotosenzibilizátoru (verteporfinu) laserovým světlem červené barvy (690 nm).

Vaskulární mechanizmus představuje dominantní efekt PDT (10). Je založen na destrukci endoteliálních buněk kapilár, což vede k venózní stáze a tvorbě mikrotrombů. Efektivita a selektivita PDT záleží na celé řadě dalších faktorů. Hlavními jsou dávka fotosenzibilizátoru, délka infuze, vlnová délka aktivujícího záření a jeho dávka. Fotosenzibilizátor se predilekčně váže k molekulám lipoproteinů, především low-density lipoproteinu (LDL). Receptory pro LDL jsou exprimovány nejvíce na nádorových buňkách a endoteliálních buňkách neovaskulárních membrán. Komplex fotosenzibilizátoru, molekuly LDL a receptoru je poté fagocytován do nitra endoteliální buňky a po jeho aktivaci červeným světlem 690 nm je vyvolána přímá buněčná smrt (nekróza) (10). Efekt terapeutického zásahu není viditelný bezprostředně, tak jako u klasické laserové koagulace. Úspěšná okluze je patrná nejdříve po 1–2 týdnech po PDT, kdy dochází k plnému rozvoji chorioideální non-perfuze v ošetřené oblasti. Verteporfin (Visudyne) je zástupcem druhé generace fotosenzibilizátorů a jeho absorpční peek leží mezi 680–695 nm. Tato vlnová delka umožňuje snadný průnik přes melanin, krev a fibrotickou tkáň (24) do subretinálních struktur. Hlavní výhodou verteporfinu vůči ostatním fotosenzibilizátorům je jeho krátký sérový poločas (2–5 h), který výrazně snižuje riziko systémové fototoxicity.

Cévní okluze ve tkáni CNV však není u převážné většiny pacientů trvalá (10). Během 3 měsíců dochází u většiny pacientů vlivem fyziologických reparačních mechanizmů k rekanalizaci okludovaných cév. Je proto indikováno opakování PDT. U většiny pacientů dochází poté po 2–3 sezeních PDT, tj. za 6–9 měsíců ke stabilizaci nálezu s vymizením aktivity CNV.

Je studován taktéž efekt aplikace anti-VEGF aptameru v kombinaci s PDT. První výsledky se jeví být velmi povzbudivé. Vysvětlení je velmi jednoduché. Kombinací obou výše uvedených terapeutických postupů bojujeme na dvou frontách. Blokujeme rozvoj CNV obsazením receptorů pro VEGF a ničíme proliferující endoteliální buňky cév uvnitř CNV aktivovanými molekulami verteporfinu.

Další léčebnou technikou je transpupilární termoterapie (TTT) za pomoci infračerveného laserového světla (810 nm). Tato metoda byla vyvinuta původně pro terapii chorioideálních tumorů (25). Její princip tkví v tkáňové hypertermii 45 °C, která vede k nekróze buněk CNV, a tím shodným mechanizmem jako u PDT k trombotizaci cévní struktury CNV. Velkou zkušenost ale vyžaduje stanovení účinné dávky záření, která vede k destrukci pouze endoteliálních buněk CNV a zachová neporušenými ostatní retinální struktury. Velikost účinné dávky záření je ovlivněna mnoha faktory. Mezi nejzákladnější patří: pigmentace PE a chorioidey, přítomnost sub- a intraretinálních hemoragií, transparence optických médií, chladící potenciál chorioidey, intra- a subretinální akumulace tekutiny. Doposud nebyly publikovány výsledky probíhající dvojitě slepé randomizované klinické studie, která sleduje efekt TTT u VPMD.

Klasická laserová terapie je vyhrazena pouze pro extrafoveolárně lokalizované klasické CNV. Vzdálenost takovéto membrány od foveoly podle kritérií MPS musí být větší než 200 μm (9). Takovýchto pacientů je ovšem minimum. Dle literatury (26) je k tomuto způsobu terapie vhodných pouze asi 6 % pacientů postižených vlhkou formou VPMD.

Chirurgická terapie zahrnuje přímou extrakci CNV bez nebo s makulární translokací (27, 28). Tyto techniky jsou ovšem zatíženy vysokým procentem komplikací i v rukou renomovaných vitreoretinálních chirurgů. Jejich praktické využití je proto z tohoto důvodu velmi problematické. Základními a velmi obtížně řešitelnými komplikacemi jsou především proliferativní vitreoretinopatie (PVR), recidiva CNV a atrofie PE.

Taktéž transplantace buněk PE do submakulární oblasti u pacientů s GA či po extrakci CNV je problematická. Přináší spolu problém reakce hostitele versus dárce (29). I kultivace autologních buněk PE není řešením, protože není možné dosáhnot fyziologického jednovrstevného uspořádání buněk transplantovaného PE (30).

Další terapeutickou metodu představuje radioterapie s použitím teleterapie (lineární urychlovač) či brachyterapie (lokální zářič). Princip metodiky tkví opět ve velké senzitivitě endoteliálních buněk CNV na radiační poškození (31). Dávka radičního záření se pohybuje v rozmezí 10–15 Gy. Nevýhodou této metodiky je pomalý nástup účinku, který činí několik týdnů až měsíců (31). Základními komplikacemi jsou vznik komplikované katarakty, radiační retinopatie, radiační neuropatie optiku či syndromu suchého oka. Randomizované dvojitě slepé studie, které byly provedeny a ukončeny, neprokázaly statisticky významný efekt na stabilizaci zrakové ostrosti u skupiny léčených pacientů oproti kontrolní skupině (32, 33).

ZÁVĚR

VPMD představuje, jak již bylo uvedeno, nejčastější příčinu slepoty u pacientů nad 65 let věku ve vyspělých zemích. Nejintenzivněji je přitom postižena zraková ostrost na blízko. Přitom schopnost číst novinový text je pro člověka synonymem nezávislosti a mentálního zdraví. Snahou všech terapeutických postupů, jejichž rozmach jsme v posledních 25 letech zažili, je tedy zajistit našim pacientům postiženým touto závažnou chorobou tuto schopnost na co nejdelší dobu. Pokud je však ztráta centrálního vidění neodvratná, je našim úkolem tyto pacienty na velmi nepříznivou skutečnost co nejlépe připravit.

Budoucnost terapeutických postupů tkví v objevení kauzální terapie VPMD, která dovede vzniku tohoto onemocnění u rizikových pacientů zabránit. Zdá se, že pole působnosti lze najít v oblasti genové terapie v kombinaci s prevencí hlavních rizikových faktorů VPMD.

Zkratky

CNV	– chorioideální neovaskularizace
CZO	– centrální zraková ostrost
FA	– flourescenční angiografie
GA	– geografická atrofie
ICGA	– indocyaninová angiografie
MPS	– Macular Photocoagulation Study Group
LDL	– lipoprotein s nízkou denzitou (low-density lipoprotein)
OCT	– optická koherentní tomografie
PDT	– fotodynamická terapie
PE	– pigmentový epitel sítnice
PVR	– proliferativní vitreoretinopatie
VEGF	– cévní endoteliální růstový faktor (vascular endotelial growth factor)
TTT	– transpupilární termoterapie
VPMD	– věkem podmíněná makulární degenerace

LITERATURA

1. **Klein, R, Klein, B. E. K, Linton, K. L. P.:** Prevalence of age-related maculopathy: the Beaver Eye Dam Study. Ophthalmology, 1992, 99, s. 933-944.
2. **Vingerling, J. R, Dielemans, I., Hofman, A. et al.:** The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. Ophthalmology, 1995, 102, s. 205-210.
3. **Heiba, I. M, Elston, R. C, Klein, B.E, Klein, R.:** Sibling Correlations and segregation analysis of age-related maculopathy: the Beaver Eye Dam Study. Genet. Epidemiol., 1994, 11, s. 51-67.

4. **Hyman, J., Lilienfeld, A. M., Ferris, F. L., Fine, S. L.:** Senile macular degeneration: a case-control study. Am. J. Ophthalmol., 1983, 118, s. 213-227.
5. **Novotny, H. R., Alvis, D. L.:** A method of fotographing fluorescenc in circulating blood in the human retina. Circulation, 1961, 24, s. 82-86.
6. **Hayashi, K., Hasegawa, Y., Tazava, Y., Tokoro, T.:** Indocyanine green angiography of central serous chorioretinopathy. Int. Ophthalmol., 1986, 9, s. 37.
7. **Gass, J. D. M.:** Photocoagulation of macular lesions. Tr. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol., 1971, 75, s. 580-608.
8. **Bird, A. C.:** Treatment of senile disciform macular degeneration by fotocoagulation. Br. J. Ophthalmol., 1974, 58, s. 367-376.
9. Macular Photocoagulation Study Group. Argon laser photocoagulation for senile macular degeneration. Results of a randomised clinical trial. Arch. Ophthalmol., 1982, 100, s. 912-918.
10. **Schmidt-Erfurth, U., Miller, J. W., Sickenberg, M. et al.:** Photodynamic therapy with verteporfin for chorioideal neovascularization caused by age-related macular degeneration: results of retreatments in a phase 1 and 2 study. Arch. Ophthalmol., 1999, 117, s. 1177-1187.
11. **Holz, F. G., Pauleikhoff, D., Spaide, R. F., Bird, A. C.:** Age-related macular degeneration. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 2004.
12. **Boulton, M. E.:** Aging of retinal pigment epithelium. In: Osborn, N. N., Chader, G. J.: Retinal research. Oxford, Pergamon Press, s. 126-147.
13. **Taylor, H. R. et al.:** Visible light and risk of age-related macular degeneration. Trans. Am. Ophthalmol. Soc., 1990, 88, s. 163-173.
14. Feeney-Burns, L., Ellersieck, M. R.: Age-related changes in the ultrastructure of Bruch@s membrane. Am. J. Ophthalmol., 1985, 100, s. 686.
15. **Marshall, J.:** Tge aging retina: physiology and patophysiology. Eye, 1987, 1, s. 287-295.
16. **Moore, D. J., Hussain, A. A., Marshall, J.:** Age-related variation in the hydraulic conductivity of Bruch's membrane. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1995, 36, s. 1290-1297.
17. Eye Disease Case-Control Study Group: Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. Arch. Ophthalmol., 1992, 110, s. 104-109.
18. **Cho, E. et al.:** Prospective study of alcohol consumption and the risk of age- related macular degeneration. Ann. Epidemiol., 2000, 118, s. 681-688.
19. Eye Disease Case-Control Study Group: Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. Arch. Ophthtalmol., 1993, 111, s. 104-109
20. **Holz, F. G., Miller, D.:** Pharmakologische Therapie der altersabhaengigen Makuladegeneration. Ophthalmologe, 2003, 100, s. 97-103.
21. Age-Related Eye Disease Study Research Group: The AREDS Study Group. A randomised, placebo-controled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta-carotene, and zink for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no.8. Arch. Ophthalmol., 2001, 119, s. 1417-1436.
22. **Pauleikhoff, D., van Kuijk, F. J., Bird, A. C.:** Makularpigment und altersabhaengige Makulardegeneration. Ophthalmologe, 2001, 98, s. 511-519.
23. **Spilsbury, K., Garrett, K. L., Shen, W. Y. et al.:** Overexpression of vascular endotelial growth factor (VEGF) in the retinal pigment epithelium leads to the development of choroidal neovascularization. Am. J. Pathol., 2000, 157, s. 135-144.
24. **Richter, A. M., Kelly, B., Chow, J. et al.:** Preliminary studies on a more effective phototoxic agent than hematoporphyrin. J. Natkl. Cancer. Inst., 1987, 79, s. 1327-1332.
25. **Journée-de Korver, J. G., Osterhuis, J. A., Kakebeeke-Kemme, H. M., de Wolf-Rouendaal, D.:** Transpupillary thermotherapy (TTT) by infrared irradiation of choroidal melanoma. Doc. Ophthalmol., 1992, 82, s. 185-191.
26. **Pauleikhoff, D., Knebel, C., Peuser, M. et al.:** Die fluoreszenzangiographische Differenzierug der altersabhaengigen Makuladegeneration. Studie zur Haeufigkeit koagulativ behandelbarer Laesionen. Klin. Mbl. Augenheilk., 1996, 209, s. 309-314.
27. **Eckardt,C., Eckardt, U., Conrad, H.:** Macular rotation without counter-rotation of the globe in patients with age-related macular degeneration. Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 1999, 237, s. 313-325.
28. **Kirchhof, B.:** Macular translocation. Improved prognosis for age-related macular degeneration. Ophthalmologe, 2002, 99, s. 143.
29. **Gouras, P., Flood, M. T., Kjeldbye, H. et al.:** Transplantation of cultured human retinal pigment epithelium to Bruch's membrane of the owl monkey's eye. Curr. Eye. Res., 1985, 4, s. 253-265.
30. **Crafoord, S., Geng, L., Seregard, S., Algvere, P. V.:** Experimental transplantation of autologousiris pigment epithelial cells to the subretinal space. Acta Ophthalmol. Scand., 2001, 79, s. 509-514.
31. **Chakravarthy, U., Houston, R. F., Archer, D. B.:** Treratment of age-related subfoveal neovascular membranes by teletherapy: a pilot study. Br. J. Ophthalmol., 1993, 77, s. 265-273.
32. **Bergink, G. J., Hoyong, C. B., van der Maazen, R. W. M. et al.:** A randomized controlled trial on the efficacy of radiation therapy in the control of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: radiation versus observation. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 1998, 236, s. 321-325.
33. The Radiation Therapy for Age-related Macular Degeneration (RAD) Study Group. A prospective randomized double-masked trial on radiation therapy on neovascular age-related macular degeneration (RAD study). Ophthalmology, 1999, 106, s. 2239-2247.

KOMENTÁŘ

K článku P. Koláře „Věkem podmíněná makulární degenerace“

Problematika věkem podmíněné makulární degenerace (VPMD) je velmi aktuální. Vítáme proto přehledný referát MUDr. Petra Koláře, Ph.D., který informuje zvláště o morfologii, vyšetřovacích metodách, o vývoji léčebných přístupů a moderní terapii tohoto onemocnění.

Málo afekcí v oftalmologii vzbudilo tolik zájmu a diskuzí jako VPMD. V současné době je veškeré úsilí oftalmologů věnováno jednak zábraně postupu škod, které onemocnění způsobuje, ale také detailnímu studiu etiologie a patogeneze choroby, aby mohl být jednoho dne odhalen způsob prevence onemocnění (obr. 1).

Rostoucí počet nemocných vyplývá z prodlužení délky života a pokroku diagnostiky. Vždyť prakticky každý z nás může ztratit potěšení ze čtení a ze psaní, každý můžeme ztratit vše, co představuje samostatnost.

MUDr. Zora Dubská, CSc.
Oční klinika 1. LF UK a VFN
128 00 Praha 2, U Nemocnice 2
fax: 224 918 650, e-mail: zdubska@seznam.cz

Příloha 2

PŮVODNÍ PRÁCE

Fotodynamická terapie s preparátem Visudyne v léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace – dvouleté výsledky

Kolář P., Vižďová D., Vlková E.
Oftalmologická klinika LF MU a FN, Brno

ABSTRAKT

Východisko. Fotodynamická terapie s Visudynem představuje novou léčebnou metodu v léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace.
Metody a výsledky. Efektivitu fotodynamické terapie s Visudynem jsme na našem pracovišti ověřili na souboru 49 pacientů (13 mužů, 36 žen) průměrného věku 72,7 let se subfoveolárně lokalizovanou převážně klasickou a zcela okultní chorioideální neovaskulární membránou v rámci vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace. Sledovací doba u všech pacientů zařazených do studie byla 24 měsíců. Dvacet sedm pacientů s převážně klasickou chorioideální neovaskulární membránou v souboru podstoupilo v průběhu sledovacího období 1–5 sezení fotodynamické terapie (průměrně 1,8). Průměrná centrální zraková ostrost byla před zahájením léčby 0,696±0,20 logMAR. Na konci dvouletého sledovacího období byla průměrná zraková ostrost 0,985±0,39 logMAR. Došlo tedy k poklesu centrální zrakové ostrosti o 2,88 řádku ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) optotypů.
U 22 pacientů (45 %) se zcela okultní chorioideální neovaskulární membránou podstoupilo v průběhu sledovacího období 1–3 sezení fotodynamické terapie (průměrně 1,5). Průměrná centrální zraková ostrost před počátkem terapie byla na hodnotě 0,755±0,25 logMAR. Na konci dvouletého sledovacího období byla průměrná zraková ostrost 0,909±0,42 logMAR. Došlo tedy k poklesu centrální zrakové ostrosti o 1,55 řádku ETDRS optotypů.
Závěry. Za stabilizaci centrální zrakové ostrosti je považováno zhoršení o méně než 3 řádky ETDRS optotypů. Tohoto cíle bylo dosaženo u 2/3 pacientů léčených pomocí fotodynamické terapie s Visudynem.
Klíčová slova: věkem podmíněná makulární degenerace, chorioideální neovaskulární membrána, fluorescenční angiografie, fotodynamická terapie s Visudynem.

ABSTRACT

Kolář P., Vižďová D., Vlková E.: Photodynamic Therapy with Visudyne in Treatment of Wet Form of Age-Related Macular Degeneration – Two Years Results
Background. Photodynamic therapy with Visudyne represents a new method in treatment of the wet form of age-related macular degeneration.
Methods and Results. Effectiveness of photodynamic therapy with Visudyne was confirmed at our department in the group of 49 patients (13 men, 36 women) of mean age 72.7 years with predominantly classical and occult choroidal neovascular membrane in subfoveal localization in wet form of age-related macular degeneration. The observation period in all patients in this group was 24 month. During the observation period, 27 patients with predominantly classical choroidal neovascular membrane underwent 1 to 5 treatments (mean 1.8). Before the treatment the average best corrected visual acuity was 0.696±0.20 logMAR. At the end of observation period the average best corrected visual acuity was 0.985±0.39 logMAR. Best corrected visual acuity dropped by 2.88 lines of ETDRS (early treatment diabetic retinopathy study) visual charts. 22 patients with the genuine occult choroidal neovascular membrane underwent during the observation period 1 to 3 treatments (mean 1.5). Average best corrected visual acuity before the treatment was 0.755±0.25 logMAR. At the end of observation period the average best corrected visual acuity was 0.909±0.42 logMAR. We found out the decrease of average best corrected visual acuity by 1.55 lines of ETDRS charts.
Conclusions. Decrease of the average best corrected visual acuity less than 3 lines at ETDRS charts is considered as stabilisation of the finding. In our group this goal was achieved in 2/3 of patients.
Key words: age-related macular degeneration, choriodal nevascular membrane, fluorescence angiography, photodynamic therapy with Visudyne.
Ko.

Čas. Lék. čes., 2006, 145, pp. 795–800.

Věkem podmíněná makulární degenerace (VPMD) je nejčastější příčinou těžké ztráty zraku ve vyspělých zemích v populaci nad 65 let věku (1). Jedná se o multifaktoriální onemocnění způsobené kombinací vlivů prostředí a genetických faktorů (1–3). Výsledkem přirozeného průběhu onemocnění je těžké postižení centrální zrakové ostrosti (CZO) až na úroveň praktické slepoty (1).

Významnou etapou v historii VPMD byl objev možnosti léčby chorioideální neovaskulární membrány (CNV) pomocí fotosenzibilizujících látek. Jako první účinný fotosenzibilizátor byl použit verteporfin (Visudyne, Novartis AG, Basel, Switzerland) (4). Tím byl dán základ pro rozvoj fotodynamické terapie s Visudynem (PDT).

MUDr. Petr Kolář, Ph.D.
625 00 Brno, Jihlavská 20
fax: +420 532 232 378, e-mail: pkolar@fnbrno.cz

PDT představuje dvoufázový proces, který zahrnuje intravenózní aplikaci netoxické, světlem aktivované látky s její následnou aktivací světlem o specifické vlnové délce (v případě verteporfinu 689 nm) netermálním diodovým laserem. Vysoká selektivita účinku molekul verteporfinu je dána jeho vazbou k receptorům pro low-density lipoproteinové (LDL) molekuly (5). Vazba uvnitř neovaskulární tkáně a zejména v endoteliálních buňkách je zabezpečena vysokou expresí receptorů pro LDL molekuly z důvodu zvýšené potřeby těchto molekul v rychle se dělících buňkách (5). Molekula verteporfinu je uvnitř buňky vázána na struktury cytoplazmy. Aktivovaná molekula verteporfinu generuje tvorbu volných radikálů a singletního kyslíku. Mechanizmus fotochemického účinku verteporfinu je tedy dvojí: 1. Volné radikály reagují s lipidy v buněčných membránách, a tím způsobují strukturální a funkční poškození buňky. 2. Singletní kyslík reaguje přímo s buněčnými strukturami a vede tím k bezprostřední buněčné smrti. Postižení endoteliálních buněk kapilár vede ke vzniku intravaskulární trombotizace na podkladě intravaskulární blokády agregovanými trombocyty, erytrocyty, leukocyty a fibrinem (6). Na zvířecích modelech byla okluze neovaskulární tkáně prokázána již za 24 hodin po PDT, přičemž okolní cévní struktury a velké cévy zůstávají otevřené. Verteporfin je tedy schopen selektivní cévní okluze se zachováním intaktních velkých cévních kmenů chorioidey, retinálních buněk a Bruchovy membrány (5, 6).

Účinnost PDT v porovnání s placebem v léčbě vlhké formy VPMD byla prokázána ve dvou velkých klinických studiích: TAP (Treatment of Age-Related Macular Degeneration with Photodynamic Therapy) (7), VIP (Verteporfin in Photodynamic Therapy) (8). Celkem bylo zařazeno ve stadiích I–III klinického výzkumu 1236 pacientů a účinnost léčby byla prokázána v porovnání s placebem (7, 8).

PDT s Visudynem je nyní v České republice prováděna ve 4 centrech. Od prosince 2002 jsme v našem makulárním centru léčili celkem více než 80 pacientů.

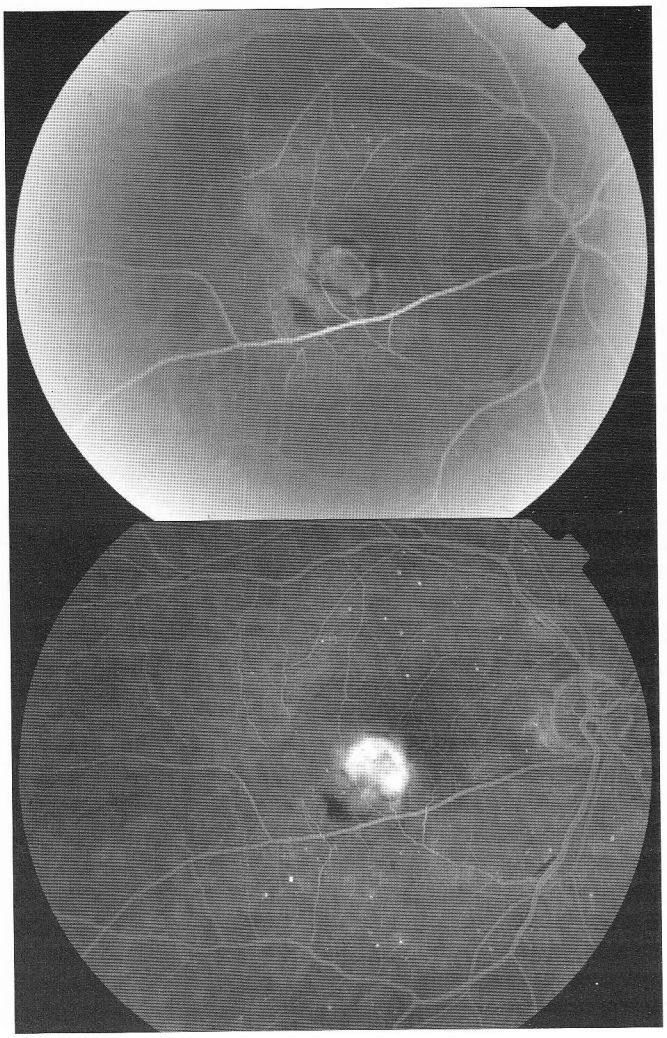
SOUBOR PACIENTŮ A POUŽITÉ METODY

Metodika

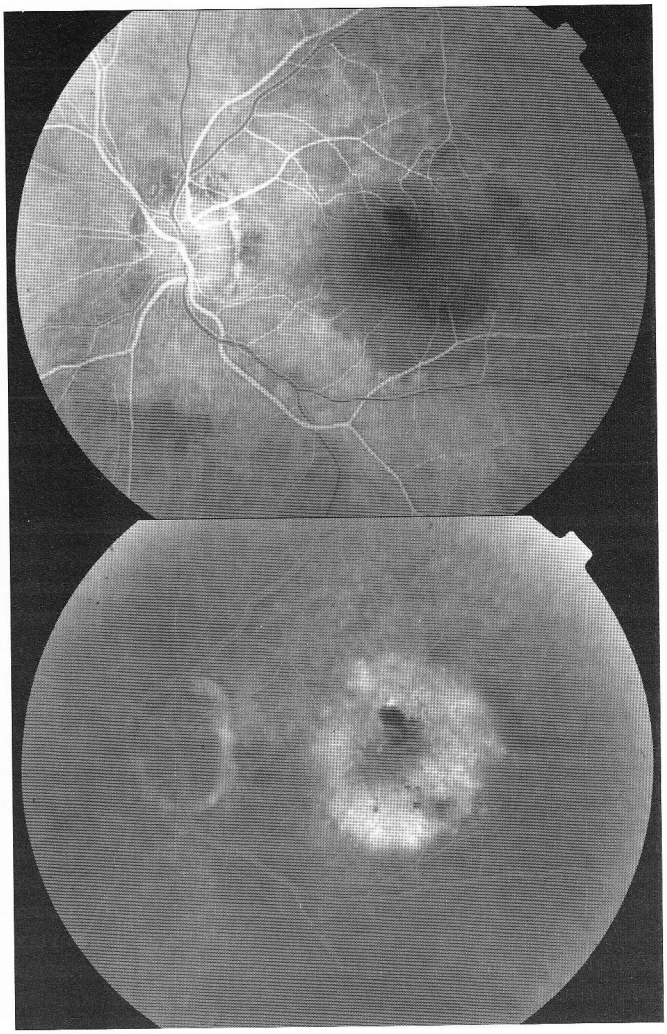
U každého z pacientů byla na základě interního vyšetření vyloučena porfyrie, těžká jaterní porucha, nestabilní angina pectoris.

CZO byla testována za použití ETDRS optotypů, které slouží k velmi přesnému stanovení stupně zrakové ostrosti i u slabozrakých pacientů. Pro účely statistického zpracování byla hodnota CZO udávána v logaritmických hodnotách (logMAR – minimal angle of resolution – logaritmus minimálního úhlu rozlišení). Hodnotě CZO 4/4 odpovídá hodnota 0,0 logMAR, hodnotě 4/40 hodnota 1,0 logMAR).

Do souboru byli zařazeni pouze pacienti s vlhkou formou věkem podmíněné makulární degenerace, která byla diagnostikována pomocí fluorescenční angiografie (FA). CNV byla u všech subjektů lokalizována subfoveolárně. Léčeni byli pacienti, v jejichž makule byla diagnostikována buď převážně klasická CNV (podíl klasické složky byl větší než 50 %) (obr. 1), nebo zcela okultní CNV (zcela bez podílu klasické složky) (obr. 2). Pacienti s minimálně klasickou CNV nebyli pomocí PDT léčeni.



Obr. 1. Fluorescenční angiogram pacienta s převážně klasickou CNV v časné a pozdní fázi



Obr. 2. Fluorescenční angiogram pacienta se zcela okultní CNV v časné a pozdní fázi

K léčbě všech pacientů bylo použito doporučeného standardního protokolu: dávka Visudynu 6 mg/m^2, rychlost infuze 3 ml/min, trvání infuze 10 min, zahájení aplikace laserového záření o vlnové délce 690 nm 15 min po startu infuze, světelná dávka 50 J/cm^2, intenzita 600 mW/cm^2, délka aplikace laserového záření 83 s (7).

Velikost CNV v příčném průřezu byla zjištěna pomocí FA provedené na funduskameře Topcon TRC 50IX (Topcon, Japan) a měřícího software digitálního zobrazovacího systému Image Net ver. 2.14 (Topcon, Japan). Měření bylo u všech pacientů provedeno v μm a předcházelo každému sezení PDT. Velikost použité laserové stopy byla učena tím, že k největšímu průměru stanovenému dle FA bylo přičteno 1000 μm. To znamená, že pokud měla CNV průměr 3000 μm, byla aplikována laserová stopa o velikosti 4000 μm.

Kontrolní fluorescenční angiografie byla indikována u každého z pacientů vždy v intervalu 3 měsíců. Pokud byla prokázána reperfuze, byla indikována další PDT až do zklidnění nálezu v makule.

K ošetření všech pacientů bylo použito laserového přístroje Visulas 690s (Zeiss, Germany). Laserová stopa byla aplikována pomocí kontaktní čočky Equator Plus (Volk Optical Inc., USA), která poskytuje velmi dobrou vizualizaci makulární oblasti i přes úzkou zornici a denzní čočková pouzdra při pseudofakii.

Soubor pacientů

Sledovaný soubor tvoří 49 očí 49 pacientů (13 mužů, 36 žen) průměrného věku 72,7±12,3 roku. Všichni pacienti zařazení do studie byli sledováni 24 měsíců. Pacienti byli léčeni v období 12/2002 – 12/2005.

U každého ze členů souboru bylo za uvedené období léčeno pouze jedno oko. Na druhém oku byl buď nález suché formy VPMD, nebo terminální nález vlhké formy VPMD (disciformní jizva). O praktické monokulum se jednalo ve 20 případech.

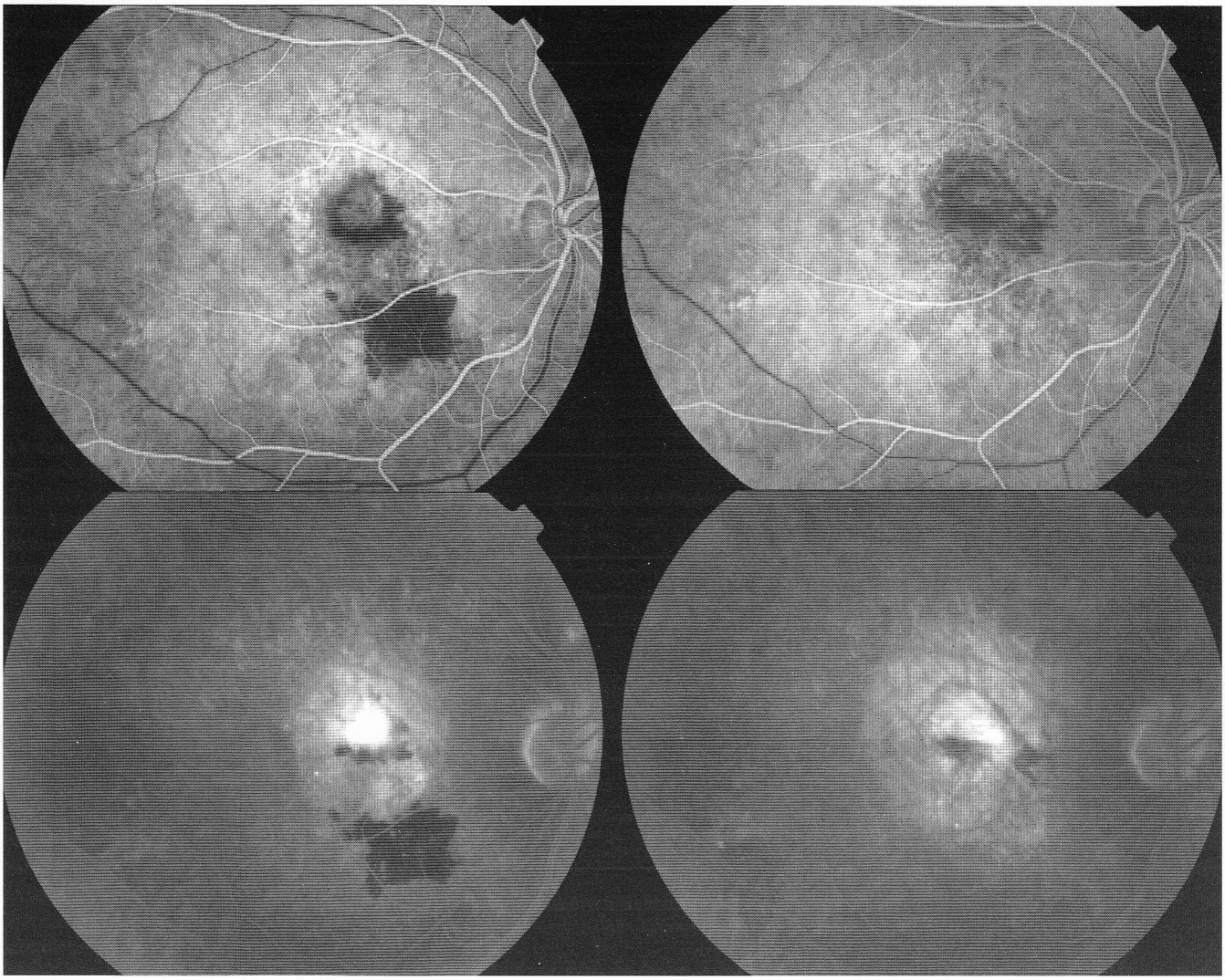
Podle charakteru CNV byl sledovaný soubor rozdělen na dvě části: 1. převážně klasickou, 2. zcela okultní CNV.

Převážně klasická CNV v subfoveolární lokalizaci byla diagnostikována u 27 pacientů souboru (7 mužů, 20 žen) průměrného věku 71,5±14,5 roku. Zcela okultní CNV lokalizovaná subfoveolárně byla diagnostikována u 22 pacientů (6 mužů, 16 žen) průměrného věku 74,1±8,5 roku.

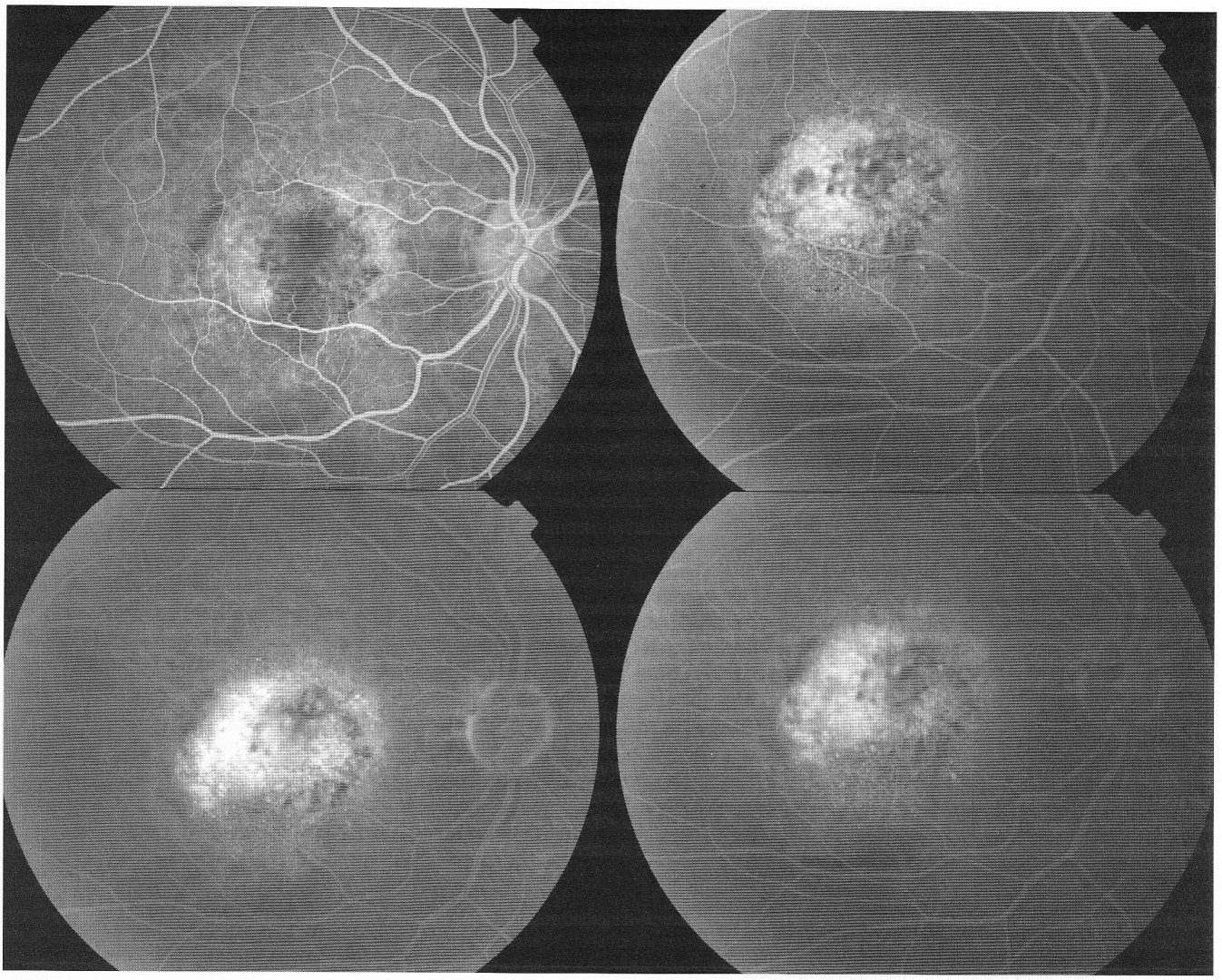
VÝSLEDKY

V souboru pacientů s klasickou CNV byla průměrná velikost CNV před zahájením prvního sezení PDT 3250±1520 μm. Každý ze sledovaných subjektů s klasickou CNV podstoupil v průběhu dvouletého sledovacího období 1–5 sezení PDT (průměrně 1,8 sezení). Opakování PDT bylo indikováno na základě prokázaného průsaku kontrastní látky z CNV na FA. Obrázek 3 dokumentuje nález u pacienta s převážně klasickou CNV před zahájením terapie a po jejím ukončení za 24 měsíců (pacient podstoupil 3 sezení PDT).

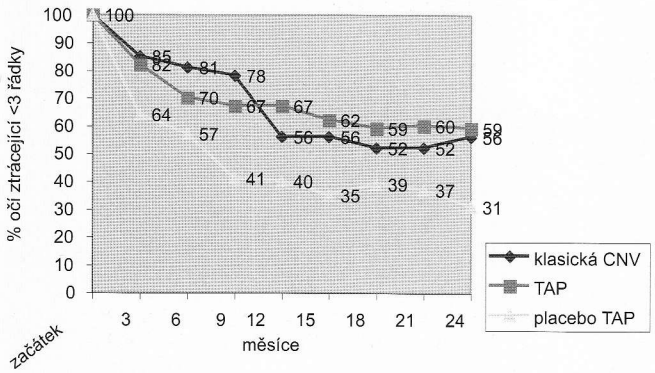
Za stabilizaci stavu byla považována ztráta méně než 3 řádků ETDRS optotypů. Tato ztráta představuje zdvojnásobení minimálního úhlu rozlišení. Průměrná CZO před započetím terapie byla na



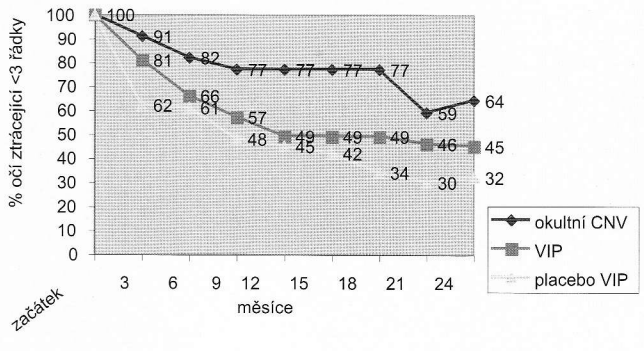
Obr. 3. Fluorescenční angiogram pacienta s převážně klasickou CNV před zahájením terapie (levá polovina obrázku) a na konci sledovacího období za 24 měsíců (pravá polovina obrázku) (pacient podstoupil 3 sezení PDT)



Obr. 4. Fluorescenční angiogram pacienta se zcela okultní CNV před zahájením terapie (levá polovina obrázku) a na konci sledovacího období za 24 měsíců (pravá polovina obrázku) (pacient podstoupil 1 sezení PDT)



Graf 1. Grafické znázornění vývoje CZO ve sledovacím období u převážně klasické CNV, % pacientů, kteří ztratili <3 řádky v průběhu sledovacího období (klasická CNV – soubor 27 pacientů s klasickou CNV, TAP – soubor pacientů ve studii TAP léčených Visudynem, placebo – soubor pacientů ve studii TAP léčených placebem)



Graf 2. Grafické znázornění vývoje CZO ve sledovacím období u zcela okultní CNV, % pacientů, kteří ztratili <3 řádky v průběhu sledovacího období (okultní CNV – soubor 22 pacientů s klasickou CNV, VIP – soubor pacientů ve studii VIP léčených Visudynem, placebo – soubor pacientů ve studii VIP léčených placebem)

hodnotě 0,696±0,20 logMAR. Na konci dvouletého sledovacího období byla průměrná zraková ostrost 0,985±0,39 logMAR. Došlo tedy k poklesu CZO o 2,88 řádku ETDRS optotypů a bylo tedy dosaženo stabilizace u 56 % pacientů v souboru.

Ztráty méně než 6 řádků ETDRS optotypů bylo dosaženo u 78 % pacientů souboru. Vývoj CZO v průběhu sledovacího období a jeho srovnání s výsledky studie TAP je znázorněn v grafu 1.

V souboru pacientů s okultní CNV byla velikost membrány 4950±1120 μm. Každý ze sledovaných subjektů s okultní CNV podstoupil v průběhu dvouletého sledovacího období 1– sezení

PDT (průměrně 1,5 sezení). Opakování PDT bylo indikováno na základě prokázaného průsaku kontrastní látky z CNV na FA. Obrázek 4 dokumentuje nález u pacienta s okultní CNV před zahájením terapie a po jejím ukončení za 24 měsíců (pacient podstoupil 1 sezení PDT).

Průměrná CZO před počátkem terapie byla na hodnotě 0,755±0,25 logMAR. Na konci dvouletého sledovacího období byla průměrná zraková ostrost 0,909±0,42 logMAR. Došlo tedy k poklesu CZO o 1,55 řádku ETDRS optotypů a bylo tedy dosaženo stabilizace u 64 % pacientů v souboru. Ztráty méně než 6 řádků ETDRS optotypů bylo dosaženo na konci sledovacího období u 77 % pacientů. Vývoj CZO v průběhu sledovacího období a jeho srovnání s výsledky studie VIP je znázorněn v grafu 2.

DISKUZE

Léčení pacienti byli z důvodu dobré srovnatelnosti s výsledky studií TAP a VIP podle charakteru CNV rozděleni do dvou souborů.

První soubor tvořili pacienti s převážně klasickou CNV v subfoveolární lokalizaci, druhý soubor byl tvořen pacienty se zcela okultní CNV v subfoveolární lokalizaci. Všichni pacienti s okultní CNV vykazovali progresi nálezu v makule společně s poklesem CZO v posledních 3–6 měsících před provedenou léčbou.

Průměrná velikost CNV byla menší v souboru klasických CNV, kde činila 3250 μm, oproti velikosti u zcela okultních CNV, která byla 4950 μm. Tento údaj velmi úzce souvisí s agresivitou CNV, která je daleko větší u klasických CNV, u nichž se symptomatologie projeví daleko časněji (9). Je to dáno polohou neovaskulárního komplexu CNV. U klasické CNV se tento komplex nachází mezi buňkami pigmentového epitelu sítnice (PE) a fotoreceptory. Ty jsou edémem a jizvením daleko snáze postižitelné než u okultní CNV, kde se neovaskulární komplex nachází v choriokapilaris pod buňkami PE. V tomto případě dochází k ovlivnění fotoreceptorů druhotně prostřednictvím edému a dysfunkce buněk PE.

Zhoršení o 3 řádky ETDRS optotypů totiž představuje zdvojnásobení minimálního úhlu rozlišení, což v praxi znamená, že pacient rozezná na optotypu pouze znaky dvojnásobné velikosti. Za stabilizaci nálezu je považováno ve velkých klinických studiích zabývajících se terapií VPMD proto zhoršení CZO o méně než 3 řádky ETDRS optotypů.

V souboru pacientů s klasickou CNV došlo v průběhu dvouletého sledovacího období k poklesu CZO o 2,88 řádku ETDRS optotypů. Stabilizace bylo tedy dosaženo u 56 % pacientů. Ve studii TAP bylo u pacientů léčených PDT s Visudynem ve dvouletém sledovacím období dosaženo stabilizace v 59 % (7). Pro porovnání pacienti, kteří byli léčeni ve stejné studii PDT s placebem, dosáhli stabilizace CZO pouze ve 31 % (7). To znamená, že u 2/3 pacientů léčených placebem dochází v průběhu dvouletého sledovacího období k výraznému poklesu CZO. Srovnatelné jsou taktéž výsledky studie TAP a naše v zabránění těžkému poklesu CZO (tj. poklesu o více než 6 řádků ETDRS optotypů). V našem souboru bylo zabráněno těžkému poklesu vizu na konci sledovacího období u 78 % pacientů. Ve studii TAP to bylo u 85 % pacientů (7).

V souboru pacientů s okultní CNV došlo v průběhu dvouletého sledovacího období k poklesu CZO v průměru o 1,55 řádku ETDRS optotypů. Stabilizace bylo tedy dosaženo u 64 % pacientů. Ve studii VIP bylo u pacientů léčených PDT s Visudynem ve dvouletém sledovacím období dosaženo stabilizace CZO ve 45 % (8). U pacientů, kteří byli léčeni v této studii PDT s placebem, bylo dosaženo stabilizace pouze ve 32 % (8). Můžeme tedy říci, že u 2/3 pacientů léčených placebem došlo v průběhu dvouletého sledovacího období k výraznému poklesu CZO. S našimi výsledky jsou taktéž srovnatelné výsledky studie VIP při zabránění těžkému poklesu CZO (tj. poklesu o více než 6 řádků ETDRS optotypů). V našem souboru bylo zabráněno těžkému poklesu vizu na konci sledovacího období u 78 % pacientů. Ve studii VIP to bylo 85 % pacientů (8).

V obou našich souborech byl počet sezení PDT nižší (klasická CNV 1,8; okultní CNV 1,5) při zachování standardního protokolu v porovnání s publikovanými údaji v TAP (7) a VIP (8), kde se počet sezení v průběhu 24 měsíců pohyboval kolem 5. Tento rozdíl je podle našeho názoru dán velmi pečlivým výběrem pacientů podle kritérií doporučených těmito studiemi. Většina našich pacientů měla navíc onemocnění diagnostikováno v počátečním stadiu, což je klíčový moment pro dobrý výsledek léčby (9, 10).

ZÁVĚR

Všichni pacienti zařazení do našeho souboru byli sledováni 24 měsíců, abychom mohli porovnat výsledky naší terapie s výsledky klinických studií TAP a VIP. Naše výsledky byly ve smyslu stabilizace CZO plně srovnatelné s výsledky výše jmenovaných velkých klinických studií.

Stabilizace CZO přinese léčeným pacientům zachování použitelné zrakové ostrosti na zbytek života. To je velmi důležité, neboť pacient ve vyšším věku se vyrovnává se ztrátou použitelné CZO velmi obtížně.

Dalším nepochybným faktem je úspora finančních prostředků z fondů sociálního zabezpečení, kterou jsou jinak slabozrakým pacientům na základě zákonných norem poskytovány.

PDT s Visudynem představuje účinnou terapii, která dovede u 2/3 pacientů postižených vlhkou formou VPMD s převážně klasickou, nebo zcela okultní CNV stabilizovat použitelnou CZO a zabrání vzniku praktické slepoty, která je výsledkem přirozeného průběhu tohoto onemocnění.

Zkratky

CNV	– chorioideální neovaskulární membrána
CZO	– centrální zraková ostrost
ETDRS	– Early Treatment Diabetic Retinopathy Study
FA	– fluorescenční angiografie
LDL	– low-density lipoprotein
LogMAR	– logaritmus minimálního úhlu rozlišení (minimal angle of resolution)
PDT	– fotodynamická terapie
PE	– pigmentový epitel
TAP	– Treatment of Age-Related Macular Degeneration with Photodynamic Therapy
VIP	– Verteporfin in Photodynamic Therapy
VPMD	– věkem podmíněná makulární degenerace

LITERATURA

1. **Klein, R., Klein, B. E. K., Linton, K. L. P.:** Prevalence of age-related maculopathy: the Beaver Eye Dam Study. Ophthalmology, 1992, 99, s. 933-944.
2. Eye Disease Case-Control Study Group: Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. Arch. Ophthalmol., 1992, 110, s. 104-109.
3. **Heiba, I. M., Elston, R. C., Klein, B. E., Klein, R.:** Sibling Correlations and segregation analysis of age-related maculopathy: the Beaver Eye Dam Study. Genet. Epidemiol., 1994, 11, s. 51-67.
4. **Schmidt-Erfurth, U., Miller, J. W., Sickenberg, M. et al.:** Photodynamic therapy with verteporfin for chorioideal neovascularization caused by age-related macular degeneration: results of retreatments in a phase 1 and 2 study. Arch. Ophthalmol., 1999, 117, s. 1177-1187.
5. **Alliston, B. A., Protchard, P. H., Levy, J. G.:** Evidence for low-density lipoprotein receptor-mediated uptake of benzoporphyrin derivate. Br. J. Cancer, 1994, 69, s. 833-839.

6. **Schmidt-Erfurth, U., Hassan, T.:** Mechanism of action of photodynamic therapy with verteporfin for treatment of age-related macular degeneration. Surv. Ophthalmol., 2000, 45, s. 195-214.
7. Treatment of Age-Related Macular Degeneration with Photodynamic Therapy (TAP) Study Group. Photodynamic Therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degenerationwith verteporfin. Two-year results of 2 randomized clinical trials – TAP Report 2. Arch. Ophthalmol., 2001, 119, s. 198-207.
8. Verteporfin in Photodynamic Therapy Study Group. Verteporfin therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: two-year results of a randomized clinical trial including lesions with occult with no classic choroidal neovascularization – Verteporfin in Photodynamic Therapy Report 2. Am. J. Ophthalmol., 2001, 131, s. 541-560.
9. **Soubrane, G., Kuhn, D., Coscas, G.:** Indications for photodynamic therapy in age-related macular degeneration. J. Fr. Ophthalmol., 2004, 27, s. 79-80.
10. **Coscas, G., Coscas, F., Soubrane, G.:** Monitoring the patient after treatment: Angiographic aspect of recurrence and indications for retreatment. J. Fr. Ophthalmol., 2004, 27, s. 81-92.

PŮVODNÍ PRÁCE

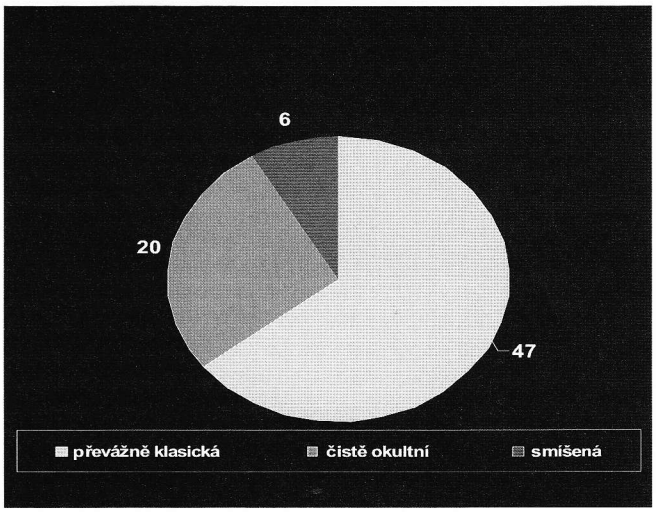
Výsledky léčby chorioideálních neovaskulárních membrán fotodynamickou terapií u věkem podmíněné makulární degenerace*

Dubská Z., Kalvodová B.
Oční klinika 1. LF UK a VFN, Praha

Fotodynamická terapie (FDT) znamená zásadní obrat v terapii subfoveálních chorioideálních neovaskulárních membrán (CHNVM). Dokázala v mnoha případech stabilizovat funkci léčených očí.

V kombinaci s novými přípravky, jako jsou protilátky proti endoteliálnímu růstovému faktoru a do sklivce aplikované steroidy, může dokonce zrakovou ostrost zlepšit. V současné době uzavíráme a hodnotíme kapitolu samostatné léčby Visudynem.

Výsledkům u pacientů s věkem podmíněnou makulární degenerací se ve svém článku věnuje as. MUDr. Kolář, Ph.D se spoluautory a srovnává je se závěry mezinárodních studií. Nálezy jsou obdobné a velice příznivé. Brněnským kolegům blahopřejeme. Oční klinika v Brně-Bohunicích je jedním ze čtyř center v České republice, která se fotodynamickou terapií zabývají.



Graf 1. Rozdělení léčby FDT dle typů léze

VÝSLEDKY LÉČBY FOTODYNAMICKÉ TERAPIE V MAKULÁRNÍM CENTRU OČNÍ KLINIKY 1. LF UK A VFN V PRAZE

Ve specializované ambulanci pro onemocnění makuly na Oční klinice 1. LF UK a VFN v Praze, jejíž přednostkou je doc. MUDr. Bohdana Kalvodová, CSc. a primářem MUDr. Pavel Diblík, provádíme fotodynamickou terapii neovaskulárních membrán od 1. června 2001.

Čtyři sta osmnáct výkonů jsme indikovali nejen u věkem podmíněné makulární degenerace (VPMD), ale také u patologické myopie, angioidních pruhů, zánětlivých a idiopatických membrán, heredodystrofií makuly a u traumatických membrán.

Déle než 2 roky po FDT sledujeme 208 nemocných s VPMD, z nichž jsme zatím vybrali soubor 47 očí 45 pacientů s převážně klasickou CHNVM, 20 očí s čistě okultní CHNVM a 6 smíšených membrán (graf 1).

Vyloučeni byli nemocní, jejichž počáteční zraková ostrost byla nižší než 0,1. Šlo většinou o pacienty s jediným prakticky vidoucím

* Poznámka k článku P. Koláře, D. Vížďové a E. Vlkové „Fotodynamická terapie preparátem Visduyne v léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace – dvouleté výsledky"

MUDr. Zora Dubská, CSc., doc. MUDr. Bohdana Kalvodová, CSc.
128 08 Praha 2, U Nemocnice 2
fax: +420 224 918 650, e-mail: zdubska@seznam.cz

Příloha 3

ranibizumab

MUDr. Petr Kolář, Ph.D. | Oční klinika LF MU a FN, Brno

Úvod

Ranibizumab (Lucentis, Novartis Europharm Limited, Horsham, UK) je rekombinantní humanizovaný fragment monoklonální protilátky proti cévnímu růstovému faktoru (vascular endotelial growth factor – VEGF) (obrázek 1). Jeho aplikace je indikována v léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace (VPMD). Je produkován v buňkách *Escherichia coli* pomocí rekombinantní DNA technologie.

Ranibizumab se skládá ze dvou částí: nevazebné humánní sekvence, která zabezpečuje nízkou antigenitu molekuly, a vysoce afinitní myší části, která se váže na molekulu VEGF. Vazba molekuly ranibizumabu na molekulu VEGF zabraňuje jejímu navázání na VEGF receptor 1 a 2.

Farmakologické vlastnosti

Ranibizumab byl vyvinut speciálně pro nitrooční aplikaci. Jeho molekula má třetinovou hmotnost (48 kD) oproti hmotnosti celé protilátky (148 kD). Ranibizumab je proto schopen procházet všemi vrstvami sítnice.[2,3]

Výhodou ranibizumabu je jeho schopnost vázat isoformy VEGF zodpovědné za vznik chorioideální neovaskularizace (VEGF 165, 121, 110).

Vodný roztok ranibizumabu má vysokou stabilitu, neobsahuje konzervační látky a je plněn do uzavřených skleněných lagén v koncentraci 10 mg/1 ml.

V průběhu měsíční aplikace ranibizumabu pacientům s vlhkou formou VPMD je jeho plazmatická koncentrace velmi nízká, obecně pod hladinou plazmatické koncentrace, která inhibuje biologickou aktivitu VEGF o 50 % (11–27 ng/ml).

Na základě populačních farmakokinetických údajů s pomocí výpočtů podložených vymizením ranibizumabu ze séra pacientů léčených 0,5 mg je biologický poločas eliminace ranibizumabu v prostoru sklivce asi 10 dnů. Po měsíční intravitreální aplikaci 0,5 mg ranibizumabu je maximální plazmatická koncentrace 1 den po aplikaci (c_{max}) v rozmezí 0,79–2,90 ng/ml a minimální plazmatická koncentrace (c_{min}) v rozmezí 0,07–0,49 ng/ml. Předpokládaná plazmatická koncentrace je tedy 90 000krát menší než koncentrace ranibizumabu v prostoru sklivce.

Farmakokinetika u pacientů s poruchou renálních funkcí – 68 % pacientů (136 ze 200) ve skupině farmakokinetické analýzy mělo poruchu renálních funkcí (46,5 % lehkou [50–80 ml/min], 20 % střední [30–50 ml/min] a 1,5 % těžkou [méně než 30 ml/min]), systémová clearance byla lehce nižší, ale rozdíl nebyl statisticky významný.

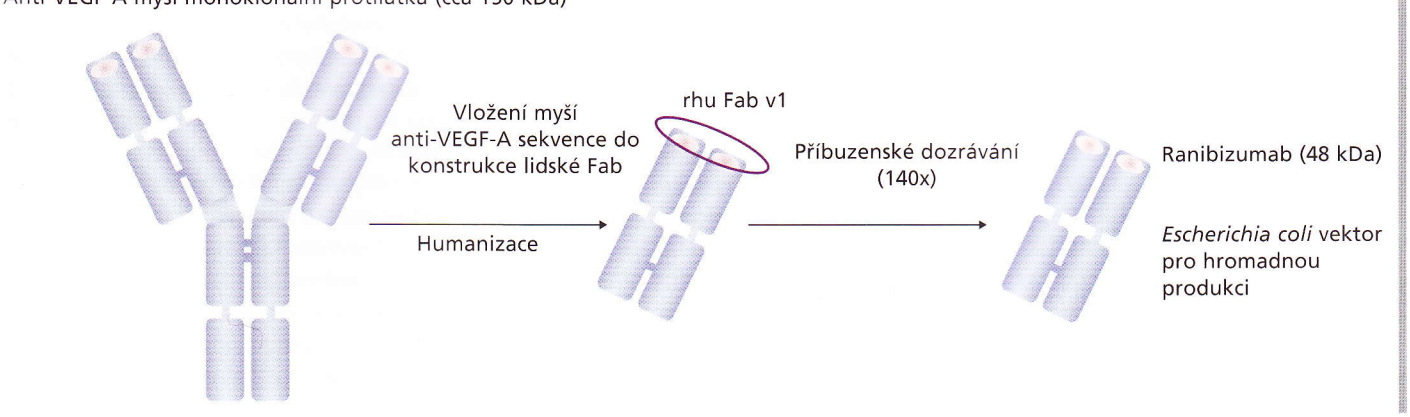
Klinické studie

Klinická účinnost a bezpečnost ranibizumabu byla sledována ve třech randomizovaných, dvojitě zaslepených, placebem kontrolovaných studiích s 1 323 pacienty (879 aktivní léčba, 444 kontrola).

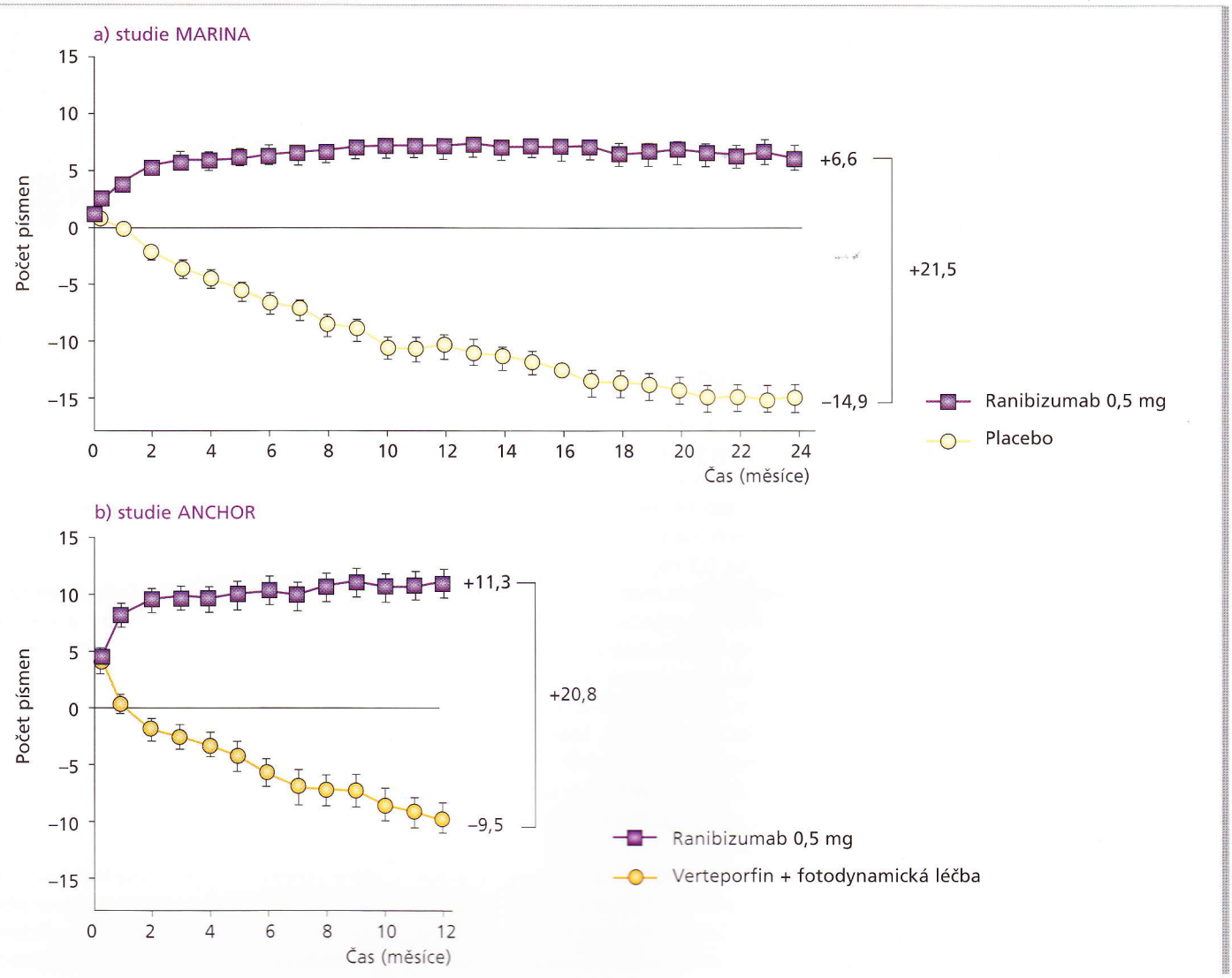
Ve studii MARINA byli léčeni pacienti s minimálně klasickou, nebo s okultní chorioideální neovaskularizací (CNV) měsíční intravitreální aplikací 0,3 mg a 0,5 mg ranibizumabu, či placebem. Celkově bylo zahrnuto 716 pacientů (ranibizumab 0,3 mg 238, ranibizumab 0,5 mg 240, placebo 238). K dispozici jsou údaje za 24 měsíců.

Do studie ANCHOR byli zařazeni pacienti s převážně klasickou CNV. Byli rozděleni do tří větví. V první bylo aplikováno 0,3 mg ranibizumabu měsíčně společně s předstíranou fotodynamickou léčbou (PDT), ve druhé 0,5 mg ranibizumabu měsíčně s předstíranou PDT a ve třetí byla provedena předstíraná aplikace ranibizumabu společně s klasickou PDT s verteporfinem. Předstíraná PDT nebo PDT s verteporfinem byla prováděna na začátku studie a dále poté, pokud provedená fluorescenční angio-

obrázek 1 Schematický postup vzniku ranibizumabu humanizací monoklonální protilátky proti VEGF



obrázek 2 Grafické znázornění zrakové ostrosti u pacientů ve studiích MARINA a ANCHOR



grafie (FA) prokázala přetrvávající nebo recidivující cévní průsak. Do studie ANCHOR bylo zařazeno celkem 423 pacientů (PDT s verteporfinem 143, ranibizumab 0,3 mg 140 a ranibizumab 0,5 mg 140). K dispozici jsou údaje za 12 měsíců.

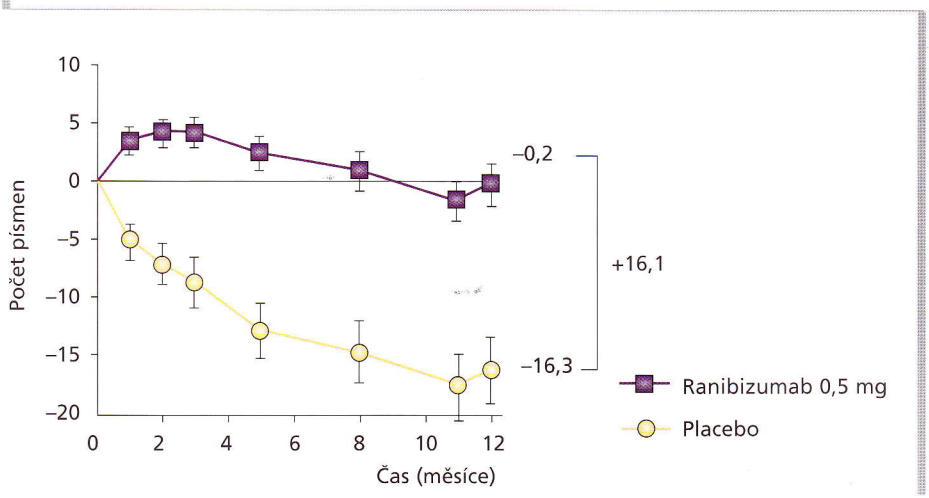
Primárním cílem obou studií bylo zjištění počtu nemocných, u nichž je ve 12. měsíci zaznamenána ztráta méně než 15 písmen ETDRS v porovnání s počátkem studie. Tohoto cíle bylo dosaženo téměř u všech pacientů léčených ranibizumabem (95 %). U 34–40 % pacientů léčených ranibizumabem bylo dosaženo klinicky signifikantního zlepšení vizu, definovaného ziskem více než 15 písmen ETDRS optotypu ve 12. měsíci v porovnání s počátkem studií (obrázek 2). Důležitou skutečností je, že velikost léze neovlivnila výslednou zrakovou ostrost. Rovněž u pacientů s nízkou vstupní zrakovou ostrostí (méně než 20/200) byl zjištěn přínos léčby ranibizumabem. Léze neovaskulární VPMD charakteru subretinální fibrózy a geografické atrofie, které postihují centrum fovey, na léčbu ranibizumabem zpravidla neodpovídaly. Pacienti léčení ranibizumabem vykazovali v průběhu sledování minimální růst CNV, který ve 12. měsíci činil 0,1–0,3 DA (disc area), zatímco v kontrolní skupině to bylo 2,3–2,6 DA.

Další studií, která sledovala účinnost ranibizumabu, byla studie PIER. Jedná se o dvojitě slepou, randomizovanou, placebem kontrolovanou studii, v níž byla sledována účinnost ranibizumabu v alternativním dávkování. Do studie bylo zařazeno 79 % pacientů s minimálně klasickou, nebo s okultní CNV a 21 % pacientů s převážně klasickou CNV. Jsou k dispozici 12měsíční údaje. Léčebné schéma bylo následující: pacienti zařazení do studie byli léčeni ranibizumabem v dávkách 0,3 a 0,5 mg nebo placebem ve třech po sobě následujících dávkách následovaných dávkou ranibizumabu aplikovanou každé 3 měsíce. Celkem bylo zařazeno 184 nemocných (ranibizumab 0,3 mg 60, ranibizumab 0,5 mg 61, placebo 63). První rok studie dokončilo 93 % pacientů. Všichni obdrželi během prvního roku studie 6 aplikací ranibizumabu z 6 možných.

Primárním cílem studie PIER bylo stanovení průměrné změny zrakové ostrosti ve 12. měsíci. Po počátečním vzestupu zrakové ostrosti v průběhu měsíčního dávkování ztráceli pacienti zrakovou ostrost během následného tříměsíčního dávkování. Zrako-

vá ostrost se však ve 12. měsíci navrátila k počáteční hodnotě. Většina pacientů ve studii PIER (90 %) si ve 12. měsíci zachovala zrakovou ostrost (obrázek 3).

obrázek 3 Grafické znázornění zrakové ostrosti u pacientů ve studii PIER



Bezpečnost a snášenlivost

Použití ranibizumabu je kontraindikováno při přecitlivělosti na jakoukoliv složku přípravku, dále u pacientů se známkami zánětu v oblasti oka nebo periokulární krajiny.

Bezpečnost léčby aplikované do obou očí současně nebyla zkoumána. Existuje předpoklad zvýšení rizika systémové expozice, která může vést ke zvýšení nebezpečí systémových nežádoucích účinků.

Obecně je nitrooční aplikace léků spojena s rizikem vzniku infekční endoftalmitidy, nitroočního zánětu, rhegmatogenního odchlípení sítnice a traumatické katarakty. Pro minimalizaci těchto nežádoucích účinků musí být striktně dodržena zásada asepse. Pacient je intenzivně sledován během prvního týdne od aplikace. Je poučen o symptomech endoftalmitidy a o tom, že při jejich výskytu musí okamžitě vyhledat odbornou lékařskou pomoc. Vzestup nitroočního tlaku se pozoruje v období prvních 60 minut od nitrooční aplikace, proto musejí být nitrooční tlak a perfuze zrakového nervu v tomto období pečlivě sledovány.

Opakovaná léčba nemůže být podávána, pokud:

- dojde od poslední aplikace ke snížení zrakové ostrosti o více než 30 písmen ETDRS optotypu;
- je nitrooční tlak vyšší než 30 mm Hg;
- je diagnostikována díra sítnice;
- je přítomna subretinální hemoragie zasahující centrum fovey o velikosti větší než 50 % celkové plochy léze;
- byl proveden nitrooční chirurgický výkon v předešlých 28 dnech nebo je plánováno jeho provedení v následujících 28 dnech.

Léčba by měla být ukončena u nemocných s rhegmatogenním odchlípením sítnice nebo u pacientů s makulární dírou 3. a 4. stadia.

Omezení u speciálních skupin pacientů

Těhotenství a laktace – nejsou údaje o použití ranibizumabu u těhotných žen. Vzhledem k jeho možné systémové resorpci po nitrooční aplikaci a jeho mechanismu účinku musí být ranibizumab považován za potenciální teratogen, a proto by neměl být v průběhu těhotenství a laktace aplikován.

Porucha jaterních funkcí – ranibizumab nebyl zkoumán u pacientů s poruchou jaterních funkcí, přesto nejsou nutná speciální opatření u této skupiny pacientů.

Porucha ledvinných funkcí – snížení dávky není u těchto pacientů nutné (viz výše – Farmakologické vlastnosti).

Děti a dospívající – ranibizumab není doporučen k použití u dětí a dospívajících, neboť chybějí údaje o bezpečnosti a účinnosti u této podskupiny nemocných.

Vysoký věk – ve stáří není nutné snižovat dávky ranibizumabu.

Rasa – zkušenosti s léčbou u jiné rasy než bílé jsou omezené.

Nežádoucí účinky

Okulárními nežádoucími účinky jsou spojivkové krvácení, oční bolest, vznik sklivcových zákalků, zvýšení nitroočního tlaku, odloučení zadní plochy sítnice, nitrooční zánět, katarakta. Vzácně se vyskytujícími komplikacemi jsou nitrooční zánět, sklivcové krvácení, rhegmatogenní amoce, retinální díra, endoftalmitida.

Celkové nežádoucí účinky nejsou časté a zahrnují bolesti hlavy, poruchy srdečního rytmu, kašel, nauzeu, bolesti zad, anemii, zvýšení krevního tlaku.

Arteriální tromboembolické příhody, k nimž patří náhlá srdeční smrt, infarkt myokardu, ischemická cévní mozková příhoda a hemoragická cévní mozková příhoda, jsou u systémově podávaných antagonistů VEGF poměrně časté. Jednoleté údaje z klinických studií ANCHOR, MARINA a PIER prokazují celkově vyšší incidenci arteriálních tromboembolických příhod u pacientů léčených 0,5 mg ranibizumabu (2,5 %) ve srovnání s kontrolní skupinou (1,1 %). Avšak výsledky ze druhého roku studie MARINA u pacientů léčených 0,5 mg ranibizumabu prokazují stejné riziko vzniku arteriální tromboembolické příhody (2,6 %) ve srovnání s kontrolní skupinou (3,2 %).

Dávkování a způsob podání

Ranibizumab je aplikován kvalifikovaným oftalmologem formou nitrooční (intravitreální) injekce. Doporučená dávka je 0,5 mg (0,05 ml).

Léčba ranibizumabem je zahájena v iniciální fázi jednou injekcí měsíčně ve třech po sobě následujících měsících. Tato fáze je následována udržovací fází, během níž jsou pacienti sledováni v měsíčním intervalu a intravitreální aplikace ranibizumabu je prováděna jedenkrát za tři měsíce. Poklesne-li u pacienta zraková ostrost o více než 5 písmen ETDRS optotypu (ekvivalent 1 Snellenova řádku), je aplikace ranibizumabu opět indikována. Interval mezi dvěma dávkami nesmí být kratší než jeden měsíc.

Tři dny před intravitreální aplikací ranibizumabu a tři dny po ní pacient kape do spojivkového vaku antibiotické oční kapky (4x denně).

Nitrooční aplikace probíhá za aseptických podmínek s použitím chirurgické dezinfekce rukou, sterilních rukavic, sterilní roušky a fólie, sterilního rozvěrače s dostupností provedení sterilní paracentézy, pokud je třeba. Kůže očních víček a periokulární krajiny je dezinfikována a je použito lokální anestetikum.

Ranibizumab je natažen přes filtrační jehlu do 1ml aplikační stříkačky. Filtrovací jehla (18 G) je nahrazena jehlou pro nitrooční aplikaci (30 G). Obsah stříkačky je zmenšen na 0,05 ml. Místo vpichu je lokalizováno ve vzdálenosti 3,5–4,0 mm od okraje limbu. Injekce přitom směřuje do centra oka. Při opakovaných aplikacích jsou používána různá místa s cílem vyhnout se opakované aplikaci do téhož prostoru.

Závěr

VPMD je nejčastější příčinou těžké ztráty zrakové ostrosti ve vyspělých zemích. Přirozený průběh vlhké formy VPMD vede k poklesu vizu až na úroveň praktické slepoty, která pacientům znemožňuje rozeznávání detailů např. obličejů, dále čtení textu a samostatnou orientaci v neznámém prostředí. V průběhu příštích 20 let se má podle populačních studií počet obyvatel starších 65 let zdvojnásobit. Proto lze předpokládat dramatický nárůst počtu pacientů postižených tímto onemocněním. Ranibizumab je nově dostupný lék určený k terapii vlhké formy VPMD. Představuje první humanizovanou protilátku proti vaskulárnímu růstovému faktoru VEGF. Ranibizumab je první léčivo k léčbě vlhké formy VPMD, který dává pacientům šanci zachovat vidění, nebo je dokonce zlepšit, což bylo přesvědčivě prokázáno provedenými klinickými studiemi. Ranibizumab je při intravitreální aplikaci dobře snášen a lokální a systémové nežádoucí účinky jsou vzácné.

Literatura

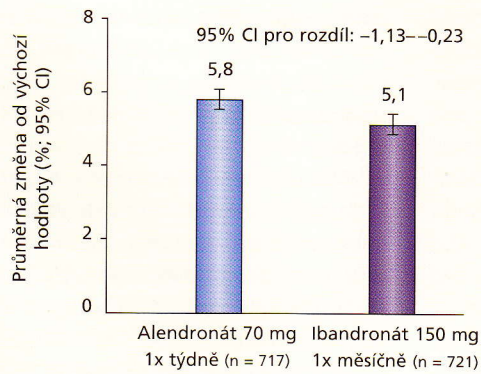
1 Age related Eye Disease Study Research Group. Risk-factors associated with age-related macular degeneration. A case-controlled study in the Age-related Disease Study: AREDS report No. 3. *Ophthalmology* 2000;107:2224–32.
2 Brown DM, Kaiser PK, Michels M, et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1432–44.
3 Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrin Rev* 1997;18:4–25.
4 Ferrara N, Damico L, Shams N, et al. Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen biding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Retina* 2006;26:859–70.
5 Ferris FL, Kassof A, Brensnick GH, et al. New visual acuity charts for clinical research. *Am J Ophthalmol* 1982;94:91–6.
6 Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992;267:10931–4.
7 Heier JS, Antoszyk AN, Pavan PR, et al. Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: A phase I/II multicenter controlled, multidose study. *Ophthalmology* 2006;113:633–42.
8 Klein R, Klein BE, Marino EK, et al. Early age-related maculopathy in the Cardiovascular Health Study. *Ophthalmology* 2003;110:25–33.
9 Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1419–31.

klinické studie

Ibandronát 1x měsíčně vs alendronát 1x týdně v léčbě postmenopauzální osteoporózy – studie MOTION

Studie MOTION (Monthly Oral Therapy with Ibandronate for Osteoporosis iNtervention) je randomizovaná, dvojitě zaslepená, multicentrická, mezinárodní studie fáze IIIb klinického zkoušení, která měla za úkol prokázat non-inferioritu léčby ibandronátem v dávce 150 mg 1x měsíčně ve srovnání s léčbou alendronátem 70 mg 1x týdně po dobu 12 měsíců v účinku na změny denzity kostního minerálu (bone mineral density – BMD) v oblastech bederní páteře a kyčle u pacientek s diagnózou postmenopauzální osteoporózy. Hranice non-inferiority byla stanovena takto: léčba 1x měsíčně bude považována za non-inferioritní (tj. nikoliv horší), pokud spodní hranice jednostranného 97,5% intervalu spolehlivosti (confidence interval – CI) pro BMD je ≥ –1,41 procentních bodů pro bederní páteř a ≥ –0,87 procentních bodů pro oblast kyčle. Dalšími sledovanými parametry jsou snášenlivost a bezpečnost léčby ibandronátem 1x měsíčně, změna hodnot BMD trochanteru po 12 měsících a změny plazmatických koncentrací CTX a P1NP. Do studie bylo zařazeno 1 756 žen ve věku 55–84 let s postmenopauzální osteoporózou, které jsou alespoň 5 let po menopauze a jejichž hodnota T-skóre bederní páteře je v intervalu mezi ≥ –2,5 a < –2,5. Kromě ibandronátu či alendronátu pacientky denně dostávaly rovněž vápník (500 mg) a vitamin D (400 IU).

obrázek 1 **Klinicky srovnatelné změny BMD po léčbě ibandronátem 1x měsíčně a alendronátem 1x týdně**



Výsledky studie ukázaly, že účinnost léčby ibandronátem v dávce 150 mg 1x měsíčně je klinicky srovnatelná s léčbou alendronátem v dávce 70 mg 1x týdně – přírůstek BMD v oblasti páteře a kyčle je obdobný, stejně tak v oblastech trochanteru a krčku femuru. Snížení hodnot markerů kostního obratu (CTX a P1NP) bylo také podobné u obou režimů a přetrvávalo celý rok, hladiny CTX se lišily svým průběhem v čase. Oba léčebné režimy byly dobře snášeny.

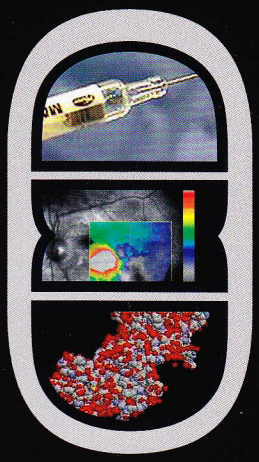
Literatura

Epstein S. 29th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. September 16, 2007–September 20, 2007. Honolulu, Hawaii, USA. Abstract.

Příloha 4

Oftalmochirurgie

Vydává: ČSRKCH



3 ročník

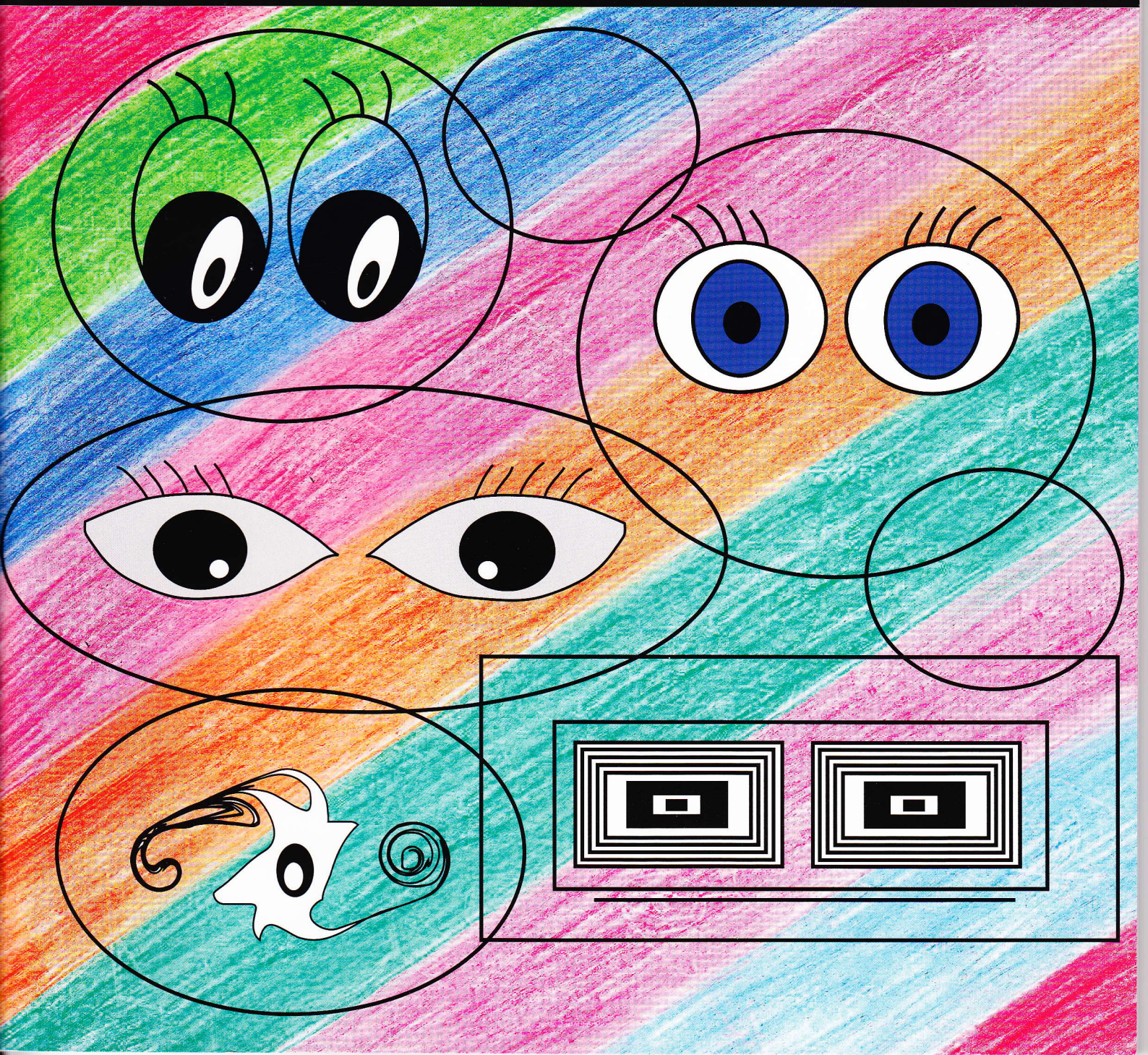
ČSRKCH
ČVRS
ČGS

číslo 2

Věkem podmíněná makulární degenerace

Výsledky léčby věkem podmíněné makulární degenerace fotodynamickou terapií po dvanácti měsících

Dlouhodobý příznivý účinek jediné injekce Avastinu. Kazuistika.



Obsah

5 Obsah:

7 Uvodní slovo

9 Věkem podmíněná makulární denerace
As. MUDr. P. Kolář, Ph.D.

23 Výsledky léčby věkem podmíněné makulární degenerace fotodynamickou terapií po dvanácti měsících
O. Chrapek, E. Fric, Z. Prachařová, M. Šín, J. Řehák

29 Bevacizumab - Avastin v léčbě věkem podmíněné makulární degenerace
I. Fišer, N. Tošková, P. Bedřich

37 Macugen v terapii vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace
As. MUDr. P. Kolář, Ph.D.

44 Preparát Ranibizumab (Lucentis) v léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace
MUDr. E. Fric

51 Dlouhodobý příznivý účinek jediné injekce Avastinu. Kazuistika.
MUDr. I. Fišer

54 Diagnostika VP makulopatie novou generací optické koherenční tomografie
MUDr. Rusňák Štěpán

58 Transpupilární termoterapie (TTT)
MUDr. V. Liška, Ph.D.

61 Oftalmologické akce ve světě

62 Oftalmologické akce v ČR

Macugen v terapii vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace

As. MUDr. Petr Kolář, Ph.D., Oftalmologická klinika LF MU a FN Brno

Souhrn

Vlhká forma věkem podmíněné makulární degenerace je nejčastější příčinou ztráty zraku u pacientů starších 65 let. Role vaskulárních růstových faktorů při vzniku chorioideální neovaskulární membrány je klíčová. Nejdůležitějším růstovým faktorem je vaskulární endoteliální růstový faktor.

Objev antagonistů cévních růstových faktorů ovlivnil zásadním způsobem terapii vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace.

Prvním antagonistou schváleným k terapii vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace je pegaptanib (Macugen), který selektivně blokuje izoformu VEGF 165, která je zodpovědná za vznik patologické neovaskularizace.

Klíčová slova: věkem podmíněná makulární degenerace, chorioideální neovaskulární membrána, vaskulární endoteliální růstový faktor, pegaptanib

Summary

Wet form of age-related macular degeneration represents the most common cause of visual acuity lost in the group of patient older then 65 years. The role of the vascular growth factors in constitution of choroidal neovascular membranes is fundamental. The most important is vascular endothelial growth factor.

Discovery of the vascular endothelial growth factor antagonists radical affected therapy of the wet form of age-related macular degeneration.

The first approved antagonist is pegaptanib (Macugen) that selectively blocked VEGF 165 isoform. This isoform is responsible for initialising of pathological neovascularization.

Key words: age-related macular degeneration, choroidal neovascular membrane, fluorescence angiography, vascular endothelial growth factor, pegaptanib

Úvod

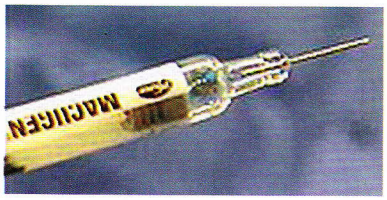
Role vaskulárních růstových faktorů se zdá být klíčovou v patogenezi chorioideální neovaskulární membrány (CNV) (Ferrara, 2004). Základním růstovým faktorem zodpovědným za rozvoj CNV je vascular endotelial growth factor (VEGF). VEGF není na tomto poli osamoceným hráčem, ale jeho role je klíčová (Folkman, 1987; Ferrara, 2003).

Z pohledu historie se existence růstových cévních faktorů předpokládala již před jejich objevením, především existence faktoru X. Tyto domněnky vedly ke snaze objevit látky blokující molekulu VEGF, a tím zabránit progresi vlhké formy VPMD.

Do objevu prvních intrakulárně použitelných antagonistů VEGF byly terapeutickou možností termální laserová fotokoagulace a fotodynamická terapie s verteporfinem. Tyto léčebné modality byly však vyhrazeny pro převážně klasické CNV, které ovšem představují pouze 25 % z celkového počtu neovaskulárních membrán(Bressler, 2000; Margherio, 2000).

Molekula VEGF

Molekula VEGF je peptidem. VEGF gen slouží k syntéze celé rodiny isoforem (obr. 1). Základními isoformami jsou 121, 145, 165, 183, 189, 206. Každá isoforma má trochu odlišnou funkci. Isoforma 165 je zodpovědná za patologickou neovaskularizaci v oku (Ishida, 2003), isoforma 121 je důležitá pro fyziologickou obnovu cévního systému (Ishida, 2003; Robinson, 2001). VEGF je syntetizován v oku buňkami RPE (Witmer, 2003). Z celkového množství syntetizovaného VEGF tvoří největší část právě isofoma 121 a 165. VEGF hraje zásadní roli jak ve fyziologické, tak v patologické neovaskularizaci (Ishida, 2003). Za fyziologických okolností je VEGF základním faktorem, který umožňuje reprodukci cév choriokapilaris a udržení adekvátního cévního průtoku pro dostatečný přísun kyslíku a živin. Dále udržuje fenestrace choriokapilárních cév. Existují důkazy o tom, že VEGF má také roli neuroprotektivní (Storkebaum, 2004; Jin, 2000; Shima, 2004).



Obrázek 1: Originální injekční stříkačka s obsahem Macugenu

VEGF je základní molekulou, která hraje důležitou roli v rozvoji patologické neovaskularizace, jak v oku, tak kdekoliv v těle. VEGF zvyšuje cévní permeabilitu (Joussen, 2001). Poslední práce dokumentují proinflamatorní efekt molekuly VEGF (Usui, 2004; Matsuoka, 2004). VEGF je nachází ve všech typech neovaskulárních membrán (Matsuoka, 2004; Kvanta, 1996).

Pegaptanib (Macugen)

První anti-VEGF molekulou se stal pegaptanib (Macugen). Jde o anti-VEGF aptamer. Aptus znamená latinsky „patřící do", meros znamená řecky „oblast", dohromady tedy patřící do určité oblasti (Jayasena, 1999). Aptamery jsou chemicky syntetizované oligonukleotidy (White, 2000). Jde o novou kategorii látek, která soupeří s protilátkami v diagnostických a terapeutických indikacích. Aptamer přímo ovlivňuje funkci proteinu tím, že se včleňuje do jeho trojrozměrné struktury (White, 2000). Výhodou aptamerů proti monoklonárním protilátkám je to, že nejsou imunogenní. Molekuly aptamerů jsou velmi malé velikosti a mají strukturu fragmentů jednořetězcových (RNA), nebo dvojřetězcových (DNA) nukleových kyselin.

Pegaptanib je RNA oligonukleotid o 28 nukleotidech. Jeho stuktura umožňuje pevnou vazbu k VEGF165 isoformě (Ishida, 2003). K ostatním isoformám VEGF aktivitu neprojevuje (Ishida, 2003). Molekula pegaptanibu je tvořena 2 polyenglykolovými zakončeními. Tento stav se nazývá „pegylací" a slouží ke zpomalení metabolismu a prodloužení biologického poločasu léčiva (White, 2000).

Pegaptanib se váže s vysokou afinitou na isoformu VEGF 165, která se nachází extracelulárně. Tato vazba způsobuje znemožnění vazby molekuly VEGF na jeho receptor v buněčné membráně. Fyziologická isoforma VEGF 121 zůstává volná. Neselektivní blokáda všech isoforem vede k zastavená patologické, ale i fyziologické obnovy cévního systému. Selektivní blokáda proti neselektivní vede ke zvýšení bezpečnosti léčby, bez přílišného omezení účinnosti (Ishida, 2003).

Macugen je bale přímo do stříkaček, které jsou opatřeny jehlou, čímž se zvyšuje bezpečnostní profil při samotné aplikaci. Nedochází k žádné manipulaci s léčivem před její aplikací do nitra oka (obr. 2).

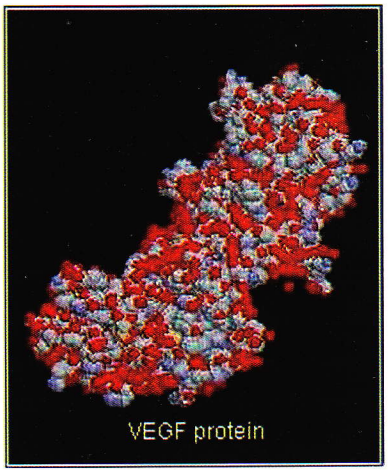
Studie VISION

Studie VISION (VEGF inhibition in ocular neovascularization) je randomizovanou dvojitě slepou, placebem kontrolovanou, multicentrickou klinickou studií fáze III, která monitorovala bezpečnost a účinnost pegaptanibu na vlhkou formu VPMD. Studie se skládala ze 2 větví (EOP 1003, EOP 1004), z nichž jedna probíhala v USA a druhá ve zbytku světa. Zařazovací kritéria umožňující vstup subjektů do studie byla velmi široká a tomu odpovídaly také

dosažené výsledky. Ukázalo se, že pegaptanib je schopen zabezpečit statisticky signifikantní benefit pro pacienty všech angiografických podtypů vlhké formy VPMD bez ohledu na úroveň zrakové ostrosti a velikosti léze při vstupu do studie. Tento benefit se podařilo udržet následně po dobu 2 let.

Primárního cíle, tj. ztráty méně než 15 písmen ETDRS optotypu, bylo dosaženo v 54. týdnu u 70 % subjektů (pegaptanib 0,3 mg), proti 55 % subjektů léčených „obvyklým způsobem" (27 % relativní rozdíl). Tento výsledek je vysoce statisticky signifikantní (p = 0,0001) (Gragoudas, 2004).

Benefit ve smyslu lepší zrakové ostrosti proti skupině léčené „obvyklým způsobem" se projevil již po prvních 6 týdnech od zahájení terapie. Tento benefit přetrvával až do 54. týdne. Ve skupině léčené pegaptanibem 0,3 mg činil průměrnou ztrátu 7,93 písmene proti obvyklé léčbě (15,05 písmene) (p = 0,05) (Gragoudas, 2004).



Obrázek 2: Molekula VEGF

Angiografický endpoint prokázal, že pegaptanibem léčené léze rostly a prosakovaly méně než léze léčené „obvyklým způsobem" (Gragoudas, 2004).

Farmakokinetika

Pegaptanib je injikován intraokulárně každých 6 týdnů. Aptamer je vysoce stabilní, a to i proti působení nukleáz v prostoru sklivce. Preklinické studie prokázaly, že dostatečnou anti-VEGF aktivitu udrží efektivně i dávka 0,3 mg a že další zlepšení klinického efektu nepřichází se zvýšením dávky na 1 a 3 mg. Limitujícím faktorem účinku pegaptanibu je systémová resorpce a poločas rozpadu. Poločas rozpadu Macugenu je asi 10 dnů. Systémová resorpce je velmi nízká a v systémové cirkulaci pokusných zvířat byla naměřena koncentrace pegaptanibu odpovídající 0,03 - 0,15 % intravitreální koncentrace. Pro lidskou populaci je systémová koncentrace po intravitreální aplikaci 0,3 mg pegaptanibu pod nejnižším limitem detekovatelnosti (0,008 mg/ml). Ani po opakovaných intravitreálních aplikacích nebyla pozorována kumulace pegaptanibu v systémové cirkulaci (Gragoudas, 2004).

Bezpečnost a snášenlivost pegaptanibu

Studie VISION prokázala velmi dobře bezpečnost pegaptanibu na 1190 subjektech, které obdržely alespoň jednu intravitreální aplikaci. V průběhu studie VISION bylo aplikováno více než 10 000 intravitreálních injekcí. Těžké nežádoucí účinky (SAE - serious adverse events) se vyskytovaly velmi vzácně a byly porovnatelné se SAE v souboru více než 15 000 intravitreálních injekcí (Jager, 2004).

Ve studii VISION se vyskytla traumatická katarakta v 0,6 %, amoce sítnice v 0,6 %. Infekční endoftalmitida se vyskytla u 12 subjektů v prvním roce studie, což představuje 0,16% riziko na 1 injekci. 2/3 endoftalmitid byly kultivačně pozitivní (koaguláza-negativní stafylokok). 9 ze 12 případů (75 %) bylo způsobeno porušením protokolu. 8 ze 12 pacientů (66 %) utrpělo minimální ztrátu zraku (ztrátu méně než 15 písmen ETDRS). 75 % pacientů, u kterých se vyvinula endoftalmitida (9 ze 12) zůstalo ve studii. Zpřísnění aseptické techniky během druhého roku studie vedlo ke snížení výskytu infekční endoftalmitidy.

Soubor pacientů

Pegaptanib (Macugen) jsme začali používat k léčbě pacientů s vlhkou formou VPMD v dubnu 2007.

Do našeho souboru bylo zařazeno 104 pacientů (41 mužů, 63 žen) průměrného věku 72,5 roku s diagnózou vlhké formy VPMD.

Pacienti zařazení do souboru museli splňovat následující kritéria:

1.úroveň zrakové ostrosti v rozmezí 4/40 - 4/8 (0,1 - 0,5), v případě posledního vidoucího oka lze akceptovat hodnotu zrakové ostrosti 3/40

2.přítomnost aktivní klasické, minimálně klasické, nebo okultní CNV v subfoveolární lokalizaci, v případě minimálně klasické a okultní CNV musí být prokazatelné známky aktivity (pokles zrakové ostrosti o více než 5 znaků ETDRS optotypu, progrese edému neuroretiny a přítomnost subretinální hemoragie)

3.velikost celé léze do 9 ploch disku, plocha aktivní CNV musela činit nejméně 50 % léze, velikost subretinální fibrotizace do 25 % léze a velikost subretinální hemoragie nejvýše do 25 % celkové léze.

Každý ze subjektů měl diagnostikovánu aktivní chorioideální neovaskulární membránu v subfoveolární lokalizaci na jednom, nebo obou očích. Diagnóza aktivní CNV byla založena na výsledku fluorescenční angiografie. Klasická CNV byla diagnostikována u 11 pacientů, minimálně klasická u 12 pacientů a okultní CNV u zbylých 81 pacientů.

Obě oči byly léčeny u 2 pacientů.

U léčených očí byl pegaptanib intravitreálně aplikován 1 - 8x. Průměrný počet aplikací byl 3.

Pegaptanib byl u subjektů zařazených do souboru aplikován intravitreální injekcí v intervalu 6 týdnů v souladu s metodikou doporučenou studií VISION.

Zraková ostrost subjektů zařazených do souboru byla zjišťována na ETDRS optotypech. Hodnota byla zaznamenána v logaritmu minimálního úhlu rozlišení (logMAR). Byl rovněž zaznamenán počet písmen, které pacient správně rozpoznal na počátku léčby a poté před každou intravitreální aplikací.

Dále bylo na začátku léčby provedeno OCT vyšetření makulární krajiny. V průběhu léčby bylo dále OCT prováděno před každou aplikací pegaptanibu, aby bylo možné monitorovat úspěšnost terapie a včas bylo odhaleno případné selhání léčby.

Intravitreální aplikace probíhala u všech pacientů na ambulantním operačním sále za přísně aseptických podmínek. To vyžaduje použití sterilních rukavic, sterilního rozvěrače, stejně jako desinfekci okolí oka, kůže víček a řas 10% a použití výplachu spojivkového vaku 5% roztokem povidoniodinu (Betadine).

Pacienti kapali 3 dny před a 3 dny po aplikaci do spojivkového vaku lokální antibiotikum. Toto opatření má za cíl minimalizovat množství patogenních mikroorganismů, které by mohly vyvolat infekční endoftalmitidu.

Pegaptanib byl aplikován pomocí injekční jehly o tloušťce 27 G, která je součástí aplikační stříkačky, cestou pars plana ve vzdálenosti 3,5 - 4 mm. Místo aplikace je doporučeno střídat, aby nedošlo ke vzniku sklerálního stafylomu. Jehla musí směřovat při aplikaci do středu sklivcové dutiny, abychom minimalizovali riziko vzniku per a pooperačních komplikací (katarakta, rhegmatogenní amoce, hemoftalmus). Po extrakci jehly ze skléry se doporučuje místo vpichu ihned komprimovat, aby nedošlo k úniku injikovaného roztoku současně s inkarcerací sklivce.

Výsledky

Hlavním sledovaným kritériem v našem souboru byla úroveň zrakové ostrosti v průběhu léčby. Dalším kritériem, které jsme sledovali, byl ústup projevů aktivity CNV, tj. ústup edému neuroretiny, resorpce subretinální hemoragie, zmenšení plochy aktivní CNV.

Sledovací doba subjektů zařazených do souboru byla 15,85 týdne (medián 12 týdnů). To znamená, že převážná většina subjektů obdržela ve sledovacím období 3 intravitreální aplikace pegaptanibu.

Průměrná zraková ostrost na začátku terapie pegaptanibem byla 0,63 ± 0,29 logMAR. Na konci sledovacího období byla průměrná zraková ostrost na úrovni 0,65 ± 0,29 logMAR. zároveň došlo ke zlepšení zrakové ostrosti o 2,9 znaku ETDRS optotypu. Ve 12. týdnu, který absolvovala většina subjektů, byla průměrná zraková ostrost 0,63 ± 0,25 logMAR. Pacienti v tomto týdnu získali v průměru 2,5 znaku ETDRS optotypu.

Změna průměrné zrakové ostrosti v souboru pacientů je v přehledu uvedena v tabulce 1 a grafu 1.

Zlepšení zrakové ostrosti o více než 15 znaků ETDRS, což je hodnoceno jako výrazné zlepšení zrakové ostrosti optotypu, získalo 5 subjektů (4,8 %). Ztráta více než 15 znaků, což je hodnoceno jako výrazná ztráta ZO, se vyskytla u 3 subjektů (2,8 %). Jinými slovy bylo zabráněno těžké ztrátě ZO u 97,2 % pacientů. 77 pacientů (74 %) neztratilo v průběhu sledovacího období ani jeden znak ETDRS optotypu.

Tabulka 1

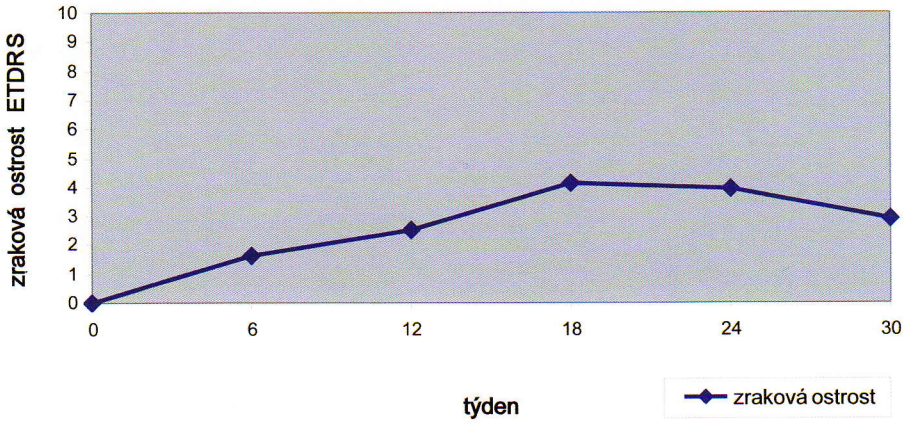
Vývoj zrakové ostrosti ve sledovacím období

Týden	0	6	12	18	24	30
Zraková ostrost log MAR	0,63	0,61	0,63	0,66	0,63	0,65
Zraková ostrost						
(změna v počtu ETDRS znaků)	0	1,63	2,53	4,15	3,93	2,9

Legenda: logMAR - logaritmus minimálního úhlu rozlišení, ETDRS - Early Treatment Diabetic Retinopathy Study

Graf 1

Změna zrakové ostrosti ve sledovaném období



Legenda: průměrná změna zrakové ostrosti ve smyslu přírůstku ETDRS znaků ve sledovacím období

Komplikace:

Základní komplikací, která se vyskytuje obecně při intravitreální aplikaci léčiva, byla přechodná elevace nitroočního tlaku. Hodnota nitroočního tlaku se během 30 minut po aplikaci normalizovala u většiny subjektů. Pokud i po této době přetrvávala elevace nitroočního tlaku nad 30 mmHg, byla jednorázově aplikována antiglaukomatózní medikace. Ani jednou nebylo nutné provedení paracentézy přední komory pro nezvladatelnou hodnotu nitrooční tenze.

Další komplikací, kterou jsme pozorovali, byla subkonjunktiválni hemoragie v místě vpichu. Nitrooční krvácení, rhegmatogenní amoce, komplikovaná katarakta, ani endogenní endoftalmitida nebyla u více než 400 nitroočních aplikací pozorována.

Závěr

Na základě našich krátkodobých výsledků se zdá, že léčba pegaptanibem je prostředkem v boji proti vlhké formě věkem podmíněné makulární degenerace. Těžké ztrátě zrakové ostrosti bylo zabráněno u 97,2 % pacientů. Zlepšení zrakové ostrosti o více než 15 znaků ETDRS optotypu bylo dosaženo u 4,8 % pacientů. Žádný znak v průběhu léčby neztratilo 74 % pacientů.

Naše výsledky jsou lepší v porovnání s výsledky studie VISION, protože byli zařazeni pacienti v časnějších stádiích onemocnění, což umožňuje zachování lepších zrakových funkcí.

Naše výsledky jsou povzbudivé, ale krátkodobé (12 týdnů). Dlouhodobé jednoleté výsledky budou zhodnoceny v některé z dalších prací.

As. MUDr. Petr Kolář, Ph.D.
Oftalmologická klinika LF MU a FN Brno

Literatura

BRESSLER, N. M. (2000) Age-related macular degeneration. New hope for a common problem comes from photodynamic therapy. BMJ. 2000, 321, 1425-1427

D´AMICO, D. J. (2005) VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization (VISION) Clinical Trial Group. VEGF inhibition study in ocular nevascularization (VISION): second year efficacy data. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005

FERRARA, N. (2004) Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. Endocrine Rev. 2004, 25, p. 581-611

FERRARA, N., GERBEL., H. P., LE COUTER, J. (2003) The biology of VEGF and its receptors. Nat Med. 2003, 9, p. 669-676

FOLKMAN, J., KLAKSBRUN, M. Angiogenic factors. (1987) Science. 1987, 235, p. 444-447

Gragoudas E.S, Adami A.P, Cunningham E.T, et al. VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascular Clinical Trial Group. Pegaptanib for neovascular age-related macula degeneration. N Engl J Med. 2004, 351, p. 2805-16.

ISHIDA, S., USUI, T.,YAMASHIRO, K., et al. (2003) VEGF 164-mediated inflammation is required for pathological, but not physiological, ischemia-reduced retinal neovascularization. J Exp Med. 2003, 198, p. 483-489

JAGER, R. D., AIELLO, L. P., PATEL, S. C., et al. (2004) Risks of intravitreous injection: a comprehensive review. Retina. 2004, 24, p. 676-698

JAYASENA, S. D. (1999) Aptamers: an emerging class of molecules that rival antibodies in diagnostics. Clin Chem. 1999, 45, p. 1628-1650

JIN, K. L., MAO, X. O., GREENBERG, D. A. (2000) vascular endothelial factor rescues HN33 neural cells from death induced by serum withdrawal. J Mol Neurosci. 2000, 14, p. 197-203

JOUSSEN, A., MURATA, T., TSUIKAWA, A., et al. (2001) Leukocyte-mediated endothelial cell injury and death in the diabetic retina. Am J Pathol. 2001, 158, p. 147-152

KVANTA, A., ALGVERE, P. V., BERGLIN, L.,et al. (1996) Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1996, 37, p. 1929.1934

MARGHERIO, R. R., MARGHERIO, A. R., DE SANTIS, M. E. (2000) Laser treatment with verteporfin therapy and its potential impact on retina practices. Retina. 2000, 20, p. 325-330

MATSUOKA, M., OGATA, N., OTSUJI, T., et al. (2004) Expression of pigment epithelium derived factor and endothelial growth factor in choroidal neovascular membranes and polypoidal choroidal vasculopathy. Br J Ophthalmol. 2004, 88, p. 809-815

ROBINSON, C. J., STRINGER, S. E. (2001) The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. J Cell Sci. 2001, 114, p. 853-865

SHIMA, D. T., NISHIJIMA, K., JO, N., et al. (2004) VEGF-mediated neuroprotection in ischemic retina. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004, 45 E 3270

STORKEBAUM, E., CARMELIET, P. (2004) VEGF: critical player in neurodegeneration. J Clin Invest. 2004, 113, p. 14-18

USUI, T., ISHIDA, S., YAMASHIRO, K. et al. (2004) VEGF 164(165) as pathological isoform: diferential leukocyte and endothelial responses through VEGFR1 and VEGFR2. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004, 45, p. 368-374

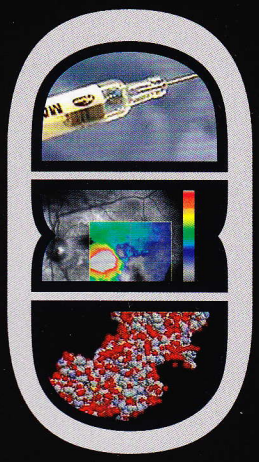
WHITE, R. R., SULLENGER, B. A., RUSCONI, C. P. (2000) Developing aptamers into therapeutics. J Clin Invest. 2000, 106, 929-934

WITMER, A. N., VRENSEN, G.F.J.M, VAN NOORDEN, C.J.F., et al. (2003) Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. Prog Retin Eye Res. 2003, 22, p. 1-29

Příloha 5

Oftalmochirurgie

Vydává: ČSRKCH



3 ročník

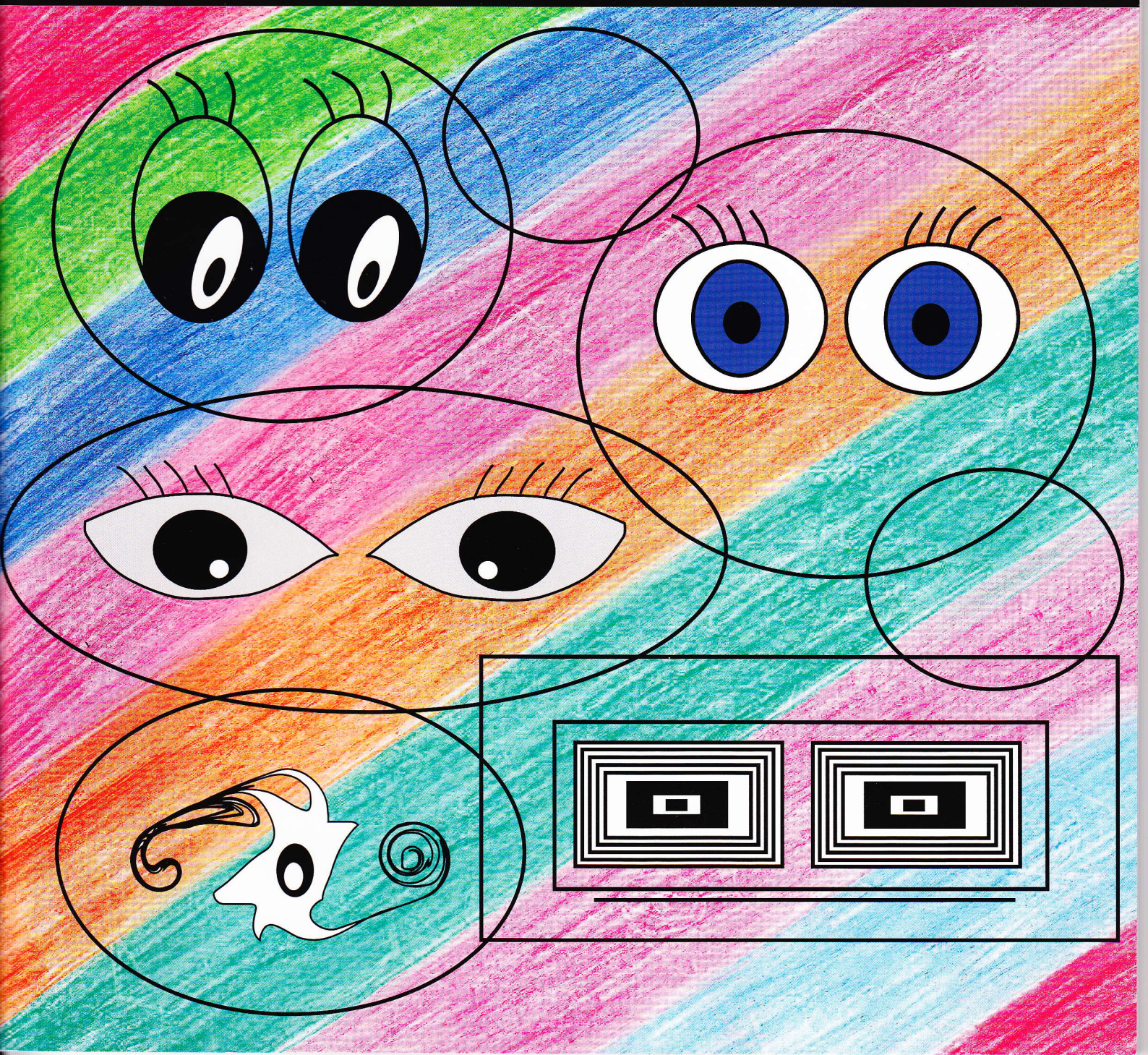
ČSRKCH
ČVRS
ČGS

číslo 2

Věkem podmíněná makulární degenerace

Výsledky léčby věkem podmíněné makulární degenerace fotodynamickou terapií po dvanácti měsících

Dlouhodobý příznivý účinek jediné injekce Avastinu. Kazuistika.



Obsah

5 Obsah:

7 Uvodní slovo

9 Věkem podmíněná makulární denerace
As. MUDr. P. Kolář, Ph.D.

23 Výsledky léčby věkem podmíněné makulární degenerace fotodynamickou terapií po dvanácti měsících
O. Chrapek, E. Fric, Z. Prachařová, M. Šín, J. Řehák

29 Bevacizumab - Avastin v léčbě věkem podmíněné makulární degenerace
I. Fišer, N. Tošková, P. Bedřich

37 Macugen v terapii vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace
As. MUDr. P. Kolář, Ph.D.

44 Preparát Ranibizumab (Lucentis) v léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace
MUDr. E. Fric

51 Dlouhodobý příznivý účinek jediné injekce Avastinu. Kazuistika.
MUDr. I. Fišer

54 Diagnostika VP makulopatie novou generací optické koherenční tomografie
MUDr. Rusňák Štěpán

58 Transpupilární termoterapie (TTT)
MUDr. V. Liška, Ph.D.

61 Oftalmologické akce ve světě

62 Oftalmologické akce v ČR

Věkem podmíněná makulární degenerace

As. MUDr. Petr Kolář, Ph.D., Oftalmologická klinika LF MU a FN Brno

Souhrn

V souladu s trendem stárnutí populace v České republice se stává věkem podmíněná makulární degenerace významným problémem. Terminální stádia tohoto onemocnění ve většině případů vedou k velmi nízké zrakové ostrosti na úrovni praktické slepoty, což představuje významný socioekonomický problém. Podle posledních údajů postihuje až 30 % pacientů starších 75 let. Snahou všech terapeutických postupů, jejichž rozmach jsme v posledních 25 letech zažili, je tedy zajistit našim pacientům postiženým věkem podmíněnou makulární degenerací použitelnou zrakovou ostrost na co nejdelší dobu.

Pokud je onemocnění diagnostikováno a léčeno včas, můžeme pacientům dokonce vrátit část již ztracené zrakové ostrosti a to je největší průlom v léčbě věkem podmíněné makulární degenerace.

Klíčová slova: věkem podmíněná makulární degenerace, chorioideální neovaskulární membrána, fluorescenční angiografie, optická koherentní tomografie

Summary

Age-related macular degeneration becomes in compliance with ageing of the population in the Czech Republic the major problem. Terminal stages of this disease lead to very low visual acuity near the practical blindness and this represents an important socio-economic problem. Age-related macular degeneration affects 30 % patients older than 75 years. The effort of all therapeutic procedures developed in the last 25 years is to guarantee for patients with age-related macular degeneration for the long time usable visual acuity.

When is disease diagnosed and treated in time, we can restore for some patients a part of lost visual acuity and this is the biggest break in treatment of age-related macular degeneration to this time.

Key words: age-related macular degeneration, choroidal neovascular membrane, fluorescence angiography, optical coherence tomography

Úvod

Věkem podmíněná makulární degenerace (VPMD) je nejčastější příčinou těžké ztráty zraku ve vyspělých zemích v populaci nad 65 let věku (Klein, 1992; Vinterling, 1995). Jedná se o multifaktoriální onemocnění způsobené kombinací vlivů prostředí a genetických faktorů (Heiba, 1994; Hyman, 1983). Výsledkem přirozeného průběhu onemocnění je těžké postižení centrální zrakové ostrosti (CZO) až na úroveň praktické slepoty.

Věkem podmíněnou makulární degeneraci rozdělujeme na 2 kategorie: suchou (nonexsudativní) a vlhkou (exsudativní). Suchá forma značně převažuje a je jí postiženo asi 85 - 90 % pacientů. Vlhká forma se vyskytuje u zbylých 10 - 15 %. Co do závažnosti postižení centrální zrakové ostrosti je však vlhká forma zodpovědná v 85 % za těžkou ztrátu zrakové ostrosti.

VPMD je onemocněním s velmi úzkou věkovou vazbou, jeho prevalence roste s věkem. U pacientů mezi 50. - 60. rokem věku činí asi 2 %, naproti tomu u pacientů starších 75 let představuje již téměř 30 % a u pacientů starších 90 let je to více než 40 % (Klein, 1992; Vinterling, 1995; Heiba, 1994; Hyman, 1983; Holz, 2004). Tyto údaje jsou podloženy rozsáhlými populačním studiemi, které byly provedeny jak v Evropě (Rotterdam Study), tak v USA (Beaver Dam Study) a Austrálii (Blue Mountains Study).

Historie

Onemocnění bylo poprvé popsáno velmi záhy po objevu Helmholtzova oftalmoskopu. Bylo to v roce 1855, kdy oftalmolog Donders popisuje jako první drúzy v makulární oblasti sítnice. Další publikace popisující taktéž drúzy makuly na sebe nenechaly dlouho čekat a byly vydány v roce 1875 Pangenstecherem a v roce 1885 Haabem.

Převratnou změnou v historii VPMD byl objev metodiky fluorescenční angiografie (FA) (Novotny, 1961), která umožnila zobrazení cévního systému retiny. Dalším mezníkem byl objev indocyaninové angiografie (ICGA) (Flower, 1972), která umožnila zobrazit choriodeální cirkulaci.

Do doby rozvoje laserové terapie nebyla známa účinná léčba VPMD. První zmínku o použití laserové terapie u VPMD přináší Gass (Gass, 1971) a Bird (Bird, 1974). Nový pohled na laserovou terapii VPMD přinesla randomizovaná prospektivní studie Macular Photocoagulation Study Group (MPS) (MPS, 1982). Tato studie prokázala zcela jasně efekt laserové terapie u klasických chorioideálních neovaskularizací (CNV). Naproti tomu u okultních CNV tento účinek shledán nebyl.

Významnou etapou v historii VPMD byl objev možnosti léčby CNV pomocí fotosenzibilizujích látek. Jako první účinný fotosenzibilizátor byl použit verteporfin (Visudyne) (Schmidt-Erfurth, 1999). Tím byl dán základ pro rozvoj fotodynamické terapie (PDT).

Asi největším průlomem v terapii vlhké formy VPMD bylo zavedení anti-VEGF preparátů. Prvním preparátem, který byl schválen v roce 2004 byl pegaptanib (Macugen) (Gragoudas, 2004), který byl následován v roce 2006 ranibizumabem (Lucentis) (Brown, 2006, Rosenfeld, 2006). Se zavedením těchto preparátů byla prolomena pomyslná psychologická hranice, že pacientům postiženým vlhkou formou VPMD již nelze vrátit ztracenou zrakovou ostrost.

Epidemiologie VPMD

Pro populaci České republiky nemáme k dispozici epidemiologická data, která by dokládala incidenci a prevalenci VPMD, jako je tomu např. u diabetické retinopatie, pro kterou jsou data k dohledání v ročenkách ÚZIS (Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR).

Prevalence je obecně definována jako počet subjektů postižených daným onemocněním na 100 000 obyvatel. Protože nejsou k dispozici data z ČR, musíme se spokojit s daty z velkých světových populačních studií. Beaver Dam Eye Study vyšetřila celkem 4 926 převážně bělošských obyvatel Beaver Dam ve státě Wisconsin (USA) (Klein, 1992; Klein, 1996). Jedna či více drúz se ve věkové skupině 43 až 84letých objevila v 95,5 %. Prevalence jasně narůstala s věkem probandů. Ve věku do 54 roků se makulopatie vyskytovala v 8,5 % a ve skupině nad 75 roků to bylo již 37 % (Klein, 1992).

Velká australská studie, u které byla fotografická technika obdobná jako u Beaver Dam Eye Study, Blue Mountains Eye Study nalezla epidemiologicky obdobné rozvrstvení jako u všech předchozích studií (Michell, 1995).

Jediná evropská velikostí srovnatelná je studie z Holandska - Rotterdam Study, která vyšetřila celkem 6 251 účastníků ve věku 55 až 98 roků žijících v Holandsku.

Prevalence VPMD je v této studii 1,7 %, což je nižší prevalence než ve studiích z USA Prevalence opět roste s věkem (Vingerling, 1995).

Incidence je definována počtem nemocných s nově vzniklým onemocněním na 100 000 obyvatel za určené období (obvykle kalendářní rok). Studie Beaver Dam určila pětiletou kumulativní incidenci rozvoje časné a pokročilé VPMD v populaci 3 583 subjektů ve věkovém rozmezí 43 - 86 let. Pacienti, kteří byli vyšetřeni v letech 1987 - 1988, byli opětovně vyšetřeni v roce 1993. Incidence časné formy VPMD narůstala z 3,9 % u sledovaných ve věkové kategorii 43 - 54 let na 22,8 % u starších 75 let. Souhrnná pětiletá incidence pokročilé formy VPMD byla 0,9 %, exsudativní změny se

objevovaly u 0,6 % a čistá geografická atrofie u 0,3 %. To prokazuje vyšší rychlost progrese exsudativní formy VPMD. Míra výskytu pokročilé formy VPMD byla ve věkové skupině 75 letých a starších více než 5,4 % (Klein, 1996).

VPMD je většinou onemocněním oboustranným, přičemž nález na obou očích může být asymetrický (jedno z očí je postiženo pokročilejším stádiem choroby). Riziko postižení některou s forem VPMD u druhého oka je podle populačních studií asi 40% v průběhu 5 let (Klein, 1992; Vinterling, 1995; Heiba, 1994; Hyman, 1983). Vzhledem ke světovému trendu stárnutí populace bude prevalence onemocnění s největší pravděpodobností i nadále narůstat.

Etiopatogeneze

Ve studiu etiopatogeneze VPMD došlo v posledních 10 letech k výraznému posunu. Základním patofyziologickým stavem ,který hraje roli při vzniku VPMD, jsou strukturální změny Bruchovy membrány v průběhu procesu stárnutí. Vlivem věku dochází totiž k jejímu ztluštění. To vede ke snížení prostupnosti pro živiny a odpadní produkty. Tímto mechanismem se formují drúzy, které jsou prvotním příznakem VPMD (Freeney-Burns, 1985). Tyto mohou mít podle svého vzhledu solitární nebo konfluentní charakter. Solitární drúzy do velikosti 63 m jsou označovány jako tvrdé, konfluentní větší než 63 μm poté jako měkké. Výskyt drúz znamená již sám o sobě velmi výrazný zásah do retinální architektury, který ve své podstatě poté může vyústit v rupturu Bruchovy membrány komplikovanou tvorbou CNV.

Dále bylo zjištěno, že vlivem věku dochází ke snižování počtu buněk retinálního pigmentového epitelu (RPE) (Sarks, 1988). Snižuje se počet melanosomů, které chrání sítnici vůči toxickým účinkům zejména modrého světla (Taylor, 1990).

Vlivem zvyšujícího se věku dochází dále k akumulaci lipofuscinu, proteinu stárnutí, uvnitř buněk RPE, jehož aktivace volnými kyslíkovými radikály vede k urychlení procesu apoptózy (přirozené buněčné smrti).

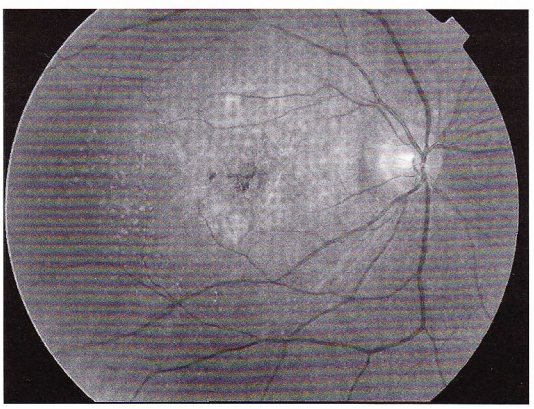
Zásadní roli hrají v tomto případě vazogenní faktory, především vascular endotelial growth factor (VEGF) (Marshall, 1987; Spilsbury, 2000). K normální funkci sítnice je nutná rovnováha mezi produkcí a potřebou VEGF. Ve stáří ale dochází vlivem snížené propustnosti Bruchovy membrány k nadprodukci VEGF retinou, a tím tedy ke stimulaci tvorby neovaskulárního komplexu (Moore, 1995).

Klasifikace VPMD

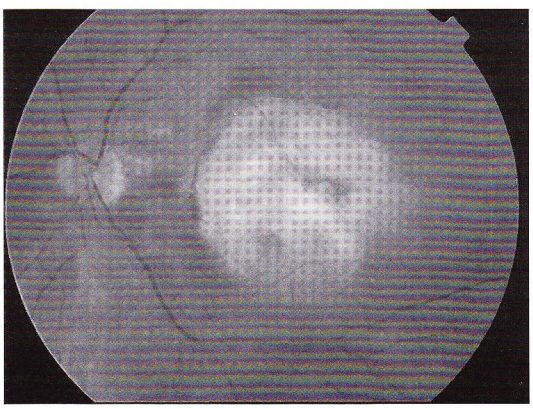
Na základě výsledků velkých populačních studií (Klein, 1992; Vinterling, 1995), které se zabývaly vývojem VPMD v populaci, bylo onemocnění rozděleno na 2 základní podskupiny: časnou VPMD, která je charakterizována drúzami a změnami na úrovni RPE a pozdní VPMD, která se projevuje výskytem geografické atrofie (GA), či CNV.

Klasifikační schéma obvykle používané v naší odborné terminologii logicky rozlišuje 2 formy VPMD: suchou (nonexsudativní) a vlhkou (exsudativní).

Suchá forma VPMD je charakteristická výskytem drúz, změnami ve vrstvě RPE a v konečném stádiu onemocnění GA (obr.1). Vlhká forma VPMD je poté charakterizována CNV, subretinální hemoragií v makule, nebo ablací RPE. Terminální stádium vlhké formy VPMD představuje disciformní jizva (obr.2).



Obr.1: Geografická atrofie - terminální stádium suché formy VPMD



Obr.2: Subretinální fibróza - terminální stádium vlhké formy VPMD

Základním projevem vlhké formy VPMD je tedy CNV. Jedná se o patologickou proliferaci cév chorioidey. Podle lokalizace neovaskulárního komplexu vůči RPE rozeznáváme 2 typy: klasickou a okultní CNV. Existuje i kombinace obou výše zmíněných forem CNV. Podle podílu jednotlivých složek hovoříme o převážně klasické (podíl klasické složky je větší, nebo roven 50 %), nebo minimálně klasické formě CNV (podíl klasické složky je menší než 50 %). Podle lokalizace vůči centru fovey rozeznáváme extrafoveolární, juxtafoveolární, či subfoveolární CNV. Základním diagnostickým kritériem je v tomto případě vzdálenost okraje CNV od centra fovey. Extrafoveolární CNV je vzdálena více než 200 μm, juxtafoveolární 1 - 200 μm a subfoveolární je lokalizována pod foveou.

Rizikové faktory VPMD

Jedná se o multifaktoriální onemocnění, které je způsobeno kombinací vlivů zevního prostředí a predisponujících genů. V protikladu k monogenně dědičným chorobám nevykazuje VPMD rysy, které je možné přiřadit účinku jednoho genu (Heiba, 1994; Hyman, 1983).

Očními rizikovými faktory jsou světlá barva iris, hypermetropie, nukleární katarakta a operace katarakty (Eye Disease Case Control Study Group, 1992). Spojení barvy iris a VPMD opět souvisí s protektivním efektem melaninu, který se u světlých duhovek uplatňuje méně. Extrakce katarakty představuje taktéž rizikový faktor progrese VPMD. Katarakta by měla být proto operována pouze v případech, kdy je možné očekávat prokazatelné zlepšení vízu (Klein, 1994; Pollack, 1994).

Dále byla prokázána přímá vazba mezi nadměrnou expozicí modrému světlu a výskytem pozdních forem VPMD (Taylor 1990).

Základním rizikovým faktorem VPMD je příslušnost k bílé rase. Podle velkých klinických studií byl zjištěn nižší výskyt VPMD u příslušníků černé rasy (Eye Disease Case Control Study Group, 1992). Uvažuje se o možném protektivním účinku vyšší koncentrace melaninu v sítnici, která ji chrání před nadměrnou expozicí světlu.

Dalším rizikovým faktorem je příslušnost k ženskému pohlaví (Eye Disease Case Control Study Group, 1992). Uvažuje se o vymizení protektivního účinku estrogenů v menopauze. Naopak byl prokázán pozitivní efekt hormonální substituční terapie ve smyslu snížení rizika vzniku a rozvoje VPMD.

K cévním rizikovým faktorům, které vedou ke zvýšení rizika vzniku a progrese VPMD patří hypertenze, ischemická choroba srdeční, diabetes mellitus a poruchy v metabolismu lipidů (Marshall, 1987).

Taktéž vlivy zevního prostředí jako kouření cigaret a nadměrná expozice světlu vedou ke zvýšení rizika VPMD. Kouření 25 cigaret denně zvyšuje riziko vzniku VPMD 2x (Eye Disease Case Control Study Group, 1992).

Negativní vliv nadměrného požívání alkoholu nebyl ve velkých studiích přesvědčivě prokázán (Cho, 2000).

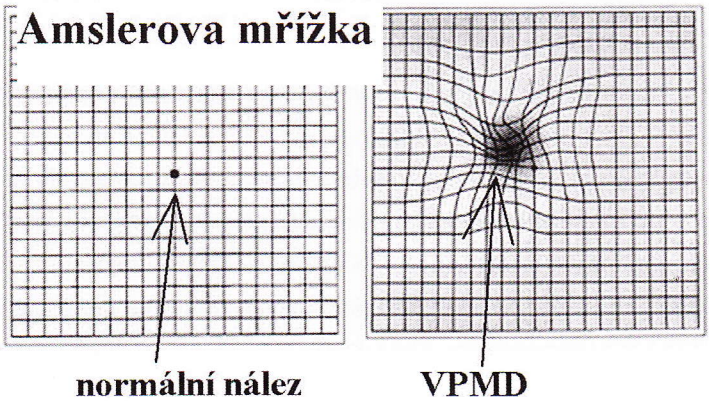
Studie AREDS (Age-Related Eye Disease Study, 2001) ukázala, že suplementace antioxidanty (vitamin C, E, beta-karoten), zinkem může účinně zpomalit progresi VPMD. Jednalo se o 7letou studii, která sledovavla 5000 mužů a žen ve věku 55 - 80 let. Subjekty byly léčeny buď placebem, samotným zinkem, nebo zinkem v kombinaci s antioxidanty. Studie ukázala, že suplementace zinkem a antioxidanty vede k redukci rizika progrese středně pokročilé v pokročilou VPMD o 25 % (Age-Related Eye Disease Study, 2001). Negativní efekt nedostatečného přísunu antioxidatů stravou byl přesvědčivě prokázán (Eye Disease Case Control Study Group, 1992).

Makulární oblast má žlutou barvu, která jí dala jméno (Macula luthea). Příčina tohoto zbarvení byla objevena až v 80. letech Handelmanem (Handelman, 1988).

Základními dvěma pigmenty v makulární oblasti jsou lutein a zeaxantin. Fungují jako lapače volných radikálů a doplňují tak funkci vitaminu C a E (Seddon, 1994).

Klinický obraz VPMD

VPMD se projevuje především poklesem centrální zrakové ostrosti. Nejdříve je postižena zraková ostrost do blízka, což je společným znakem všech makulárních onemocnění. Podle charakteru VPMD je pokles vizu buď pozvolný (suchá forma) nebo rychle progredující (vlhká forma). Dalším charakteristickým znakem je výskyt metamorfopsií



Obr.3: Amslerova mřížka

při vyšetření Amslerovou mřížkou, které většinu pacientů výrazně obtěžují (obr.3).

S výskytem metamorfopsií souvisí i pokles zrakové ostrosti, zejména při vidění na blízko. Řádky textu se začínají křivit, vypadávají písmena a text se stává nezřetelným. Jestliže nález dále progreduje, vzniká nejprve relativní a později i absolutní centrální skotom, znemožňující čtení, rozeznávání detailů a samostatnou orientaci v neznámém prostředí.

Při vyšetření makulární krajiny pacienta postiženého suchou formou VPMD nalézáme nejprve drúzy (tvrdé - menší než 63 mikrometrů, měkké - větší než 63 mikrometrů). Později vznikají změny na úrovni RPE (přesuny pigmentu, hyperpigmentace a depigmentace) a v terminální fázi geografická atrofie RPE.

V makulární krajině oka s vlhkou formou VPMD nacházíme CNV. Jejími charakteristickými projevy jsou především edém neuroretiny, který koresponduje s mírou aktivity CNV (čím je vyšší aktivita, tím je vyšší edém), dále subretinální hemoragii, tvrdé exsudáty, subretinální fibrotizaci. Pokud tato postihne celou CNV hovoříme o terminálním stavu vlhké formy - disciformní jizvě.

Vyšetřovací metody

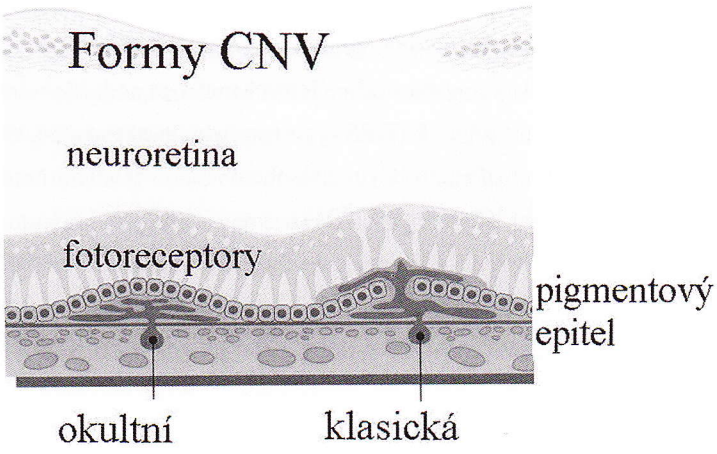
Základní vyšetřovací metodou, která přinese první cenné informace, je biomikroskopické vyšetření sítnice v makulární oblasti v arteficiální mydriáze. Dovede odhalit změny v neuroretině (edém, cystoidní přestavba), ale i ve vrstvě RPE (hyperpigmentace, depigmentace, atrofie). Nezastupitelnou roli zde hraje vyšetření na štěrbinové lampě za pomoci 90, 78, či 66 D čočky, nebo vyšetření makuly klasickou Goldmannovou čočkou. Výhodou těchto vyšetřovacích postupů je možnost binokulárního vyšetření, které umožňuje zhodnotit makulární krajinu trojrozměrně.

Základní diagnostickou metodou makulárních patologických stavů včetně VPMD je fluorescenční angiografie sítnice (FA). Je založena na principu fluorescence. Vlastní jev fluorescence se vyvolá excitací molekul látky schopné fluorescence (v případě FA jde o sodnou sůl fluoresceinu) netermálním světelným zářením (Wolfe, 1986).

FA dokáže odhalit, zda má neovaskulární komplex charakter klasické CNV (je lokalizován mezi neuroretinou a RPE), či okultní CNV (je lokalizován mezi buňkami RPE a Bruchovou membránou) (obr.4). V případě okultní CNV však nedokáže zobrazit její kompletní rozsah.

Proto byla vyvinuta indocyaninová angiografie, která dokáže zobrazit cévní řečiště chorioidey, a tím tedy odhalit zde se vyskytující patologii. Má význam především u okultních forem CNV doprovázených ablací RPE.

Další důležitou vyšetřovací metodou, která se prosadila v posledním desetiletí, je optická koherentní tomografie (OCT), která bývá označována jako „biopsie bez operace". Za pomoci interference referenčního a měřícího paprsku je přístroj schopen vytvořit optický řez neuroretinou a vrstvou RPE. Zobrazení chorioidey není možné kvůli blokádě průchodu skenovacího paprsku buňkami RPE. OCT však umožní upřesnit lokalizaci neovaskulárního komplexu vzhledem k neuroretině a RPE, a tím pomoci v rozlišení mezi klasickou a okultní CNV.



Obr.4: Klasická a okultní chorioideální neovaskulární membrána

Terapie VPMD

Terapie VPMD zaznamenala v posledních letech výrazný posun. Byly vyvinuty nové způsoby terapie vlhké formy VPMD, které umožňují pacientům dokonce vrátit část ztracené zrakové ostrosti. Přesto je nutno říci, že nemáme doposud k dispozici kauzální terapii.

Profylaktická farmakoterapie u počátečních stádií VPMD jistě kauzálně neřeší podstatu onemocnění, ale dovede alespoň oddálit rozvoj časných stádií onemocnění (drúzy a depozita lipofuscinu), ale taktéž podle výsledků klinických studií pozastavuje progresi onemocnění k pozdním formám (GA, CNV) (Holz, 2003). V tomto smyslu se v posledních několika letech intenzívně diskutuje význam dostatečného přísunu vitamínů a minerálů. Na základě výsledků Age-related Eye Disease Study (Age-Related Eye Disease Study, 2001), kdy byly pacientům podávány vysoké dávky antioxidantů (500 mg vitaminu C, 15 mg ß-karotenu, 400 IU vitaminu E, 80 mg zinku v kombinaci s 2 mg mědi), byl zjištěn pozitivní efekt ve smyslu statisticky signifikantního snížení rizika rozvoje pozdních forem VPMD (GA, CNV). Dále byl prokázán antioxidativní efekt a protektivní efekt vůči toxickému působení modrého světla u makulárních pigmentů typu luteinu a zeaxantinu (Pauleikhoff, 2001). Naopak jejich nedostatek prokazatelně vede ke zvýšení rizika rozvoje VPMD.

Pro léčbu vlhké formy VPMD je v současnosti používána řada terapeutických postupů. Úsilí v poslední době směřuje zejména k výzkumu látek, které dovedou ovlivňovat samotný proces chorioideální neovaskularizace. Jde především o inhibitory a protilátky vůči endoteliálnímu růstovému faktoru. Koncept této terapie byl vyvinut v 70. letech minulého století v protinádorové terapii (Folkman, 1971).

Metodou volby v současné terapii vlhké formy VPMD je aplikace blokátorů VEGF, tzv. anti-VEGF molekul (pegaptanib - Macugen, ranibizumab - Lucentis,.bevacizumab - Lucentis).

Pegaptanib (Macugen)

Pegaptanib (Macugen) byl první anti-VEGF molekulou schválenou FDA k terapii vlhké formy VPMD (2004). Jde o anti-VEGF aptamer. Aptus znamená latinsky „patřící do", meros znamená řecky „oblast", dohromady tedy patřící do určité oblasti. Pegaptanib je RNA oligonukleotid o 28 nukleotidech. Jeho struktura umožňuje pevnou vazbu k VEGF165 isoformě (Ishida, 2003). Pegaptanib se váže s vysokou afinitou na isoformu VEGF 165, která se nachází extracelulárně. Tato vazba způsobuje znemožnění vazby molekuly VEGF na jeho receptor na buněčné membráně.

Účinnost pegaptanibu byla ověřena ve studii VISION (VEGF inhibition in ocular neovascularization). Jednalo se o randomizovanou dvojitě slepou, placebem kontrolovanou, multicentrickou klinickou studii fáze III, která monitorovala bezpečnost a účinnost pegaptanibu na vlhkou formu VPMD. Pegaptanib byl aplikován intravitreálně každých 6 týdnů cestou pars plana 3,5 mm od limbu, aby se předešlo případným poškozením čočky, nebo periferní sítnice. V průběhu léčby, pokud to stav pacienta vyžadoval, byla dovolena PDT léčba s verteporfinem pro pacienty postižené klasickými CNV.

Prezentované výsledky studie VISION ukázaly, že pegaptanib je schopen zabezpečit statisticky signifikantní benefit pro pacienty všech angiografických podtypů vlhké formy VPMD bez ohledu na úroveň zrakové ostrosti a velikosti léze při vstupu do studie. Tento benefit se podařilo udržet následně po dobu 2 let. Primárního cíle, tj. ztráty méně než 15 písmen ETDRS optotypu bylo dosaženo v 54. týdnu u 70 % subjektů (pegaptanib 0,3 mg), proti 55 % subjektů léčených „obvyklým způsobem" (27 % relativní rozdíl). Tento výsledek je vysoce statisticky signifikantní ($p = 0{,}0001$) (Gragoudas, 2004).

Ranibizumab (Lucentis)

Ranibizumab (Lucentis) představuje další anti-VEGF molekulu, která byla schválena FDA k léčbě vlhké formy VPMD v roce 2006.

Jedná se o rekombinantní humanizovaný fragment monoklonární protilátky proti cévnímu růstovému faktoru (Presta, 1997; Ferrara, 2006).

Původní práce, které se zabývaly protilátkami proti VEGF-A, prokazovaly, že protilátka o plné velikosti neprochází retinálními vrstvami (Mordenti, 1999). Proto byla původní molekula celé protilátky (bevacizumab - Avastin) zmenšena pouze na aktivní fragment (Fab - fragment antibody), který má pouze třetinovou molekulární hmotnost a bezpečně prochází všemi vrstvami sítnice (Mordenti, 1999, Ferrara, 2006).

Fragment protilátky (ranibizumab) má 100x rychlejší systémovou eliminaci, než kompletní protilátka. Jinými slovy je bezpečnější, protože v systémové cirkulaci koluje daleko kratší dobu (Ferrara, 2006; Heier, 2006).

Vazba molekuly ranibizumabu k molekule VEGF je 5 - 20x silnější než u kompletní protilátky (bevacizumab) (Ferrara, 2006). V tom je další nesporná výhoda ranibizumabu proti bevacizumabu, Molekuly ranibizumabu se daleko lépe a silněji váží na VEGF-A než bevacizumab, a tudíž se jich dostává menší množství do systémové cirkulace (Presta, 1997).

Ranibizumab je plně humanizovaná monoklonární protilátka, která váže všechny isoformy VEGF-A. (VEGF 165,121,110, 189, 206) (Ferrara, 2006).

Klinická efektivita a bezpečnost ranibizumabu byla sledována ve 3 randomizovaných, dvojitě slepých placebem kontrolovaných studiích (MARINA, ANCHOR, PIER). Ve studii MARINA byli léčeni pacienti s minimálně klasickou, nebo okultní chorioideální neovaskularizací měsíční intravitreální aplikací 0,3 mg a 0,5 mg ranibizumabu, či placebem (Rosenfeld, 2006). Ve studii ANCHOR byli zahrnuti pacienti s predominantně klasickou CNV. Subjekty byly rozděleny do 3 ramen. V prvním bylo aplikováno 0,3 mg ranibizumabu měsíčně společně s předstíranou PDT, ve druhém 0,5 mg ranibizumabu měsíčně s předstíranou PDT a ve třetím předstíraná aplikace ranibizumabu společně s klasickou PDT s verteporfinem (Brown, 2006). Studie PIER sledovala účinnost alternativního dávkování ranibizumabu. Po iniciálních 3 aplikacích, které byly podány v intervalu 4 týdnů, následovaly další aplikace v intervalu 3 měsíců (celkem 5 dávek během 1 roku) (Lucentis, 2007).

Primárního cíle, tj. ztráty méně než 15 písmen ETDRS optotypu bylo dosaženo ve studiích MARINA a ANCHOR u 95 % subjektů. 34 - 40 % pacientů léčených ranibizumabem dosáhlo klinicky signifikantního zlepšení vizu, které bylo definováno ziskem více než 15 písmen ETDRS optotypu ve 12 měsíci v porovnání s počátkem studií. Primárním cílem studie PIER bylo stanovení průměrné změny zrakové ostrosti ve 12. měsíci. Po počátečním vzestupu zrakové ostrosti v průběhu měsíčního dávkování ztrácely subjekty zrakovou ostrost během následného 3měsíčního dávkování. Zraková ostrost se ale navrátila k počáteční hodnotě ve 12. měsíci. Většina pacientů ve studii PIER (90 %) si zachovala zrakovou ostrost ve 12. měsíci, která byla shodná se zrakovou ostrostí jako na počátku studie (Brown, 2006; Rosenfeld, 2006; Lucentis, 2007).

Bevacizumab (Avastin)

Bevacizumab (Avastin) je murifikovaná monoklonální protilátka proti VEGF s velikostí molekuly 149 kD. Sekvence aminokyselin je z 93 % lidská, ze 7 % murifikovaná. (Presta, 1997). Studie na zvířecích modelech ukázaly špatnou prostupnost velké molekuly Avastinu přes zdravou sítnici (Mordenti, 1999). To znamená, že by bevacizumab neměl u pacientů s vlhkou formou VPMD fungovat. Opak je ale pravdou. Tento paradox je způsoben rozdílnou propustností nemocné a zravé sítnice. Nemocná sítnice je propustná daleko více i pro větší molekuly podobné bevacizumabu (Rosenfeld, 2005; Avery, 2006a,b). Srovnávací studie průniku menší molekuly ranibizumabu a větší molekuly bevacizumabu dosud chybí (Bakri, 2007). Po intraokulární aplikaci je poločas rozpadu Avastinu 4,32 dní. Maximální koncentrace ve sklivci (400 mikrogramů/ml) byla naměřena první den po injekci 1,25 mg bevacizumabu (Bakri, 2007; Avery, 2006a,b). Koncentrace schopná zajistit regresi neovaskularizace (10 mikrogramů/ml) byla zjištěna ještě 30 dnů po aplikaci 1,25 mg bevacizumabu. Maximální sérové koncentrace bevacizumabu (3 mikrogramy/ml) je dosaženo po 8 dnech od intravitreální aplikace (Avery, 2006a,b).

U opakované aplikace nespecifického anti-VEGF nelze vyloučit potlačení pozitivních účinků VEGF. Neselektivní blokáda VEGF má prokázaný a výrazný pozitivní účinek na vlhkou formu VPMD v počátku léčby. Z dlouhodobého hlediska může být ale tento efekt kontraproduktivní. Na to, zda je léčba bevacizumabem bezpečná, mohou odpovědět pouze prospektivní randomizované klinické studie.

Efekt bevacizumabu doposud nebyl studován v prospektivní dvojitě slepé randomizované klinické studii. Publikované studie jsou většinou retrospektivní s poměrně malým počtem sledovaných pacientů a krátkou sledovací dobou. Porovnat výsledky těchto studií navzájem je poměrně složité, protože zařazovací kritéria se navzájem liší. Tyto studie nezahrnují pouze nově diagnostikované pacienty bez předchozí léčby, ale i pacienty, u kterých selhal některý z obvyklých způsobů léčby (fotodynamická terapie s verteporfinem, pegaptanib, ranibizumab). Taky aplikační schéma není dobře porovnatelné. Varíruje od aplikace pouze jedné injekce, až po aplikace tří po sobě následujících injekcí v měsíčním intervalu, které je následováno další aplikací v závislosti na poklesu zrakové ostrosti a zhoršení OCT nálezu (progrese akumulace intraretinální tekutiny). Z tohoto hlediska je nyní těžké stanovit, který typ CNV a v jakém stádiu rozvoje reaguje nejlépe na léčbu bevacizumabem.

Přesto přes 2000 dosud publikovaných aplikací bevacizumabu v dávce 1,25 mg mělo výsledky velmi podobné. Zraková ostrost se v průměru zlepšila z 6/60 na 6/24 a centrální tloušťka sítnice se snížila v průměru o 100 mikrometrů. K dosažení stabilizace nálezu (zklidnění nálezu na FA) bylo zapotřebí v průměru 2,6 dávky (Spaide, 2006a,b,c,d).

Dosud není jasně stanovený počet dávek nezbytných ke stabilizaci nálezu. Vzhledem k delšímu poločasu rozpadu a pomalejšímu odbourávání látky proti pegaptanibu a ranibizumabu lze předpokládat, že počet nezbytných dávek bude menší.

Fotodynamická terapie s verteporfinem (Visudyne)

Dalším metodou k léčbě VPMD je fotodynamická terapie s preparátem verteporfin (Visudyne) (PDT), která je založena na aktivaci molekuly fotosenzibilizátoru (verteporfinu) laserovým světlem červené barvy (690 nm).

Vaskulární mechanismus představuje dominantní efekt PDT (Schmidt-Erfurth, 1999). Je založen na destrukci endoteliálních buněk kapilár, což vede k venózní stáze a tvorbě mikrotrombů. Efektivita a selektivita PDT záleží na celé řadě dalších faktorů. Hlavními jsou dávka fotosenzibilizátoru, délka infúze, vlnová délka aktivujícího záření a jeho dávka. Fotosenzibilizátor se predilekčně váže k molekulám lipoproteinů, především low-density lipoproteinu (LDL). Receptory pro LDL jsou exprimovány nejvíce na nádorových buňkách a endoteliálních buňkách neovaskulárních cév. Komplex fotosenzibilizátoru, molekuly LDL a receptoru je poté fagocytován do nitra endoteliální buňky a po jeho aktivaci červeným světlem 690 nm je vyvolána přímá buněčná smrt (nekróza) (Schmidt-Erfurth, 1999). Efekt terapeutického zásahu není viditelný bezprostředně, tak jako u klasické laserové koagulace. Úspěšná okluze je pozorovatelná nejdříve po 1-2 týdnech po PDT, kdy dochází k plnému rozvoji chorioideální non-perfúze v ošetřené oblasti. Verteporfin je zástupcem druhé generace fotosenzibilizátorů a jeho absorpční maximum leží mezi 680-695 nm. Tato vlnová delka umožňuje snadný průnik přes melanin, krev a fibrotickou tkáň (Richter, 1987) do subretinálních struktur. Hlavní výhodou verteporfinu vůči ostatním fotosenzibilizátorům je jeho krátký sérový poločas (2-5 hod), který výrazně snižuje riziko systémové fototoxicity.

Cévní okluze uvnitř CNV však není u převážné většiny pacientů trvalá (Schmidt-Erfurth, 1999). Během 3 měsíců dochází u většiny pacientů vlivem fyziologických reparačních mechanismů k rekanalizaci okludovaných cév. Je proto indikováno opakování PDT. U většiny pacientů dochází poté po 2 - 3 sezeních PDT tj. za 6 - 9 měsíců ke stabilizaci nálezu s vymizením aktivity CNV.

PDT s verteporfinem je vhodnou alternativou pro pacienty s převážně klasickou CNV, kteří nemohou docházet na opakované aplikace anti VEGF léčiv, nebo u kterých byla prokázána přecitlivělost na tato léčiva, nebo u nichž je intravitreální aplikace léčiv riziková (sklerální stafylomy, periferní retinální degenerace).

Kombinovaná terapie VPMD

Vysvětlení konceptu kombinované terapie je velmi jednoduché. Použitím více terapeutických postupů působíme na různých úrovních a efekt jednotlivých typů léčby se doplňuje.

Fotodynamická terapie prohlubuje sama o sobě okluzi CNV již existující ischemii. Tato neperfúze vede ke stimulaci nadprodukce VEGF a aktivaci zánětlivé reakce (aktivace komplementu). Zvýšená koncentrace VEGF způsobí rekanalizaci CNV a aktivace komplementu poté subretinální fibrotizaci.

Z tohoto pohledu se nabízí přinejmenším několik terapeutických postupů. Kombinace PDT s intravitreální aplikací steroidů, nebo kombinace PDT s anti VEGF, nebo kombinace PDT společně se steroidy a anti VEGF.

Mechanismus účinku kombinované terapie je následující: PDT s verteporfinem ničí na podkladu trombotizace již existující neovaskularizace. Anti VEGF molekuly blokují růst nových neovaskularizací. Steroidy brání vzniku a rozvoji zánětlivé reakce.

Transpupilární termoterapie

Další léčebnou technikou, jejíž použití již v současné době není aktuální, je transpupilární termoterapie (TTT) za pomoci infračerveného laserového světla (810 nm). Tato metoda byla vyvinuta původně pro terapii chorioideálních tumorů (Journé-De Corver, 1992). Její princip tkví v tkáňové hypertermii 45°C, která vede k nekróze buněk CNV, a tím shodným mechanismem jako u PDT k trombotizaci cévní struktury CNV. Velkou zkušenost ale vyžaduje stanovení účinné dávky záření, která vede k destrukci pouze endoteliálních buněk CNV a zachová neporušenými ostatní retinální struktury. Velikost účinné dávky záření je ovlivněna mnoha faktory. Mezi nejzákladnější patří: pigmentace PE a chorioidey, přítomnost sub- a intraretinálních hemoragií, transparence optických médií, chladící potenciál chorioidey, intra- a subretinální akumulace chorioidey.

Základní komplikací, která způsobuje z dlouhodobého hlediska výrazný pokles zrakové ostrosti, je chorioretinální atrofie v místě laserové stopy. Z tohoto důvodu je TTT z pohledu současných terapeutických možností k léčbě sub a juxtafoveolárně lokalizovaných CNV nevhodná. Ke stejnému výsledku dospěla i dvojitě slepá randomizovaná klinická studie, jejíž výsledky byly publikovány (Reichel, 1999).

Klasická laserová fotokoagulace termálním laserem

Klasická laserová terapie je vyhrazena pouze pro extrafoveolárně lokalizované klasické CNV. Vzdálenost takovéto membrány od foveoly podle kritérií MPS musí být větší než 200 μm (Macular Photocoagulation Study, 1982). Takovýchto pacientů je ovšem minimum. Dle literatury (Paulekhoff, 1996) je k tomuto způsobu terapie vhodných pouze asi 6 % pacientů postižených vlhkou formou VPMD.

Chirurgická terapie VPMD

Chirurgická terapie zahrnuje přímou extrakci CNV bez nebo s makulární translokací (Eckardt, 1999; Kirchhof, 2002). Tyto techniky jsou ovšem zatíženy vysokým procentem komplikací i v rukou renomovaných vitreoretinálních chirurgů. Jejich praktické využití je proto z tohoto důvodu velmi problematické. Základními a velmi obtížně řešitelnými komplikacemi jsou především proliferativní vitreoretinopatie (PVR), recidiva CNV a atrofie PE.

Taktéž transplantace buněk PE do submakulární oblasti u pacientů s GA či po extrakci CNV nepřináší dobré výsledky. Vzniká problém reakce hostitele versus dárce (Gouras, 1985). I kultivace autologních buněk RPE není řešením, protože je velmi obtížné dosáhnout fyziologického jednovrstevného uspořádání buněk transplantovaného RPE (Crafoord, 2001).

Radioterapie u VPMD

Další terapeutickou možností, která ztratila s rozvojem PDT a anti VEGF molekul na významu, je radioterapie s použitím teleterapie (lineární urychlovač), či brachyterapie (lokální zářič).

Princip metodiky tkví opět ve velké senzitivitě endoteliálních buněk CNV na radiační poškození (Chakravarthy, 1993). Dávka radičního záření se pohybuje v rozmezí 10-15 Gy. Nevýhodou této metodiky je pomalý nástup účinku, který činí několik týdnů až měsíců (Chakravarthy, 1993). Základními komplikacemi jsou vznik komplikované katarakty, radiační retinopatie, radiační neuropatie optiku, či syndromu suchého oka. Randomizované dvojitě slepé studie, které byly provedeny a ukončeny, neprokázaly statisticky významný efekt na stabilizaci zrakové ostrosti u skupiny léčených pacientů oproti kontrolní skupině (Bergink, 1998; The Radiation Therapy for Age Related Macular Degeneration, 1999).

Závěr

VPMD představuje, jak již bylo uvedeno, nejčastější příčinu slepoty u pacientů nad 65 let věku ve vyspělých zemích. Nejvíce je přitom postižena zraková ostrost na blízko. Přitom schopnost číst novinový text je pro člověka synonymem nezávislosti a mentálního zdraví. Snahou všech terapeutických postupů, jejichž rozmach jsme v posledních 25 letech zažili, je tedy zajistit našim pacientům postiženým touto závažnou chorobou tuto schopnost na co nejdelší dobu. Pokud je však ztráta centrálního vidění neodvratná, je našim úkolem naše pacienty na tuto nepříznivou skutečnost co nejlépe připravit.

Budoucnost terapeutických postupů tkví v objevení kauzální terapie VPMD, která dovede vzniku tohoto onemocnění u rizikových pacientů zabránit. Zdá se, že pole působnosti lze najít v oblasti genové terapie v kombinaci s prevencí hlavních rizikových faktorů VPMD.

Seznam použitých zkratek

CNV - chorioideální neovaskularizace
CZO - centrální zraková ostrost
FA - flourescenční angiografie
GA - geografická atrofie
ICGA - indocyaninová angiografie
MPS - Macular Photocoagulation Study Group
LDL - low-density lipoprotein
OCT - optická koherentní tomografie
PDT - fotodynamická terapie
RPE - pigmentový epitel sítnice
PVR - proliferativní vitreoretinopatie
VEGF - vascular endotelial growth factor
TTT - transpupilární termoterapie
ÚZIS - Ústav zdravotnických informací a statistiky
VPMD - věkem podmíněná makulární degenerace

As. MUDr. Petr Kolář, Ph.D.
Oční klinika LF MU a FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno
fax 5 3223 2378, e-mail: pkolar@fnbrno.cz

Literatura

Age-Related Eye Disease Study Research Group: The AREDS Study Group. A randomised, placebo-controled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta-carotene, and zink for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no.8. (2001) Arch Ophthalmol. 2001, 119, p. 1417-1436

Avery R.L, Pieramici D.J, Rabena M.D, et al. Intravitreal bavacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. Ophthalmology. 2006a, 113, p. 363-372.

Avery R.L. Regresion of retinal and iris neovascularization after intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment. Retina. 2006b, 26, p. 252-254.

Bakri S.J, Kitzmann A.S. Retinal pigment epithelial tear after intravitreal ranibizumab. Am J Opthalmol. 2007, 143, p. 505-507.

BERGINK, GJ, HOYONG, CB, VAN DER MAAZEN, RWM et al. (1998) A randomized controlled trial on the efficacy of radiation therapy in the control of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: radiation versus observation. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 1998, 236, p. 321-325

BIRD, AC. (1974) Treatment of senile disciform macular degeneration by fotocoagulation. Br J Ophthalmol. 1974, 58, p. 367-376

Brown D. M., Kaiser P.K., Michels M., et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. N Engl J Med. 2006, 355, p. 1432-44.

CRAFOORD, S, GENG, L, SEREGARD, et al. (2001) Experimental transplantation of autologousiris pigment epithelial cells to the subretinal space. Acta Ophthalmol Scand. 2001, 79, p. 509-514

ECKARDT,C, ECKARDT, U, CONRAD, H. (1999) Macular rotation without counter-rotation of the globe in patients with age-related macular degeneration. Graefe´s Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 1999, 237, p. 313-325

Eye Disease Case-Control Study Group: Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. (1992) Arch Ophthalmol. 1992, 110, p. 104-109

Eye Disease Case-Control Study Group: Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. (1993) Arch Ophthtalmol. 1993, 111, p. 104-109

FEENEY-BURNS, L, ELLERSIECK, MR: (1985) Age-related changes in the ultrastructure of Bruch´s membrane. Am. J. Ophthalmol. 1985, 100, p. 686

Ferrara N., D´Amico L., Shams N., et al. Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen biding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. Retina. 2006, 26, p. 859-870.

FLOWER, R. W., HOCHHEIMER, B. F. (1972) Clinical infrared absoption angiography of the chorioid. Am J Ophthalmol. 1972, 458-459

Folkman J. Tumor angiogenesis: theraupetic implications. N Engl J Med. 1971, 285, p. 1182-6.

GASS, JDM. (1971) Photocoagulation of macular lesions. T. Am Acad Ophthalmol Otolaryngol. 1971, 75, p. 580-608

GOURAS, P, FLOOD, MT, KJELDBYE, H, et al. (1985) Transplantation of cultured human retinal pigment epithelium to Bruch´s membrane of the owl monkey´s eye. Curr Eye Res. 1985, 4, p. 253-265

Gragoudas E.S, Adami A.P, Cunningham E.T, et al. VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascular Clinical Trial Group. Pegaptanib for neovascular age-related macula degeneration. N Engl J Med. 2004, 351, p. 2805-16.

HANDELMAN, G. J., DRATZ, E. A., REAY, C. C., et al. (1988) Carotenoids in the human macula and whole retina. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1988, 29, 850-855

HEIBA, IM, ELSTON, RC, KLEIN, BEK, KLEIN, R. (1994) Sibling Correlations and segregation analysis of age-related maculopathy: the Beaver Eye Dam Study. Genet Epidemiol. 1994, 11, p. 51-67

Heier J. S., Antoszyk A. N., Pavan P.R., et al. Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: A phase I/II multicenter controlled, multidose study. Ophthalmology. 2006, 113, p. 633-42.

HOLZ, FG, MILLER, D. (2003) Pharmakologische Therapie der altersabhaengigen Makuladegeneration. Ophthalmologe. 2003, 100, p. 97-103

HOLZ, FG, PAULEIKHOFF, D, SPAIDE, RF, BIRD, AC. (2004) Age-related macular degeneration. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 2004

HYMAN, J, LILIENFELD, AM, FERRIS, FL, et al. (1983) Senile macular degeneration: a case-control study. Am J Ophthalmol. 1983, 118, p. 213-227

CHAKRAVARTHY, U, HOUSTON, RF, ARCHER, DB. (1993) Treatment of age-related subfoveal neovascular membranes by teletherapy: a pilot study. Br J Ophthalmol. 1993, 77, p. 265-273

CHO, E. (2000) Prospective study of alcohol consumption and the risk of age- related macular degeneration. An. Epidemiol. 2000, 118, p. 681-688

ISHIDA, S., USUI, T.,YAMASHIRO, K., et al. (2003) VEGF 164-mediated inflammation is required for pathological, but not physiological, ischemia-reduced retinal neovascularization. J Exp Med. 2003, 198, p. 483-489

JOURNEÉ-DE KORVER, JG, OSTERHUIS, JA, KAKEBEEKE-KEMME, HM, et al. (1992) Transpupillary thermotherapy (TTT) by infrared irradiation of choroidal melanoma. Doc Ophthalmol. 1992, 82, p. 185-191

KIRCHHOF, B. Macular translocation. Improved prognosis for age-related macular degeneration. Ophthalmologe. 2002, 99, p. 143

KLEIN, R, KLEIN, BEK, LINTON, KLP. (1992) Prevalence of age-related maculopathy: the Beaver Eye Dam Study. Ophthalmology, 1992, 99, p. 933-944

Klein, R., Klein, B. E. K., Wang, Q., et al. (1994) Is age-related maculopathy associated with cataracts? Arch Ophthalmol. 1994, 112, p. 191-196.

Klein, R., Klein, BEK., Jenson, SC, et al. (1996) The 5- year incidence of age-related maculopathy in Beaver Dam Eye Study. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1996, 37, p. 412.

LUCENTIS. Horseham, West Sussex: Novartis, 2007 (package insert)

Macular Photocoagulation Study Group. Argon laser photocoagulation for senile macular degeneration. Results of a randomised clinical trial. Arch Ophthalmol. 1982, 100, p. 912-918

MARSHALL, J. (1987) The aging retina: physiology and pathophysiology. Eye. 1987, 1, p. 287-295

Michell, P., Smith,W., Attebo, K., et al. (1995) Prevalence of age related maculopathy in Australia: The Blue Mountains Eye Study. Ophthalmology. 1995, 102, p. 1450-1460

MOORE, DJ, HUSSAIN, AA, MARSHALL, J. (1995) Age-related variation in the hydraulic conductivity of Bruch´s membrane. Inves. Ophthalmo. Vi. Sci., 1995, 36, p. 1290-1297

MORDENTI, J., CUTHBERTSON, R. A., FERARA, N., et al. (1999) Comparison of the intraocular tissue distribution, pharmacokinetics, and safety of 125I-labeled full-length and Fab antibodies in rhesus monkeys following intravitreal administration. Toxicol Pathol. 1999, 27, p. 536-544

NOVOTNY, HR, ALVIS, DL. (1961) A method of fotographing fluorescenc in circulating blood in the human retina. Circulation. 1961, 24, p. 82-86

PAULEIKHOFF, D, KNEBEL, C, PEUSER, M, et al. (1996) Die fluoreszenzangiographische Differenzierug der altersabhaengigen Makuladegeneration: Studie zur Haeufigkeit koagulativ behandelbarer Laesionen. Klin Mbl Augenheilk. 1996, 209, p. 309-314

PAULEIKHOFF, D, VAN KUIJK, FJ, BIRD, AC. (2001) Makularpigment und altersabhaengige Makulardegeneration. Ophthalmologe. 2001, 98, p. 511-519

Pollac, A., Marcovich, A.: Buckelman, A., et al. (1996) Age-related macular degeneration after extracapsular cataract extraction with intraocular lens implantation. Ophthalmology. 1996, 103, p. 1546-1554.

PRESTA, l. G., CHECN, H., O´CONNOR, S. J. (1997) Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. Cancer Res. 1997, 57, 4593-4599

REICHEL, E., BERROAL, A.,M., KROLL, A.,J., et al. Transpupillary thermotherapy of occult subfoveal choroidal neovascularization in patients with age-related macular degeneration. Opthalmology. 1999, 106, p. 1908-1914.

RICHTER, AM, KELLY, B, CHOW, J et al. (1987) Preliminary studies on a more effective phototoxic agent than hematoporphyrin. J Nat Cancer Inst. 1987, 79, p. 1327-1332

Rosenfeld P.J, Moshfeghi A.A, PuliafitoC.A. et al.Optical coherence tomography finding after injection of bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. Opthalmic Surg Lasers Imaging. 2005, 36, p. 331-335.

Rosenfeld P.J., Brown D. M., Heier J. S., et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. N Engl J Med. 2006, 355, p. 1419-1431.

SARKS, J. P., SARKS, S. H., KILLINGWORTH, M. (1988) Evolution of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. Eye. 1988, 2, p. 552-577

SEDDON, J. M., AJANI, U. A., SPERDUTO, R. D., et al. (1994) Dietary carotenoids, vitamin A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. Jama. 1994, 272, p. 1413-1420

SCHMIDT-ERFURTH, U, MILLER, JW, SICKENBERG, M, et al. (1999) Photodynamic therapy with verteporfin for chorioideal neovascularization caused by age-related macular degeneration: results of retreatments in a phase 1 and 2 study. Arch Ophthalmol. 1999, 117, p. 1177-1187

Spaide R.F, Fischer Y.L. Intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment of diabetic retinopathy complicated by vitreous hemorrhagie. Retina. 2006a, 26, p. 275-278.

Spaide R.F, Laud K, FineH.F, et al. Intravitreal becizumab (Avastin) treatment of macular oedema in central vein occlusion:a short-term study. Retina. 2006b, 26, p. 279-284.

Spaide R.F, Laud F, Fine H.F, et al. Intravitreal bevacizumab treatment of choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. Retina. 2006c, 26, p. 383-390.

Spaide R.F. New treatment for AMD. Opthalmology. 2006d, 113, p. 160-161.

SPILSBURY, K, GARRETT, KL, SHEN, WY et al. (20000) Overexpression of vascular endotelial growth factor (VEGF) in the retinal pigment epithelium leads to the development of choroidal neovascularization. Am J Pathol. 2000, 157, p. 135-144

TAYLOR, HR. (1990) Visible light and risk of age-related macular degeneration. Trans. Am. Ophthalmol. Soc. 1990, 88, p. 163-173

The Radiation Therapy for Age-related Macular Degeneration (RAD) Study Group: A prospective randomized double-masked trial on radiation therapy on neovascular age-related macular degeneration (RAD study). Ophthalmology. 1999, 106, p. 2239-2247

VINTERLING, JR, DIELEMANS, I, HOFAMAN, A, et al. (1995) The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. Ophthalmology. 1995, 102, p. 205-210

WOLFE, D. R. (1986) Fluorescein angiography: basic science and engineering. Ophthalmology. 1986, 93, 1617-1620

Příloha 6

Ranibizumab (Lucentis) – nový lék k léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace

MUDr. Petr Kolář, Ph.D.

Ranibizumab (Lucentis®, Novartis) je rekombinantní humanizovaný fragment monoklonární protilátky proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru. Je podáván formou nitrooční injekce do prostoru sklivce. Jeho aplikace je indikována v léčbě vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace. Je produkován v buňkách *Escherichia* coli pomocí rekombinantní DNA technologie.
Klíčová slova: ranibizumab, věkem podmíněná makulární degenerace, vaskulární endoteliální růstový faktor, nitrooční injekce do prostoru sklivce.

RANIBIZUMAB (LUCENTIS) – A NEW AGENT TO TREAT THE WET FORM OF AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION
Ranibizumab (Lucentis®, Novartis) is a recombinant humanized fragment of a monoclonal antibody against vascular endothelial growth factor. It is administered by intraocular injection into the vitreous humour. It is indicated for treatment of the wet form of age-related macular degeneration. It is produced in Escherichia coli cells using recombinant DNA technology.
Key words: ranibizumab, age-related macular degeneration, vascular endothelial growth factor, intraocular injection into vitreous humour.

Úvod

Věkem podmíněná makulární degenerace (VPMD) je nejčastější příčinou oslepnutí pacientů ve věkové kategorii nad 65 let (6, 8, 10, 13).

Onemocnění se vyskytuje ve dvou formách: suché a vlhké.

Suchá forma VPMD postihuje 80–90 % pacientů z celkového počtu pacientů postižených VPMD. Je příznivější, protože se horší velmi pozvolna (roky). Vlhká forma VPMD postihuje zbylých 10–20 % pacientů. Co do průběhu je daleko závažnější. Pokud není léčena, vede velmi rychle k oslepnutí. Zraková ostrost klesá během krátké doby (dny, týdny) na rozdíl od suché formy (8).

Klíčovou roli v patofyziologii VPMD hraje vaskulární endoteliální růstový faktor (vascular endothelial growth factor – VEGF), který je produkován zejména buňkami retinálního pigmentového epitelu sítnice (RPE) (obrázek 1). U suché formy pozorujeme jeho nedostatek a cévy se proto neobnovují a vzniká atrofie sítnice v makulární oblasti. U vlhké formy se jeho produkce zvyšuje a dochází ke vzniku patologického zmnožení cév cévnatky (chorioideální neovaskularizace – CNV) (2, 4, 7, 8).

A zde ranibizumab blokuje patologicky zvýšenou koncentraci VEGF a zabraňuje tím progresi onemocnění, která by jinak vedla ke slepotě (7, 12).

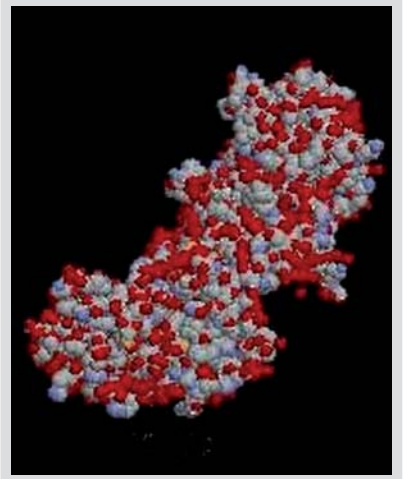
Vývoj ranibizumabu

Původní práce, které se zabývaly protilátkami proti VEGF-A, prokazovaly, že protilátka o plné velikosti neprochází retinálními vrstvami (11). Proto byla molekula celé protilátky (bevacizumab – Avastin) zmenšena pouze na aktivní fragment (Fab – fragment antibody), který má pouze třetinovou molekulární hmotnost a bezpečně prochází všemi vrstvami sítnice (3, 11).

Fragment protilátky (ranibizumab) má 100× rychlejší systémovou eliminaci než kompletní protilátka. Jinými slovy je bezpečnější, protože v systémovém oběhu koluje daleko kratší dobu (3, 5).

Fragment protilátky (ranibizumab) má také daleko menší antigenní aktivitu než celá molekula protilátky, která obsahuje struktury aktivující komplement a buňkami indukovanou cytotoxickou reakci (3).

Obrázek 1. Molekula VEGF



Molekula ranibizumabu má 5–20× vyšší vazebnou schopnost k molekule VEGF-A než kompletní molekula protilátky (bevacizumab – Avastin) (3). V tom je další nesporná výhoda ranibizumabu proti bevacizumabu. Molekuly ranibizumabu se daleko lépe a silněji váží na VEGF-A než bevacizumab, a tudíž se jich dostává menší množství do systémové cirkulace (3).

Farmakologické vlastnosti

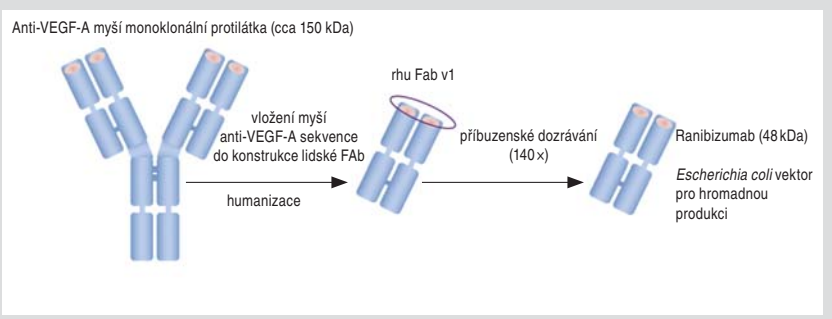
Ranibizumab je plně humanizovaná monoklonární protilátka, která váže všechny izoformy VEGF-A (VEGF 165, 121, 110, 189, 206) (7).

Ranibizumab byl vyvinut z myší monoklonární protilátky proti VEGF-A tak, že byla vyjmuta genová sekvence molekuly, která váže VEGF-A a byla umístěna do bakterie *E. coli*. Tímto procesem byla odstraněna část myší protilátky, která vyvolává antigenní aktivitu v lidském organizmu. Tak se omezila potenciální imunogenita a byla zmenšena velikost molekuly, která umožňuje lepší penetraci všemi vrstvami sítnice (obrázek 2) (9).

Molekula ranibizumabu se skládá ze 2 částí: nevazebné humánní sekvence, která zabezpečuje nízkou antigenitu molekuly, a vysoce afinitní myší části, která se váže na molekulu VEGF. Vazba molekuly ranibizumabu na molekulu VEGF zabraňuje její navázání na VEGF receptor 1 a 2 (3, 5).

V průběhu měsíční aplikace ranibizumabu pacientům s vlhkou formou VPMD je jeho sérová koncentace velmi nízká, obecně pod hladinou sérové koncentrace, která inhibuje biologickou aktivitu VEGF o 50 % (11–27 ng/ml).

Obrázek 2. Vznik molekuly ranibizumabu



Na základě populačních farmakokinetických údajů s pomocí výpočtů podložených vymizením ranibizumabu ze séra pacientů léčených 0,5 mg je biologický poločas ranibizumabu v prostoru sklivce asi 10 dnů. Po měsíční intravitreální aplikaci 0,5 mg ranibizumabu je maximální sérová koncentrace 1 den po aplikaci (Cmax) v rozmezí mezi 0,79–2,90 ng/ml a minimální sérová koncentrace (Cmin) v rozmezí 0,07–0,49 ng/ml. Předpokládaná sérová koncentrace je tedy 90 000× menší než koncentrace ranibizumabu v prostoru sklivce (7, 9).

Bezpečnost a snášenlivost

Použití ranibizumabu je kontraindikováno u hypersenzitivity na jakoukoliv složku přípravku. Dále je podání kontraindikováno u pacientů se známkami zánětu v oblasti oka nebo periokulární krajiny (7, 9).

Nitrooční aplikace léků je spojena s rizikem vzniku infekční endoftalmitidy. Pro minimalizaci těchto nežádoucích účinků musí být striktně dodržena zásada asepse. Pacient je intenzivně sledován během 1 týdne od aplikace. Je poučen o symptomech endoftalmitidy a o tom, že při jejich výskytu musí okamžitě vyhledat odbornou lékařskou pomoc.

Dalšími možnými komplikacemi jsou nitrooční zánět, rhegmatogenní odchlípení sítnice a traumatická katarakta. Tyto komplikace společně s infekční endoftalmitidou se ale vyskytují výjimečně (7, 9).

Vzestup nitroočního tlaku se pozoruje v období prvních 60 minut od nitrooční aplikace, proto musí být nitrooční tlak a perfuze zrakového nervu v tomto období pečlivě sledovány. Nitrooční tlak se většinou do 60 minut od aplikace normalizuje. Přesto se jeho hodnota po 30 minutách od aplikace kontroluje. Pokud je jeho hodnota vyšší než 30 mmHg, aplikují se lokální antiglaukomatika (9).

Bezpečnost léčby aplikované do obou očí současně nebyla studována. Existuje předpoklad zvýšení rizika systémové expozice, která může vést ke zvýšení rizika systémových nežádoucích účinků.

Opakovaná nitrooční aplikace nemůže být uskutečněna pokud:

- dojde od poslední aplikace ke snížení zrakové ostrosti o více než 30 písmen ETDRS optotypu,
- pokud je nitrooční tlak vyšší než 30 mmHg,
- pokud je diagnostikována díra sítnice,
- pokud je přítomna subretinální hemoragie zasahující centrum fovey o velikosti větší než 50 % celkové plochy léze,
- pokud bylo provedeno, nebo je plánováno provedení nitroočního chirurgického zákroku v předešlých, nebo následujících 28 dnech.

Léčba by měla být ukončena u subjektů s rhegmatogenním odchlípením sítnice nebo u makulárních děr 3. a 4. stadia (9).

Omezení u speciálních skupin pacientů

Těhotenství a laktace – nejsou data o použití ranibizumabu u těhotných žen. Vzhledem k jeho možné systémové resorpci po nitrooční aplikaci a jeho mechanizmu účinku, musí být ranibizumab považován za potenciální teratogen, a proto by neměl být v průběhu těhotenství a laktace aplikován (9).

Porucha jaterních funkcí – ranibizumab nebyl studován u pacientů s poruchou jaterních funkcí, přesto nejsou nutná speciální opatření u této skupiny pacientů.

Porucha ledvinných funkcí – snížení dávky není u těchto pacientů nutné (viz výše – farmakologické vlastnosti).

Děti a dospívající – ranibizumab není doporučen k použití u dětí a dospívajících pro chybění dat o bezpečnosti a efektivitě u této subpopulace.

Stáří – ve stáří není nutná redukce dávky ranibizumabu.

Rasa – zkušenosti s léčbou u jiné rasy než bílé jsou limitovány (9).

Klinické studie

Klinická efektivita a bezpečnost ranibizumabu byla sledována ve 3 randomizovaných, dvojitě slepých, placebem kontrolovaných studiích na 1 323 pacientech (879 aktivní léčba, 444 kontrola).

Ve studii MARINA byli léčeni pacienti s minimálně klasickou, nebo okultní chorioideální neovaskularizací (CNV) měsíční intravitreální aplikací 0,3 mg a 0,5 mg ranibizumabu, či placebem. Celkově bylo zahrnuto 716 pacientů (ranibizumab 0,3 mg 238, ranibizumab 0,5 mg 240, placebo 238). K dispozici jsou data za 24 měsíců (7, 9, 12).

Ve studii ANCHOR byli zahrnuti pacienti s predominantně klasickou CNV. Subjekty byly rozděleny do 3 ramen. V prvním bylo aplikováno 0,3 mg ranibizumabu měsíčně společně s předstíranou fotodynamickou terapií (PDT), ve druhém 0,5 mg ranibizumabu měsíčně s předstíranou PDT a ve třetím předstíraná aplikace ranibizumabu společně s klasickou PDT s verteporfinem. Předstíraná PDT, nebo PDT s verteporfinem byla prováděna na začátku studie a dále poté, pokud provedená fluorescenční angiografie (FA) prokázala přetrvávající, nebo recidivující cévní průsak. Do studie ANCHOR bylo zařazeno celkem 423 pacientů (PDT s verteporfinem 143, ranibizumab 0,3 mg 140 a ranibizumab 0,5 mg 140). Publikována jsou data za 12 měsíců (1, 7, 9). Pro vysvětlení: PDT je dvoufázovým procesem, který je používán například v dermatologii k léčbě kožních nádorů a dále v oftalmologii k léčbě vlhké formy VPMD. Při jeho použití v oftalmologii je v první fázi intravenózně aplikován verteporfin (Visudyne, Novartis), což je porfyrin, tj. fotosenzibilizující látka. Ve druhé fázi následuje aktivace verteporfinu laserovým světlem vlnové délky 689 nm. Aktivované molekuly verteporfinu způsobí poškození endoteliálních buněk neovaskulárních cév s jejich následnou trombózou.

Primárním cílem obou studií bylo zjištění počtu subjektů, které ztratí ve 12. měsíci méně než 15 písmen ETDRS v porovnání s počátkem studie. Téměř všichni pacienti léčení ranibizumabem (95 %) dosáhli tohoto cíle. 34–40 % pacientů léčených ranibizumabem dosáhlo klinicky signifikantního zlepšení vizu, které bylo definováno ziskem více než 15 písmen ETDRS optotypu ve 12 měsíci v porovnání s počátkem studií. Důležitým faktem je, že velikost léze neovlivnila výslednou zrakovou ostrost. Také pacienti s nízkou vstupní zrakovou ostrostí (méně než 20/200) profitova-

li z léčby ranibizumabem. Léze neovaskulární VPMD charakteru subretinální fibrózy a geografické atrofie, které postihují centrum fovey zpravidla neodpovídaly na léčbu ranibizumabem. Pacienti léčení ranibizumabem vykazovali v průběhu sledování minimální růst CNV, který ve 12. měsíci činil 0,1–0,3 DA (disc area), zatímco v kontrolní skupině to bylo 2,3–2,6 DA (1, 7, 9, 12). Graficky jsou výsledky obou studií znázorněny na obrázku 3.

Další studií, která sledovala efektivitu ranibizumabu, byla studie PIER. Jedná se dvojitě slepou, randomizovanou, placebem kontrolovanou studii, která sledovala účinnost ranibizumabu v alternativním dávkování. Do studie bylo zařazeno 79 % subjektů s minimálně klasickou, nebo okultní CNV a 21 % subjektů s převážně klasickou CNV. Jsou k dispozici 12 měsíční data. Léčebné schéma bylo následující: subjekty zařazené do studie byly léčeny 0,3 a 0,5 mg ranibizumabu nebo placebem 3. dávkami v intervalu jednoho měsíce následovaných dávkou ranibizumabu aplikovanou každé 3 měsíce. Celkem bylo zařazeno 184 subjektů (ranibizumab 0,3 mg 60, ranibizumab 0,5 mg 61, placebo 63). 93 % subjektů dokončilo první rok studie. Všechny subjekty obdržely během prvního roku studie 6 aplikací ranibizumabu z 6 možných (7, 9).

Primárním cílem studie PIER bylo stanovení průměrné změny zrakové ostrosti ve 12. měsíci. Po počátečním vzestupu zrakové ostrosti v průběhu měsíčního dávkování ztrácely subjekty zrakovou ostrost během následného 3 měsíčního dávkování. Zraková ostrost se ale navrátila k počáteční hodnotě ve 12 měsíci. Většina pacientů ve studii PIER (90 %) si zachovala zrakovou ostrost ve 12. měsíci (7, 9). Graficky jsou výsledky studie PIER znázorněny na obrázek 4.

Dávkování a způsob podání

Ranibizumab je aplikován kvalifikovaným oftalmologem formou nitrooční (intravireální) injekce. Doporučená dávka je 0,5 mg (0,05 ml) (7, 9).

Léčba ranibizumabem je zahájena v iniciální fázi 1 injekcí měsíčně ve 3 po sobě následujících měsících. Tato fáze je následována udržovací fází, během níž jsou pacienti sledováni v měsíčním intervalu a intravitreální aplikace ranibizumabu je prováděna 1 × za 3 měsíce. Poklesne-li pacientovi zraková ostrost o více než 5 písmen ETDRS optotypu (ekvivalent 1 Snellenova řádku), je aplikace ranibizumabu opět indikována. Interval mezi 2 dávkami nesmí být kratší než 1 měsíc (7, 9).

Tři dny před a 3 dny po intravitreální aplikaci ranibizumabu pacient kape do spojivkového vaku antibiotické oční kapky (4 × denně) (7, 9).

Nitrooční aplikace probíhá za aseptických podmínek s použitím chirurgické dezinfekce rukou, sterilních rukavic, sterilní roušky a fólie, sterilního rozvěrače s dostupností provedení sterilní paracentézy, pokud je třeba. Kůže očních víček a periokulární krajiny je dezinfikována a je použito lokální anestetikum (7, 9).

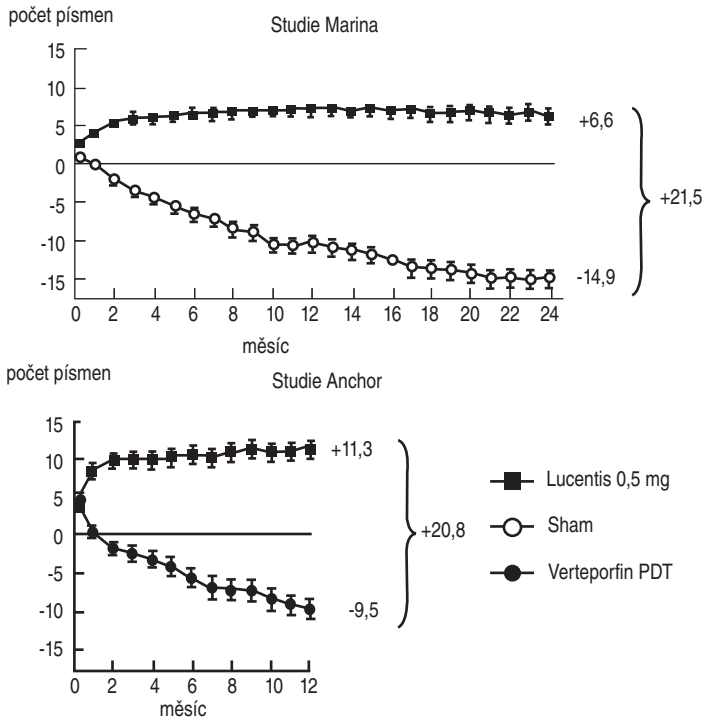
Ranibizumab je natažen přes filtrační jehlu do 1 ml aplikační stříkačky. Filtrovací jehla (18 G) je nahrazena jehlou pro nitrooční aplikaci (30 G). Obsah stříkačky je zmenšen na 0,05 ml. Místo vpichu je lokalizováno ve vzdálenosti 3,5–4,0 mm od okraje limbu. Injekce přitom směřuje do centra oka. Při opakovaných aplikacích jsou požívána různá místa s cílem vyhnout se opakované aplikace do stejného prostoru (7, 9).

Kontraindikace opakování léčby viz odstavec „Bezpečnost a snášenlivost“.

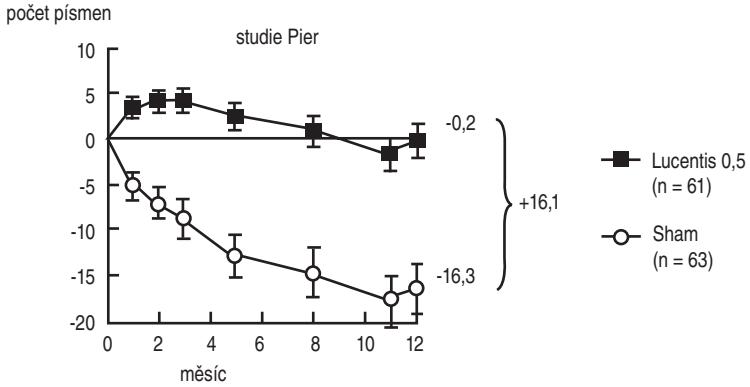
Nežádoucí účinky

Okulární nežádoucí účinky zahrnují spojivkové krvácení, oční bolest, vznik sklivcových zákalků, zvýšení nitroočního tlaku, odloučení zadní plochy sklivce, nitrooční zánět, kataraktu.

Obrázek 3. Grafické znázornění výsledků studie MARINA a ANCHOR



Obrázek 4. Grafické znázornění výsledků studie PIER



Vzácně se vyskytujícími komplikacemi jsou nitrooční zánět, sklivcové krvácení rhegmatogenní amoce, retinální díra, endoftalmitida (7, 9).

Celkové nežádoucí účinky nejsou časté a zahrnují bolesti hlavy, poruchy srdečního rytmu, kašel, nauzeu, bolesti zad, anemii, zvýšení krevního tlaku (7, 9).

Arteriální trombembolické příhody zahrnující náhlou srdeční smrt, infarkt myokardu, ischemickou cévní mozkovou příhodu a hemoragickou cévní mozkovou příhodu, jsou relativně časté u systémově podávaných antagonistů VEGF. Jednoletá data z klinických studií ANCHOR, MARINA a PIER prokazují celkově vyšší incidenci arteriálních trombembolických příhod u subjektů léčených 0,5 mg ranibizumabu (2,5 %) ve srovnání s kontrolní skupinou (1,1 %). Ale výsledky z 2. roku studie MARINA u pacientů léčených 0,5 mg ranibizumabu prokazují stejné riziko vzniku arteriální trombembolické příhody (2,6 %) ve srovnání s kontrolní skupinou (3,2 %) (1, 7, 9, 12).

Závěr

Ranibizumab je nově dostupný lék určený k terapii vlhké formy VPMD. Představuje první humanizovanou protilátku proti vaskulárnímu růstovému faktoru VEGF.

Ranibizumab je první produkt v léčbě vlhké formy VPMD, který dává pacientům šanci zachovat, nebo dokonce zlepšit vidění, což bylo přesvědčivě prokázáno provedenými klinickými studiemi. Ranibizumab je při intravitreální aplikaci dobře tolerován a lokální a systémové nežádoucí účinky jsou vzácné.

MUDr. Petr Kolář, Ph.D.
Oční klinika LF MU a FN
Jihlavská 20, 625 00 Brno
e-mail: pkolar@fnbrno.cz

Literatura

1. Brown DM, Kaiser PK, Michels M, et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. N Engl J Med 2006; 355: 1432–1444.
2. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. Endocr rev 1997; 18(1): 4–25.
3. Ferrara N, Damico L, Shams N, et al. Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen biding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. Retina 2006; 26(8): 859–870.
4. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. J Biol Chem 1992; 267(16): 10931–10934.
5. Heier JS, Antoszyk AN, Pavan PR, et al. Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: A phase I/II multicenter controlled, multidose study. Ophthalmology 2006; 113(4): 633–642.
6. Klein R, Klein BE, Marino EK, et al. Early age-related maculopathy in the Cardiovascular Health Study. Ophthalmology 2003; 110: 25–33.
7. Kolář P. Anti-VEGF terapie. In: Kolář P. a kol. Věkem podmíněná makulární degenerace. Praha: Grada 2008; 105–115.
8. Kolář P. Klasifikace a klinický obraz VPMD. In: Kolář P. a kol. Věkem podmíněná makulární degenerace. Praha: Grada 2008; 59–74.
9. Kolář, P. Ranibizumab. Farmakoterapie 2007; 5: 431–434.
10. Kolář P. Věkem podmíněná makulární degenerace. Čas Lék čes 2005; 244: 516–520.
11. Mordenti J, Cuthbertson RA, Ferrara N, et al. Comparison of the intraocular tissue distribution, pharmacokinetics, and safety of 125I-labeled full-length and Fab antibodies in rhesus monkeys following intravitreal administration. Toxicol Pathol. 1999; 27: 536–544.
12. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. N Engl J Med 2006; 355: 1419–1431.
13. Sosna T. Epidemiologie a rizikové faktory VPMD. In: Kolář P. a kol. Věkem podmíněná makulární degenerace. Praha: Grada 2008; 51–58.

MEDICAMENTA NOVA

Fragment monoklonální protilátky ***ranibizumab*** (přípravek Lucentis™) byl v USA uveden do praxe firmou Genentech v červnu 2006. Počátky jeho vývoje však lze datovat již rokem 1989. Ve výše uvedeném článku MUDr. P. Koláře je zmíněno další biologické léčivo ***bevacizumab*** (Avastin™, opět Genentech), který byl odvozen ze skupiny původně asi 100 sloučenin, které jsou od r. 2005 ve vývoji protinádorových léčiv.

Počet nově zaváděných ***biologických léčiv*** (biofarmaceutik) každým rokem vzrůstá, rozšiřuje se výrazně i spektrum jejich aplikace. Například v roce 2007 byla z 30 nově zavedených léčiv třetina charakteru právě bioléčiv. O jejich klasifikaci či například tvorbě názvů může zájemce získat základní informaci v článku: Beneš L. Biofarmaceutika (Bioléčiva). Chem. Listy 2007; 101: 18–24. http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2007_01_18–24.pdf.

doc. PharmDr. Martin Doležal, CSc.
FaF UK v Hradci Králové
Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
e-mail: martin.dolezal@faf.cuni.cz

Příloha 7

Eye (2010) 24, 793–798
© 2010 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 0950-222X/10 $32.00
www.nature.com/eye

CLINICAL STUDY

Intravitreal pegaptanib sodium for choroidal neovascularisation secondary to age-related macular degeneration: Pan-European experience

S Sivaprasad[1], P Hykin[1], A Saeed[2], S Beatty[2], S Grisanti[3], G Staurenghi[4], JL Olea[5], A Campos[6], A Barbosa[7], L Rito[7], R Silva[8], R Faria[9], B Eldem[10], S Kadayıfçılar[10], P Kolar[11], N Feucht[12] and L Maestroni[13]

[1]Medical Retina Department, Moorfields Eye Hospital, London, UK

[2]Ophthalmology Department, Waterford Regional Hospital, Waterford, Ireland

[3]Center of Ophthalmology, Department of Vitreoretinal Surgery, Eberhard-Karls University Tübingen, Tübingen, Germany

[4]Eye Clinic, Department of Clinical Science 'Luigi Sacco', Sacco Hospital, University of Milan, Milan, Italy

[5]Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca, Spain

[6]Department of Ophthalmology, Hospital de Leiria, Leiria, Portugal

[7]Department of Ophthalmology, Centro Hospitalar de Coimbra, Coimbra, Portugal

[8]Department of Ophthalmology, Hospital da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

[9]Hospital de Viseu, Viseu, Portugal

[10]Department of Ophthalmology, Hacettepe Universitesi Sihhiye, Ankara, Turkey

[11]Eye Clinic of University Hospital Brno, Masaryk University Brno, Brno, Czech Republic

[12]Augenklinik rechts der Isar, Technical University of Munich, Munich, Germany

[13]Clinica Oculistica, Policlinico di Monza, Milan, Italy

Correspondence:
S Sivaprasad, Laser and Retinal Research Unit, King's College Hospital, Denmark Hill, London, SE5 9RS, UK
Tel: +0203 299 4548;
Fax: +0203 299 3738.
E-mail: Senswathi@aol.com

Received: 12 March 2009
Accepted in revised form: 20 August 2009;
Published online: 25 September 2009

Abstract

Purpose **To evaluate visual outcomes in patients with neovascular age-related macular degeneration (NV-AMD) who were treated with pegaptanib sodium in European clinical ophthalmology practices.**

Methods **Thirteen centres in eight European countries participated in this retrospective study. Medical records for patients with any angiographic subtype of subfoveal choroidal neovascularisation secondary to NV-AMD with visual acuities (study eye) of 20/40–20/320 treated with 0.3 mg pegaptanib as first-line treatment and with at least 24 weeks of follow-up were identified. Anonymised data reflecting at least 24 and up to 54 weeks of follow-up were recorded. Primary end points were visual acuity outcomes at weeks 24 and 54 compared with those reported at week 54 in the vascular endothelial growth factor (VEGF) Inhibition Study in Ocular Neovascularisation (VISION) trial.**

Results **In all, 253 patients were followed for at least 24 weeks; 62 patients completed 54 weeks of follow-up. A mean of 4.4 (SD, 1.8) pegaptanib injections were administered through 24 weeks. Compared with the VISION trial, the European experience showed that >90% of patients in the current cohort lost <15 letters from baseline at both time points compared with 70% in the VISION trial at 54 weeks. Pegaptanib was well tolerated with no reported cases of endophthalmitis, traumatic cataract, or iatrogenic retinal detachment.**

Conclusions **Pegaptanib was found to stabilise vision in a greater percentage of patients and produced greater overall visual improvement in this group of treatment-naive patients with NV-AMD compared with outcomes reported in the VISION trial; however, interpretation of these results should be tempered given the differences in design between this retrospective study and the prospective controlled trial.**

Eye (2010) **24,** 793–798; doi:10.1038/eye.2009.232; published online 25 September 2009

Keywords: choroidal neovascularisation; macular degeneration; pegaptanib

Introduction

Age-related macular degeneration (AMD) is the leading cause of vision loss in the Western world, with ~90% of severe vision loss attributable to the neovascular form.[1] Until recently, treatment options for neovascular AMD (NV-AMD) were limited to thermal laser photocoagulation and photodynamic therapy (PDT) with verteporfin (Visudyne, Novartis International AG, Basel, Switzerland).[2] In observational studies with PDT, visual outcomes were similar to those obtained in randomised clinical trials despite the use of fewer treatments.[3]

An improved understanding of the role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the pathogenesis of choroidal neovascular membranes (CNV) has led to the use of

intravitreally administered anti-VEGF antibodies (ranibizumab and bevacizumab) and an aptamer (pegaptanib sodium) in the treatment of these lesions.[4–7] These new therapies have surpassed previous treatments in both efficacy and safety and are now the standard of care for NV-AMD.

The phase III VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularisation (VISION) trial[8] showed the safety and efficacy of six weekly pegaptanib injections (Macugen, Pfizer Inc., New York, NY, USA), a selective $VEGF_{165}$ inhibitor, in eyes with NV-AMD. In this randomised, sham-controlled trial, vision was stabilised (defined as a loss of <15 letters on an Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) logMAR chart) in 70% of eyes (treatment responders) and improved (defined as a gain of $\geqslant 15$ letters) in 6% of eyes with the 0.3-mg dose of pegaptanib at the end of 12 months. The European Medicines Agency[9] approved the use of pegaptanib in 2006. Subsequently, many retinal specialists have treated patients with NV-AMD with this new agent. The aim of this retrospective study was to evaluate visual outcomes in patients with NV-AMD who were treated with pegaptanib in clinical ophthalmology practices in Europe and to compare results with those found in the phase III pivotal pegaptanib trial.[8]

Materials and methods

In all, 13 centres in eight European countries (Czech Republic, Germany, Ireland, Italy, Portugal, Spain, Turkey, and the United Kingdom) participated in the study. Medical records for consecutive patients with any angiographic subtype of subfoveal CNV secondary to NV-AMD with best-corrected visual acuities in the study eye of 20/40–20/320 who received 0.3 mg pegaptanib as first-line treatment and who had at least 24 weeks of follow-up were identified. Included patients were examined every 6 weeks and received 0.3 mg of intravitreal pegaptanib at the clinician's discretion. A combination of visual acuity, optical coherence tomography, and fundus fluorescein angiography was used to assess CNV activity and the need for retreatment. Patients were excluded if they were treated for NV-AMD with any agent other than pegaptanib before or during the study period.

Anonymised data reflecting at least 24 and up to 54 weeks of follow-up were recorded on Excel spread sheets. Data elements were type of membrane, lesion size, visual acuity at baseline and at 6-week intervals until final follow-up, and ocular or systemic side effects. Snellen visual acuity data were converted to equivalent letter scores from a standard 2-m ETDRS chart.

The primary end points were visual acuity outcomes at weeks 24 and 54 in patients remaining on therapy after 24 weeks compared with those reported at week 54 in the VISION trial,[8] in particular, with regard to stabilisation of vision (loss of $\leqslant 15$ letters) in at least 70% of patients and vision improvement (gain of $\geqslant 15$ letters) in at least 6% of patients. Missing visual acuity data were imputed using the last observation carried forward method; baseline data were not carried forward, and data were carried forward only for one post-baseline visit.

Results

Baseline patient characteristics

Experience with pegaptanib from 1 July 2006 to 31 December 2007 was summarised. In all, 253 patients were followed for at least 24 weeks, and 62 patients completed 54 weeks of follow-up. Table 1 summarises baseline visual acuity across lesion subtypes. Numbers of patients with documented lesion size (according to greatest linear diameter) varied across time points. At 24 weeks, lesion size was documented for 208 patients: 74, $<2500\,\mu$m; 77, 2500–4500 μm; and 57, $>4500\,\mu$m. At week 54, lesion size was documented for 62 patients: 16, $<2500\,\mu$m; 32, 2500–4500 μm; and 14, $>4500\,\mu$m.

Pegaptanib administration

Although the timing and frequency of pegaptanib injections were at the clinician's discretion, it is notable that the first three injections were administered at 6-week intervals in all but five patients. Across the centres, a mean of 4.4 (SD, 1.8) pegaptanib injections were administered through 24 weeks. An average of 4.8 (SD, 1.9) injections were given through week 54 (range, 2–9); four patients had seven or more injections and forty had five or fewer. Mean number of injections did not vary substantially across lesion subtypes (Figure 1a and b).

Table 1 Baseline visual acuity by lesion subtype (ETDRS letters)

Visual acuity	*Minimally classic*, n = *36*	*Occult with no classic*, n = *178*	*Predominantly classic*, n = *39*	*Total*, n = *253*
Mean (SD)	44.1 (18)	47.8 (16)	45.7 (20)	46.9 (18)
Median	48	49	49	48
Range	4–75	5–82	5–80	5–82

Abbreviations: ETDRS, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; SD, standard deviation.

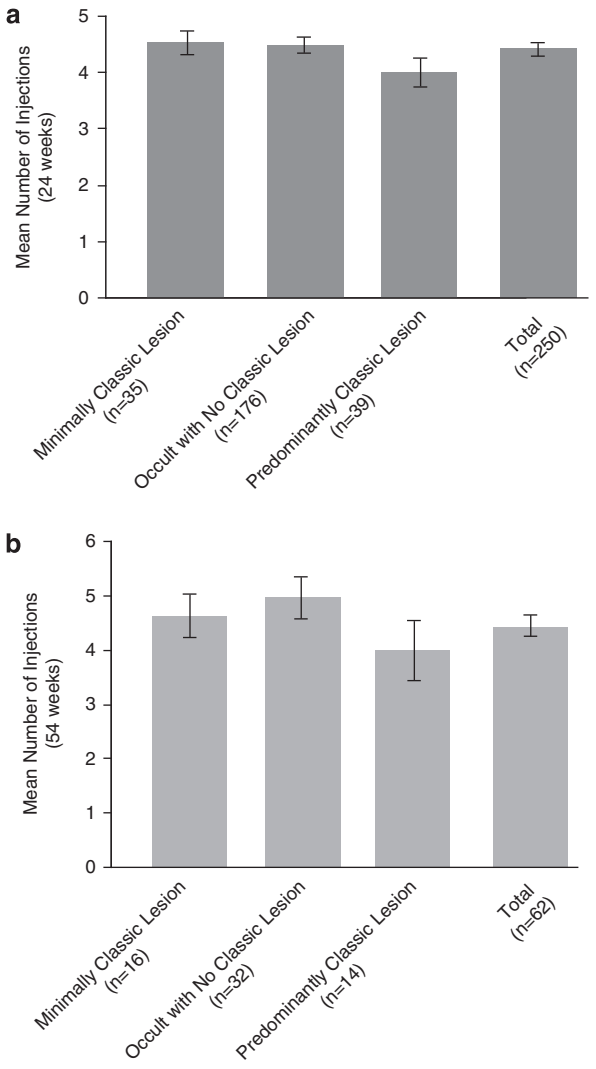


Figure 1 Mean number of injections across lesion subtypes at (a) 24 weeks and (b) 54 weeks.

Comparison of vision-related end points: the European experience vs *the VISION trial*

Table 2 presents the vision-related end points from this European experience and those of the VISION trial[8] at both weeks 24 and 54. In particular, more than 90% of patients in the current cohort lost <15 letters from baseline at both time points; 70% of patients lost <15 letters in the VISION trial[8] at 54 weeks. Gains of $\geqslant 15$ letters were achieved by 10.7% of patients at week 24 and by 4.8% at week 54, whereas 6% were reported at week 54 in the VISION trial. A loss of $\geqslant 30$ letters was noted in only 1.2% of patients at week 24 and in no patient at week 54 in the European cohort; 10% of patients in the VISION trial had a loss of $\geqslant 30$ letters at week 54. Proportions of patients with visual acuity $\leqslant 20/200$ were 11.9 and 9.7% at weeks 24 and 54, respectively, in the European cohort and 38% at week 54 in the VISION trial.

Visual acuity change by lesion subtype, size, and baseline visual acuity

Figure 2 shows the mean change in visual acuity from baseline for the 62 patients who completed 54 weeks of follow-up. Mean vision gains at 24 weeks were not sustained at 54 weeks among those with minimally classic or predominantly classic lesions. The difference in mean visual acuity change from baseline was not statistically significant across groups (analysis of variance, $P = 0.6$).

In general, outcomes did not vary substantially with lesion size at any time point, although smaller lesions showed a slight trend towards greater improvement in visual acuity from 24 to 48 weeks compared with lesions $>4500\,\mu$m (Figure 3).

Baseline visual acuity was dichotomised as $\geqslant 54$ letters ($n = 91$) and <54 letters ($n = 162$). The mean change in vision at 24 weeks in eyes with better baseline vision was $+2.28$ (SD, 10) *vs* -1.6 (SD, 12) letters among those with poorer baseline vision. A total of 21 patients in the group with better baseline visual acuity and 41 of those with poorer baseline vision completed 54 weeks of follow-up; at that time point, mean changes in visual acuity were -1.01 (SD, 12) letters and -2.1 (SD, 8) letters, respectively.

Adverse events

Pegaptanib was well tolerated. There were no reported cases of endophthalmitis, traumatic cataract, or iatrogenic retinal detachment or cases of thrombo-embolic, cerebrovascular events, or myocardial infarctions.

Discussion

In the VISION trial,[8] after 54 weeks of pegaptanib treatment at 6-week intervals, 70% of patients with CNV had stabilisation of vision (lost <15 letters) and 6% had visual improvement (gained $\geqslant 15$ letters of vision). Although our real-life experience found that pegaptanib generally resulted in better visual outcomes, that is, 93 and 92% of patients lost <15 letters at 24 and 54 weeks, respectively; these differences in outcomes could be due to the lack of standardisation of treatment and retreatment eligibility criteria and visual acuity measurement techniques, as well as the lack of blinding in our study.

Although the majority of patients enrolled in the VISION trial[8] had previously treated lesions, a *post hoc*

Table 2 Comparison of visual acuity outcomes: VISION trial *vs* European experience with pegaptanib 0.3 mg

End points	*VISION trial*	*European experience*[a]	
	54 weeks, n = *294*	*24 weeks*, n = *253*	*54 weeks*, n = *62*
Loss <15 letters	70%	236 (93.3%)	57 (91.9%)
Maintenance or gain ⩾0 letters	33%	184 (72.7%)	44 (70.9%)
Gain ⩾5 letters	22%	92 (36.4%)	13 (20.9%)
Gain ⩾10 letters	11%	43 (17.0%)	6 (9.7%)
Gain ⩾15 letters	6%	27 (10.7%)	3 (4.8%)
Loss ⩾30 letters	10%	3 (1.2%)	0
Visual acuity in study eye ⩽20/200	38%	30 (11.9%)	6 (9.6%)
Mean vision change, letters	−7.93	0.69 (SD 11)	−1.66 (SD 11)

Abbreviations: SD, standard deviation; VISION, VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization.
[a]Visual acuity data were imputed using the last observation carried forward method in 3% of patients.

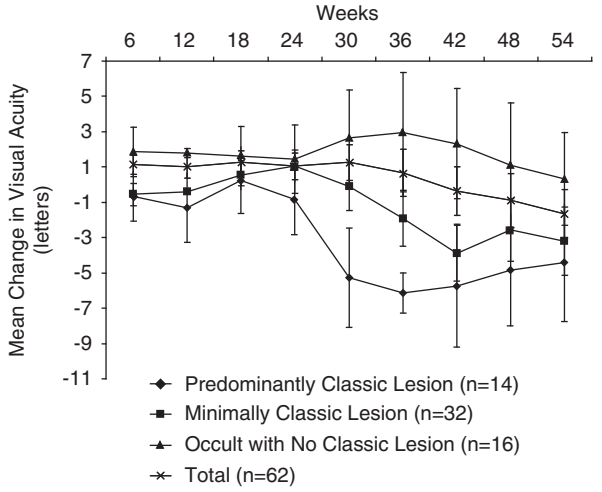


Figure 2 Mean change in visual acuity by choroidal neovascularisation angiographic subtype in patients completing 54 weeks of follow-up.

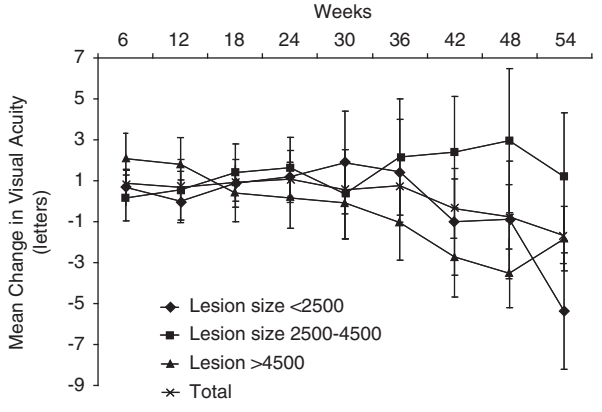


Figure 3 Mean change in visual acuity by lesion-size subgroup.

subgroup analysis[10] of the VISION data set explored the effect of pegaptanib on those patients who were treatment-naive (no previous PDT/thermal laser photocoagulation) and who had early disease defined as lesion size <2 disc areas, a baseline visual acuity ⩾54 letters, and an absence of scarring/atrophy. At week 54, visual acuity in 26 of 34 (76%) of the pegaptanib-treated subgroup had stabilised and 12 of 34 (35%) had maintained or gained vision. This issue is being further examined in the ongoing PERSPECTIVES trial; similar criteria for classifying lesions as early stage are being used but expanded to include those measuring ⩽12 disc areas, providing that they are assessed as <50% classic component by fluorescein angiography and without lipid exudation, retinal epithelial detachment, or subfoveal haemorrhage. Our cohort did not reveal differences in outcomes across lesion sizes, possibly reflecting the small numbers of patients in the lesion subtype categories who completed 54 weeks of follow-up. However, patients with smaller lesions did show a slight trend towards greater improvement in visual acuity from 24 to 48 weeks compared with those having lesions >4500 μm. Findings of small retrospective case series of patients treated with pegaptanib in the United States, published after the drug was introduced in January 2005, are consistent with the expectation that earlier treatment produces better clinical outcomes.[11,12]

In this European cohort, a large proportion of patients had occult CNV. The exploratory analysis of VISION trial[8] patients with earlier-stage lesions also found better responses for treatment-naive occult lesions with 20% of eyes with active occult disease gaining ⩾3 lines of vision.[10] Similarly, in a review of 90 patients with newly diagnosed NV-AMD who were observed for a minimum of 6 months (mean, 9.1 ± 2 months), pegaptanib as primary therapy provided a 90% rate of improvement or stabilisation of vision;[11] 80% (72/90) of lesions were classified as occult.

Although pegaptanib was administered at 6-week intervals throughout the 48 weeks in the VISION trial,[8] European investigators participating in this study administered pegaptanib as needed (prn) at their

discretion. At week 24, a mean of 4.4 injections had been administered with an average of 4.8 injections administered through week 54. This relatively small increase indicates that the majority of patients did not receive injections in the second half of the year, a fact that may explain the decrease in visual acuity between weeks 24 and 54. The VISION trial[8] showed that patients randomised to discontinue pegaptanib after 1 year of treatment were at greater risk of vision loss than those continuing treatment.[13] Similarly, the PIER study,[14] which evaluated an every-3-month dosing regimen for ranibizumab in patients with subfoveal CNV, revealed that visual acuity tended to diminish when compared with the standard every-4-week dosage regimen recommended for this agent. The prn schedule in our cohort was based on the investigator's discretion. Not all treatments were guided by retreatment criteria as defined in the PrONTO study.[15] The prn schedule is a rather new treatment strategy and with experience, investigators have noted that a regimen of very aggressive optical coherence tomography and visual acuity guidance is required to sustain the initial gain in vision after ranibizumab. This premise also may apply to pegaptanib.

As in the VISION trial,[8,13] pegaptanib was well tolerated. In the setting of NV-AMD, the safety of pegaptanib has now been validated over 4 years and in some cases in patients receiving >35 injections without the appearance of ocular or systemic safety signals[16,17] that have been reported with the use of the pan-VEGF agents. Although currently available data do not allow for a direct comparison of the safety of the three VEGF antagonists, of particular note is the SAILOR trial, a dedicated study comparing two doses of ranibizumab, which found a tendency towards a higher incidence of stroke recurrence among patients with a history of stroke (9.6% in the 0.5-mg group compared with 2.7% in the 0.3 mg group); the difference, however, was not statistically significant (Boyer D *et al*.,[18] safety in previously treated and newly diagnosed patients with neovascular age-related macular degeneration (AMD): the SAILOR study. Presented at Bascom Palmer Eye Institute Angiogenesis, Exudation and Degeneration Meeting, 22–23 February 2008, Key Biscayne, FL, USA).

Limitations of this study include its retrospective and uncontrolled design and especially the fact that criteria for retreatment were not standardised across sites. In addition, visual acuity measurement methods varied, and Snellen measurements were converted to ETDRS letters. Finally, data on central macular thickness were not routinely available, but would have provided an additional basis for comparing our findings with those of the landmark studies.

Of note, although the outcomes found with pegaptanib sodium in the treatment of treatment-naive NV-AMD in this real-life experience showed more improvement than that reported in the VISION study,[8] the differences in design between this retrospective study and the prospective controlled VISION trial limit the comparability of results. Until studies directly comparing ranibizumab, bevacizumab, and pegaptanib are undertaken, pegaptanib may be optimally warranted for patients who are not candidates for pan-VEGF agents on a long-term basis.

Summary

What was known before

- This report of our collective experience, although retrospective in design, indicates that in a real world European setting, pegaptanib generally results in better visual outcomes in patients with neovascular age-related macular degeneration when compared with results observed in the phase 3 VISION trial.

What this study adds

- Tolerability is consistent with that reported over 4 years of use with the agent in clinical trials. Thus, this VEGF antagonist may be a viable alternative to other agents that may exacerbate preexisting vascular comorbidities.

Conflict of interest

All authors have received travel or research grants from Pfizer Inc., New York, NY, USA.

Acknowledgements

This paper was presented in part at the Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, 27 April–1 May 2008, Fort Lauderdale, Florida, USA, and at the European Society of Retina Specialists 8th Congress, 22–25 May 2008, Vienna, Austria.

References

1 Ferris 3rd FL, Fine SL, Hyman L. Age-related macular degeneration and blindness due to neovascular maculopathy. *Arch Ophthalmol* 1984; **102**: 1640–1642.
2 Ahmadi MA, Lim JI. Pharmacotherapy of age-related macular degeneration. *Expert Opin Pharmacother* 2008; **9**: 3045–3052.
3 Murjaneh S, Garcia-Finana M, Mahmood S, Lenfestey PM, Taylor SA, Pearce IA *et al*. Observational prospective study of the effectiveness in routine clinical practice of verteporfin photodynamic therapy in patients with neovascular - age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2009; **93**(4): 468–473.
4 Kaiser PK, Brown DM, Zhang K, Hudson HL, Holz FG, Shapiro H *et al*. Ranibizumab for predominantly classic neovascular age-related macular degeneration: subgroup analysis of first-year ANCHOR results. *Am J Ophthalmol* 2007; **144**: 850–857.

5 Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY *et al*. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006; **355**: 1419–1431.
6 VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization (VISION) Clinical Trial GroupD'Amico DJ, Masonson HN, Patel M, Adamis AP, Cunningham Jr ET, Guyer DR *et al*. Pegaptanib sodium for neovascular age-related macular degeneration: two-year safety results of the two prospective, multicenter, controlled clinical trials. *Ophthalmology* 2006; **113**: 992–1001.
7 Pedersen KB, Sjølie AK, Møller F. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration in treatment-naive patients. *Acta Ophthalmol* 2008, e-pub ahead of print 16 December 2008.
8 Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham Jr ET, Feinsod M, Guyer DR. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2004; **351**: 2805–2816.
9 European Medicines Agency. EPARs for authorised medicinal products for human use: Macugen. Available at http://www.emea.europa.eu/humandocs/ Humans/EPAR/ macugen/macugen.htm. Accessed on 23 January 23 2009.
10 Gonzales CR. Enhanced efficacy associated with early treatment of neovascular age-related macular degeneration with pegaptanib sodium: an exploratory analysis. *Retina* 2005; **25**: 815–827.
11 Quiram PA, Hassan TS, Williams GA. Treatment of naive lesions in neovascular age-related macular degeneration with pegaptanib. *Retina* 2007; **27**: 851–856.
12 Ehlers JP, Fintak DR, Gupta OP, Regillo CD, Fineman MS, Ho AC. Pegaptanib for choroidal neovascularization in treatment-naive exudative age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2007; **38**: 371–377.
13 VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization (VISION) Clinical Trial Group. Year 2 efficacy results of 2 randomized controlled clinical trials of pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2006; **113**: 1508–1521.
14 Regillo CD, Brown DM, Abraham P, Yue H, Ianchulev T, Schneider S *et al*. Randomized, double-masked, sham-controlled trial of ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration: PIER study year 1. *Am J Ophthalmol* 2008; **145**: 239–248.
15 Fung AE, Lalwani GA, Rosenfeld PJ, Dubovy SR, Michels S, Feuer WJ *et al*. An optical coherence tomography-guided, variable dosing regimen with intravitreal ranibizumab (Lucentis) for neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2007; **143**: 679–680.
16 Singerman LJ, Masonson H, Patel M, Adamis AP, Buggage R, Cunningham Jr E *et al*. Pegaptanib sodium for neovascular age-related macular degeneration: third-year safety results of the VISION trail. *Br J Ophthalmol* 2008; **92**: 1606–1611.
17 Marcus DM. Four-year safety of pegaptanib sodium in neovascular age-related macular degeneration (AMD): results of the VISION trial. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; **49**, E-Abstract 5069.
18 Boyer DS, Heier JS, Brown DM, Francom SF, Ianchulev T, Rubio RG. A Phase IIIb study to evaluate the safety of ranibizumab in subjects with neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2009; **116**(9): 1731–1739.

Příloha 8

Epidemiologie věkem podmíněné makulární degenerace

Kolář P.

Oční klinika Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice, Brno,
přednostka prof. MUDr. Eva Vlková, CSc.

SOUHRN:

Věkem podmíněná makulární degenerace je nejčastější příčinou těžké ztráty zrakové ostrosti ve vyspělém světě. Epidemiologická data publikovaná v posledních 30 letech jsou velmi alarmující. Dokládají, že věkem podmíněná makulární degenerace je nejčastější příčinou slepoty ve vyspělých zemích v populaci pacientů starších 65 let. Známky počínajícího onemocnění lze diagnostikovat již ve věkové skupině pacientů starších 45 let. Onemocnění má velmi výraznou věkovou vazbu a jeho prevalence a incidence s přibývajícím věkem výrazně roste. Mezi základní rizikové faktory onemocnění patří kouření, nekorigovaná hypertenze, ateroskleróza, chirurgie katarakty, výskyt onemocnění v rodině. Mezi další možné rizikové faktory počítáme diabetes mellitus, světlou barvu duhovky. Nejednoznačný je negativní vliv ultrafialového záření.

Klíčová slova: věkem podmíněná makulární degenerace, prevalence, incidence, Beaver Dam Study, Blue Mountain Study, Rotterdam Study, Pola Study

SUMMARY:

Epidemiology of the Age-Related Macular Degeneration

The age-related macular degeneration is the most common cause of severe decrease of the visual acuity in industrial countries. The epidemiological data published in last 30 years are very alarming. They document that the age-related macular degeneration is the most common cause of blindness in industrial countries in the population of patients older than 65 years. The signs of beginning disease may be diagnosed as early as in the patients older than 45 years. The disease is strictly age-related and its prevalence and incidence is markedly increasing according to the older age. The basic risk factors of the disease are smoking, untreated hypertension, atherosclerosis, cataract surgery, and appearance of the disease in the family. Among further possible risk factors we count diabetes mellitus and the light color of the iris. Equivocal is the negative influence of ultraviolet rays.

Key words: age-related macular degeneration, prevalence, incidence, Beaver Dam Study, Blue Mountain Study, Rotterdam Study, Pola Study

Čes. a slov. Oftal., 66, 2010, No. 3, p. 127–130

ÚVOD

Věkem podmíněná makulární degenerace (VPMD) je i přes pokroky v diagnostice a terapii nejčastější příčinou těžké ztráty zrakové ostrosti ve vyspělém světě v populaci pacientů starších 65 let. Prevalence poklesu zrakové ostrosti roste ve spojitosti s věkem, platí to zvláště pro věkovou skupinu pacientů starších 75 let (18). Z tohoto hlediska jde o alarmující informaci, protože existuje reálný předpoklad, že se populace pacientů starších 75 let v USA mezi lety 2005–2025 zvětší o 54 % (18). Obdobná demografická data lze předpokládat i v evropské populaci, a tím tedy i v České republice.

Epidemiologická data z České republiky zatím nejsou publikována, proto se musíme opřít o data publikovaná ve velkých světových epidemiologických studiích. Jde především o data studií Deaver Dam Eye Study z USA, dále o data Blue Mountains Eye Study z Austrálie a data z Rotterdam Study z Holandska. Evropská data z Francie jsou prezentována v Pola Study.

DEFINICE

Prevalence je definována jako celkový počet jedinců v populaci vykazující sledovanou veličinu. Obvykle se udává v počtu postižených jedinců na 100 000 obyvatel k určitému datu.

Incidence je definována jako počet jedinců v populaci, u nichž se objevila sledovaná veličina (nemoc, příznak) za definované časové období (1 rok, 5 let, 10 let atd.). Také se obvykle udává v počtu jedinců na 100 000 obyvatel (27).

Deaver Dam Eye Study

Deaver Dam je město v USA (stát Wisconsin) s asi 15 000 obyvateli.

Tato studie představuje zlatý standard v epidemiologických datech týkajících se velké skupiny očních onemocnění a zejména VPMD. Do studie byli zařazeni pacienti po proběhlém sčítání obyvatel, které se konalo mezi 15. 09. 1987 a 04. 05. 1988. Zahrnutí do studie bylo nabídnuto všem obyvatelům města ve věku 43–84 let. Každý subjekt před zařazením do sledování podepsal informovaný souhlas. Z celkového počtu

5924 obyvatel splňujících zařazující kritéria bylo v období od 01. 03. 1988 do 14. 09. 1990 zařazeno 4926 subjektů. 99 % subjektů příslušelo k bílé rase (12). Můžeme tedy říci, že se jednalo o studii, která monitorovala výskyt oční patologie u bílé rasy. Subjekty byly poté sledovány v intervalu 5 let. Byla tedy vyhodnocena data po 5, 10 a 15 letech.

Z iniciálního počtu 4926 subjektů bylo po 5 letech (vyšetření probíhala v letech 1993 – 1995) vyšetřeno 3684 subjektů, po 10 letech (vyšetření probíhala v letech 1998–2000) vyšetřeno 2764 subjektů, po 15 letech (vyšetření probíhala v letech 2003 – 2005) 2119 subjektů.

Desetiletá incidence časné VPMD byla 12,1 %, pokud se týká pozdní makulopatie byla desetiletá incidence 2,1 %. Patnáctiletá incidence byla poté 14 % a 3 % respektive.

Blue Mountains Eye Study

Studie Blue Mountains byla populační studií sledující výskyt běžných očních onemocnění v australské populaci (32, 33).

Do studie bylo zařazeno 3654 subjektů starších 49 let, kteří podstoupili vstupní vyšetření v období 14. 01. 1992 až 18. 12. 1993. Vyšetření po 5 letech podstoupilo 2335 subjektů (75,1 %). Vyšetření probíhala v letech 1997 až 2000. Vyšetření po 10 letech podstoupilo 1952 subjektů (53,4 %). Vyšetření probíhala v letech 2002 až 2005. Průměrná sledovací doba byla 5,1 a 10,5 roku pro soubor subjektů vyšetřených po 5, respektive 10 letech. Při každém vyšetření pacient podstoupil stereoskopickou retinální fotografii makuly provedenou v mydriáze.

Desetiletáletá incidence časné VPMD byla 10,8 % a pozdní VPMD 2,8 %. Tyto výsledky se velmi blíží výsledkům studie Beaver Dam (20, 21, 22).

Rotterdam Study

Rotterdamská studie byla monocentrická studie zahrnující sledování kompletní populace subjektů starších 55 let ve čtvrti Ommoord města Rotterdam (rozmezí 55 – 106 let). Zařazovací vyšetření byla provedena od 01. 03. 1990 do 01. 07. 1993 (30, 31). Účast ve studii byla nabídnuta 10 191 subjektům. 37 participantů zemřelo, 350 nemohlo být dále kontaktováno. Z toho vyplývá, že subjektů vhodných k zařazení bylo 9774 subjektů. Vyšetření v oftalmologickém centru podstoupilo 6781 subjektů. Fotografie hodnotitelné alespoň u jednoho oka byly pořízeny u 6251 participantů. VPMD byla na počátku diagnostikována u 104 subjektů (1,7 %). Jedná se tedy o prevalenci onemocnění na počátku studie (31). Údaje z Blue Mountain a Beaver dam jsou velmi podobné (1,81 % a 1,51 %).

Pola Study

Pola Study byla francouzská populační studie zahrnující osoby starší 60 let. Cílem studie bylo zjistit incidenci pozdní věkem podmíněné makulární degenerace ve vyšetřeném vzorku francouzské populace. Studie zhodnotila data tříleté incidence.

Pacienti byli vyšetřeni za pomoci retinálních fotografií na počátku studie mezi lety 1995–1998 a poté za 3 roky mezi lety 1998–2000. Bylo vyšetřeno celkem 2054 subjektů s rizikem vzniku pozdní VPMD. Vyšetření po 3 letech bylo provedeno u 1642 subjektů (79,9 %). Hodnotitelné fotografie alespoň jednoho oka byly po 3 letech zhodnoceny u 1424 subjektů (86,7 %).

Vznik pozdní VPMD byl definován jako vznik neovaskulární VPMD, nebo vznik geografické atrofie retinálního pigmentového epitelu (RPE). Časná VPMD byla definována jako výskyt alespoň měkkých drúz, nebo výskyt měkkých drúz ve spojitosti se změnami RPE (hyper a hypopigmentace).

Celková tříletá incidence ve vyšetřené populaci zahrnuté do Pola Study byla 0,49% ($p = 0,0005$). S přihlédnutím k věku nebyly shledány rozdíly v incidenci pozdní VPMD mezi muži a ženami. Tříletá incidence byla shodná s incidencí publikovanou pro Rotterdam Study. Můžeme tedy konstatovat, že tříletá data pro evropskou incidenci u obou studií (Pola Study a Rotterdam Study) jsou shodná (2).

V populaci subjektů, u kterých byla diagnostikována časná VPMD na počátku studie, byla tříletá incidence pozdní VPMD 9,3 %. U subjektů bez známek VPMD na počátku studie byla tříletá incidence maximálně 0,4 % ve věkové kategorii 70–79 let. Naproti tomu u subjektů s časnou VPMD diagnostikovanou na počátku studie byla tříletá incidence v populaci o věkovém rozmezí 60–69 let 5 %, ale ve věkovém rozmezí starších 80 let už 33,3 %. Jinými slovy oči s časnou VPMD na počátku studie měly 78krát vyšší pravděpodobnost rozvoje pozdní VPMD na konci sledování (2).

Tyto údaje jsou alarmující.

Údaje ze studie Pola provedené v jižní Francii jsou velmi podobné údajům získaným z Rotterdamské studie (2). Pokud porovnáme výsledky obou evropských studií (Pola Study, Rotterdam Study) je incidence pozdní VPMD nižší, než incidence pozdní VPMD u bílé rasy v USA (Beaver Dam) a Austrálii (Blue Mountains) (2).

Populační studie, které proběhly u VPMD, popsaly přirozený průběh onemocnění a definovaly jeho základní rizikové faktory. Poskytly taky doplňující informace o průběhu onemocnění u různých ras a komentovaly taky geografické odlišnosti jeho výskytu.

Přirozený průběh VPMD

Přirozený průběh onemocnění byl popsán už asi před 150 lety. Spojení nálezu disciformní jizvy s VPMD ale poprvé potvrdil Gass (4).

Ve studii Beaver Dam byla prevalence měkkých drúz 2 % v populaci věkového rozmezí 43–54 let a 24 % ve věkové skupině starších 75 let. Během desetiletého sledování došlo k progresi velikosti oblasti drúz o 9 % ve věkové skupině 43 – 54 let a o 56 % ve věkové skupině starší 75 let (17). Asi 25 % měkkých drúz v průběhu sledování vymizelo aniž by došlo k progresi onemocnění. Prognostické faktory tohoto vymizení nejsou známé (17).

Pacienti s velkými okrsky měkkých drúz měli v průběhu desetiletého sledovacího období daleko větší pravděpodobnost vzniku pozdní VPMD (geografická atrofie RPE, disciformní jizva). V Beaver Dam studii bylo toto riziko 14 % v průběhu 10 let. Ve studii Blue Mountain měli pacienti s měkkými drúzami šestkrát vyšší riziko vzniku pozdní VPMD, než pacienti bez měkkých drúz (32). Asi 90 % bílé populace starší 40 let má přítomny drobné, tj. tvrdé drúzy alespoň v jednom z očí (9, 10). Oči s tvrdými drúzami jsou méně náchylné k progresi do pozdní VPMD. Nicméně riziko progrese do pozdní formy je 2–3krát vyšší než u očí bez drúz (14). Velký počet malých tvrdých drúz je spojen jen s rizikem vzniku geografické atrofie RPE. Z tohoto důvodu jsou tvrdé drúzy považovány za prvotní znak počínající VPMD (25).

Detekce časné VPMD činí problém, drúzy mohou být velmi nenápadné a špatně detekovatelné. Velkým přínosem v tomto smyslu jsou zobrazovací systémy, které dokáží detekovat autofluorescenci. Autofluorescence je vlastností buněk RPE. Čím více jsou buňky RPE naplněny lipofuscinem (jeho množství s věkem roste), tím větší autofluorescenci vykazují. Detekce autofluorescence je proto významným faktorem, který dovede zpřesnit diagnostiku počínajících forem VPMD.

Rasové a etnické aspekty výskytu VPMD

Pozdní formy VPMD jsou relativně vzácné před 55. rokem věku, naopak jsou poměrně časté po 75. roku věku. Výskyt pozdní formy VPMD je méně častý u černé rasy v porovnání s bílou rasou. Prokazatelné jsou geografické rozdíly ve výskytu pozdních forem VPMD mezi severoevropskými zeměmi na straně jedné a USA, zbytkem Evropy a Austrálií na straně druhé. V severoevropských zemích je převažujícím terminálním stadiem VPMD geografická atrofie RPE (1, 7, 23, 24), za-

tímco ve zbytku rozvinutého světa je to disciformní jizva, jako terminální stadium vlhké formy VPMD. Prevalence geografické atrofie RPE a neovaskulární VPMD je v Rotterdamské studii nižší, než ve studiích Beaver Dam a Blue Mountain (26). Pětiletá incidence, která byla u těchto 3 studií sledována, se výrazněji neliší. To znamená, že rozdíly v prevalenci mohou být způsobeny odlišnou metodikou zařazování subjektů do studií (26, 28).

Pokud se podíváme na rasové rozdíly ve výskytu VPMD, najdeme výrazný rozdíl ve výskytu mezi bílou a černou rasou (9, 10). Publikovaná data potvrzují vyšší výskyt neovaskulární VPMD u bílé rasy v porovnání s černou (10). Tato data se mohou jevit jako paradoxní ve světle zjištění, že drúzy a změny RPE se vyskytují u obou ras ve stejné frekvenci (10). Tento paradox není doposud uspokojivě vysvětlen. Spekuluje se o protektivním vlivu vyšší koncentrace melaninu u černé rasy (6). Výskyt neovaskulární VPMD u hispánské rasy byl studován v několika populačních studiích. Data prokazují vyšší výskyt drúz a abnormalit RPE u hispánské rasy. Zároveň ale prokazují nižší výskyt neovaskulární VPMD u hispánské rasy (29).

Rizikové faktory VPMD

Základním rizikovým faktorem VPMD je kouření. Tento faktor je velmi úzce spojen s prevalencí VPMD a o něco méně těsně s incidencí neovaskulární VPMD a geografické atrofie RPE. Patofyziologický podklad tohoto rizikového faktoru zahrnuje snížení koncentrace makulárních karotenoidů, snížení antioxidačního potenciálu krevní plazmy, snížení choroidálního prokrvení (15).

Dalším rizikovým faktorem je ateroskleróza. Subjekty v Rotterdamské studii s aterosklerotickými plaky v karotidách byly pětkrát častěji postiženy pozdní VPMD než subjekty bez plaků (30). Subklinická ateroskleróza je asociována s výskytem časné VPMD (19). Dále můžeme vysledovat, že subjekty užívající hypolipidemika mají diagnostikovánu méně často VPMD.

Hypertenze je dalším z rizikových faktorů VPMD, i když fakta z jednotlivých studií nejsou konzistentní. Ve studii Beaver Dam byly subjekty s korigovanou hypertenzí (TK pod 160/95) postiženy neovaskulární VPMD dvakrát častěji a subjekty s nekorigovanou hypertenzí třikrát častěji v porovnání s normotenzními subjekty (16).

Diabetes mellitus je dalším rizikovým faktorem vzniku a progrese VPMD. Ovlivňuje totiž strukturální funkce RPE, Bruchovy membrány a v neposlední míře také choroidální cirkulaci (3).

Expozice ultrafialovému světlu nebyla přesvědčivě prokázána jako rizikový faktor vzniku a progrese VPMD (22).

Světlá barva iris je dalším rizikovým faktorem, který je obecně spojen s nízkou koncentrací melaninu i dalších očních tkáních (retina, cévnatka) (5).

Chirurgie katarakty před zařazením do studie Beaver Dam představovala čtyřikrát větší riziko vzniku neovaskulární VPMD a třikrát vyšší riziko vzniku geografické atrofie RPE v průběhu desetiletého sledování (13).

Výskyt VPMD v příbuzenstvu zvyšuje riziko vzniku onemocnění. Tento fakt dokumentují sourozenecké studie provedené v rámci Beaver Dam a Rotterdamské studie. Pokud je první ze sourozenců postižen VPMD při začátku sledování, pak pětiletá incidence vzniku VPMD u druhého sourozence, který nebyl na začátku studie postižen, je 6–8krát větší než u subjektů bez rodinné zátěže (8, 11).

SHRNUTÍ

Epidemiologická data mám potvrzují již v minulosti zjištěná fakta, že VPMD je onemocnění s úzkou věkovou vazbou, které má řadu rizikových faktorů. Některé z nich jdou ovlivnit (kouření, výška krevního tlaku), další ovlivnit nelze (obsah melaninu v očních tkáních, genetické predispozice). Klinická data nám potvrzují, že výskyt mnoha tvrdých drúz, nebo splývajících měkkých drúz a abnormalit RPE, vede k progresi do pozdních stadií VPMD. Taktéž geografické vlivy hrají významnou roli v epidemiologii VPMD. Víme, že pacienti v severských zemích jsou častěji postiženi geografickou atrofií RPE, zatímco pacienti ve zbytku Evropy, Austrálii a USA jsou postiženi častěji neovaskulární VPMD. Kouření cigaret, nekorigovaná hypertenze, ateroskleróza a chirurgie katarakty výrazně zvyšují riziko vzniku pozdní VPMD. Další faktory jako výskyt diabetu, obezity, zánětlivých onemocnění nejsou tak úzce spojeny s progresí VPMD. Nejednoznačná je i otázka vlivu ultrafialového záření.

LITERATURA

1. **Bjornsson, O., M., Kinge, B., Syrdalen, P., et al.:** The prevalence of age-related maculopathy (ARM) in an urban Norwegian population-Oslo Macular study. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003; 44: 3082.
2. **Delcourt, C., Lacroux, A., Carrière, I., et al.:** The Three-Year Incidence of Age- Related Macular Degeneration: The "Pathologies Oculaires Liées à l'Age" (POLA) Prospective Study. Am J Ophthalmol, 2005; 140: 924–926.
3. **Fryczkowski, A., W., Sato, S., E., Hodes, B., L.:** Changes in the diabetic choroidal vasculature: Scanning electron micros- copy findings. Ann Ophthalmol 1988; 20: 299 –305.
4. **Gass, J., D.:** Drusen and disciform macular detachment and degeneration. Arch Ophthalmol, 1973; 90: 206 –217.
5. **Holtz, F., G., Piguet, B., Minassian, D., C., Bird, A., C. et al.:** Decreasing stromal iris pigmentation as a risk factor of age-related macular degeneration. Am J Ophthalmol, 1994; 117:19–23.
6. **Jampol, L., M., Tielsch, J.:** Race, macular degeneration, and the Macular Photocoagulation study. Arch Ophthalmol, 1992; 110: 1699 –1700.
7. **Jonasson, F., Arnarsson, A., Sverisson, T, et al.:** 5-year incidence of age-related maculopathy-Reykjavik Eye study. Invest Ophthalmol Vis Sci 2003; 44: 3083
8. **Klaver, C., C., Wolfs, R., C., Assink, J., J.:** Genetic risk of age-related maculopathy: Population-based familial aggregate study. Arch Ophthalmol 1998; 116: 1646–1651.
9. **Klein, R., Klein, B., E., Cruickshanks, K., J.:** The prevalence of age-related maculopathy by geographic region and ethnicity. Prog Retin Eye Res, 1999; 18: 371–389.
10. **Klein, R., Klein, B., E., Jensen, S., C., Mares-Perlman, J., A, et al.:** Age-related maculopathy in a multiracial United States population: The National Health and Nutrition Examination Survey III. Ophthalmology 1999; 106: 1056 –1065.
11. **Klein BE, Klein R, Lee KE, Moore EL, Danforth L.:** Risk of incident age-related eye diseases in people with an affected sibling: The Beaver Dam Eye study. Am J Epidemiol 2001;154: 207–211.
12. **Klein, R., Klein, B., E., Lee, K., E., et al.:** Changes in visual acuity in a population over a 10-year period: the Beaver Dam Eye Study. Ophthalmology, 2001; 108: 1757–1766.
13. **Klein, R., Klein, B., E., Wong, T., Y., et al.:** The association of cataract and cataract surgery with the long-term incidence of age-related maculopathy: The Beaver Dam Eye study. Arch Ophthalmol, 2002; 120: 1551– 1558.
14. **Klein, R., Klein, B., E., Tomany, S., C., et al.:** Ten-year incidence and progression of age-related maculopathy: The Beaver Dam Eye study. Ophthalmology, 2002; 109: 1767–1779.
15. **Klein, R., Klein, B., E., Tomany, S., C., et al.:** Ten-year incidence of age-related maculopathy and smoking and drinking: The Beaver Dam Eye study. Am J Epidemiol, 2002; 156: 589 –598.
16. **Klein, R., Klein, B., E., Tomany, S., C. et al.:** The association of cardiovascular disease with the long-term incidence of age-related maculopathy: The Beaver Dam Eye study. Ophthalmology, 2003; 110: 1273–1280.

17. **Klein., R., Peto, T., Bird, A., C., et al.:** The Epidemiology of Age-Related Macular Degeneration. Am J Ophthalmol, 2004; 137: 486–495.
18. **Klein, R., Klein, B., E., Lee, K., E.:** Changes in Visual Acuity in a Population Over a 15-year Period: The Beaver Dam Eye Study. Am J Ophthalmol, 2006; 142: 539.e1–539.e13.
19. **van Leeuwen, R., Ikram, M., K., Vingerling, J.,R., et al.:** Blood pressure, atherosclerosis, and the incidence of age-related maculopathy: The Rotterdam study. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003; 44: 3771–3777.
20. **Mitchell, P., Smith, W., Attebo, K., et al.:** Prevalence of age-related maculopathy in Australia: the Blue Mountains Eye Study. Ophthalmology, 1995; 102: 1450–60.
21. **Mitchell, P., Wang, J., J., Foran, S., et al.:** Five-year incidence of age-related maculopathy lesions: the Blue Mountains Eye Study. Ophthalmology, 2002; 109: 1092–1097.
22. **Roberts, J., E.:** Ocular phototoxicity. J Photochem Photobiol B, 2001; 64: 136–143.
23. **Rosenberg, T.:** Prevalence and causes of blindness in Greenland. Arctic Med Res, 1987; 46: 13–17.
24. **Rosenberg, T.:** Prevalence of blindness caused by senile macular degeneration in Greenland. Arctic Med Res, 1987; 46: 64–70.
25. **Sarks, S., H.:** Drusen patterns predisposing to geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. Aust J Ophthalmol, 1982; 10: 91–97.
26. **Smith, W., Assink, J., Klein, R, et al.:** Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. Ophthalmology 2001;108:697–704.
27. **Sosna., T.:** Epidemiologie a rizikové faktory VPMD. In Kolář, P.: Věkem podmíněná makulární degenerace, Praha: Grada, 2008, s. 148.
28. **Tomany, S., C., Wang, J., J., van Leeuwen, R., et al.:** Risk factors for incident age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. Ophthalmology, 2004; 111: 1280–1287.
29. **Tong, L., Lai, M., Klein, R., et al.:** Prevalence of age-related maculopathy (ARM) in a population- based cohort of adult Latinos: The Los Angeles Latino Eye Study (LALES). Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003; 44: 2107.
30. **Vingerling, J., R., Dielemans, I., Bots, M., L., et al.:** Age-related macular degeneration is associated with atherosclerosis. The Rotterdam study. Am J Epidemiol, 1995; 142: 404–409.
31. **Vingerling, J., R., Dielemans, I., Hofman, A., et al.:** The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. Ophthalmology, 1995; 102: 205–210.
32. **Wang, J., J., Foran, S., Smith, W., et al.:** Risk of age-related macular degeneration in eyes with macular drusen or hyperpigmentation: The Blue Mountains Eye study cohort. Arch Ophthalmol, 2003; 121: 658–663.
33. **Wang, J., J., Rochtchina, E., Lee, A., J., et al.:** Ten-Year Incidence and Progression of Age-Related Maculopathy The Blue Mountains Eye Study. Ophthalmology, 2007; 114: 92–98.

MUDr. Petr Kolář, Ph.D.
Oční klinika LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
pkolar@fnbrno.cz

OZNÁMENÍ

Oznamujeme oftalmologické veřejnosti, že prof. MUDr. Pavel Rozsíval, CSc., FEBO, byl v Talinu dne 19. června 2010 zvolen viceprezidentem Oftalmologické sekce UEMS

PŘIPOMÍNKA

Upozorňujeme čtenáře, že sdělení „Refrakční nitrooční čočky společnosti Alcon" MUDr. Angeliky Fialové, zveřejněné ve druhém čísle našeho časopisu na str. č. 92, je neoponovaná hrazená publikace.

Příloha 9

Ranibizumab u pacientů s vlhkou formou věkem podmíněné makulární degenerace – studie SUSTAIN

Odb. as. MUDr. Petr Kolář, Ph.D.

Oční klinika Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno

Úvod

Studie SUSTAIN (Study of Ranibizumab in Patients with Subfoveal Choroidal Neovascularization Secondary to Age-related Macular Degeneration) byla navržena ke zhodnocení účinnosti ranibizumabu (Lucentisu – Novartis Pharma AG Basel, Genentech, South San Francisco, California) v dávkovacím režimu pro re nata (PRN, tj. podle potřeby) u pacientů se všemi subtypy vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace. Standardní dávkovací schéma pro aplikaci ranibizumabu, které bylo ověřeno předchozími studiemi (ANCHOR, MARINA), zahrnuje měsíční intravitreální aplikaci (Brown, 2006, Rosenfeld, 2006). Hlavním cílem studie bylo proto ověřit, zdali dávkovací režim PRN povede ke snížení frekvence nutnosti intravitreální aplikace léčiva při zachovaní získané zrakové ostrosti.

Studie

SUSTAIN byl studií fáze IIIb. Jednalo se multicentrickou, otevřenou (open label), intervenční 12 měsíční studii. Jejím cílem bylo ověřit bezpečnost, toleranci a efekt ranibizumabu v dávce 0,3 mg u pacientů se subfoveolární chorioideální neovaskularizací (CNV) v rámci vlhké formy věkem podmíněné makulární degenerace (VPMD) (Sustain, 2009).

Cíl studie

Primárním cílem studie bylo stanovení incidence nežádoucích účinků (averse events – AE) ve skupině subjektů léčených ranibizumabem 0,3 mg při subfoveolární CNV v rámci vlhké formy VPMD.

Sekundární cíle byly následující:

Monitorace změny průměrné zrakové ve 3. a 12. měsíci proti začátku studie.

Dalším cílem bylo zjištění změny průměrné centrální tloušťky sítnice ve 3. a 12. měsíci proti počátku studie.

Posledním velmi důležitým cílem bylo zjištění průměrné doby, která uplyne do prvního retreatmentu (opakované léčby) a celkový počet aplikací ranibizumabu, které byly v průměru aplikovány ve sledovaném souboru po dobu 12 měsíců (Sustain, 2009).

Soubor pacientů

Do studie bylo zahrnuto 531 pacientů. Studie byla zahájena v dubnu 2006. Finální výsledky byly zhodnoceny poprvé v dubnu 2008. Byli zařazeni jak neléčení (treatment naive) pacienti (N=513), tak pacienti z předchozí studie ANCHOR (N=13) (Sustain, 2009). Doposud byla ale publikována data interim analýzy, které zhodnocují 12 měsíční výsledky u souboru 69 subjektů (Meyer, 2008)

Zařazovací kritéria

Hlavními zařazovacími kritérii byly věk nad 50 let, zjištěná aktivní primární, nebo recidivující CNV všech subtypů (převážně klasická, minimálně klasická, okultní) v subfoveolární lokalizaci v rámci vlhké formy VPMD. Celková plocha CNV musela tvořit více než 50 % plochy léze. Celková velikost léze nesměla přesáhnout 12 ploch disku (PD). Nejlepší korigovaná zraková ostrost musela být v rozmezí 73 – 24 znaků ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) optotypu včetně (přibližně tedy 20/40 – 20/320) (Sustain, 2009).

Vyřazovací kritéria

Vyřazeny byly subjekty, jejich zraková ostrost byla nižší než 34 znaků na ETDRS optotypu na obou očích (praktická slepota je definována jako NKZO nižší než 20/200, nebo méně než 34 znaků).

Dalším vyřazovacím kritériem byla provedená klasická laserová fotokoagulace, použití intravitreální aplikace steroidů, fotodynamické terapie s verteporfinem, nebo pegaptanibu sodného v intervalu menším než 30 dnů před vstupem subjektu do studie.

Vyřazovacím kritériem byla taky předchozí participace subjektu v klinickém hodnocení zahrnující antiangiogenní látky jako pegaptanib, ranibizumab, anecortave acetát, inhibitory proteinkinázy C (Sustain, 2009).

Léčba

Léčebné schéma bylo rozděleno na 2 fáze. První fáze byla nazvána zahajovací (loading) a druhá udržovací (maintenance) (Mitchell, 2009).

V zahajovací fázi obdržely subjekty intravitreální aplikaci ranibizumabu ve dni 0 a dále další dvě aplikace v odstupu 4 týdnů. Celkem se tedy v průběhu zahajovací fáze jednalo o tři aplikace. Poslední aplikace této fáze proběhla ve 2. měsíci studie.

V udržovací fázi byl ranibizumab intravitreálně aplikován pouze pokud subjekt splnil předem definovaná kritéria. Injekce byla tedy aplikována pokud NKZO klesla o více než 5 znaků ETDRS optotypu, anebo pokud narostla centrální tloušťka sítnice o více než 100 mikrometrů od nejnižší hodnoty, která byla naměřena během zahajovací fáze. Léčba nebyla indikována, pokud byla zraková ostrost lepší, nebo rovna hodnotě 0,8 logMAR (79 znaků), dále pokud byla centrální tloušťka sítnice rovna, anebo menší než 225 mikrometrů a dále v případě, že po 3 po sobě jdoucích aplikacích došlo ke zlepšení o méně než 5 znaků, nebo snížení centrální tloušťky sítnice o méně než 50 mikrometrů (Holz, 2008, Mitchell, 2009).

Od 22. 1. 2007 byla změněna na základě doporučení EMEA (European Medicines Agency) dávka ranibizumabu z 0,3 mg na 0,5 mg. Změna se aktuálně týkala 32,8 % léčených subjektů (Holz, 2008).

Průběh sledování

Studii ukončilo a na poslední návštěvu ve 12. měsíci v době interim analýzy 69 subjektů.

Výsledky

Interim analýza potvrdila dobrý bezpečnostní profil intravitreálně aplikovaného ranibizumabu. Nejčastějším očním nežádoucím účinkem byl pokles zrakové ostrosti, dále retinální hemoragie, zvýšení nitroočního tlaku. Nejčastějším celkovým nežádoucím účinkem byla nasofaryngitida, hypertenze (Holz, 2008).

Interim analýza studie SUSTAIN prokázala pozitivní efekt na zlepšení zrakové ostrosti v průběhu sledovacího období. Na konci zahajovací fáze byl tento zisk +5,8 znaku ETDRS optotypu a na konci sledovacího období to bylo+7 znaku. Stejně tak došlo k poklesu centrální tloušťky sítnice o 74,4 mikrometrů (Holz 2008).

Průměrný počet aplikovaných dávek byl 5,3 (2-10) během 12 měsíců sledování (Holz, 2008).

Diskuze

Interim analýza studie SUSTAIN prokazuje pozitivní vliv ranibizumabu na zlepšení NKZO a snížení centrální tloušťky sítnice u vlhké formy VPMD. Průměrný počet aplikací se pohybuje kolem hodnoty 5,3 aplikace (Holz, 2008).

Nejvyšší bendit na NKZO byl vysledován během udržovací fáze subjektů s poklesem zrakové ostrosti o více než 5 znaků, který se vyskytl před dobou, která není delší než 1 měsíc, přičemž kompletního zotavení není ale obvykle dosaženo jen jednou aplikací.

Studie SUSTAIN prokazuje, že flexibilní dávkovací schéma PRN založené na kontrole zrakové ostrosti a centrální tloušťky sítnice, vede k zachování počátečního zisku NKZO dosaženého v zahajovací fázi, tj. po prvních 3 aplikacích. Výsledky studií MARINA a ANCHOR, kde byl ranibizumab podáván v měsíčních intervalech dosahují lepších výsledků.

Literatura

Brown D., M., Kaiser P.. K., Michels M., et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2006, 355, p. 1432-44.

Holz, F., G. SOE: flexibly dosed ranibizumab in patients with neovascular AMD: twelve-month interim results in Sustain Trial. Abstract PA078 presented at the AAO/SOE Joint Annual Meeting, 8-11 November, Atlanta. c 2008, last update November 2008 (cit. 15.11.2009) <http://www.aao.org/aao/customcf/onlineprogram2008/tnt_getevtlongaao02.cfm?subsystem=MTG&primary_id=AM08&secondary_id=PA078>.

Meyer, C., H., Eter, N., Holz, F., G., et al. Ranibizumab in patients with subfoveal choriodal neovascularisation secondary to Age-related macular degeneration from the SUSTAN trial (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008, 49, E-abstract 273.

Mitchell, P., Korobelnik, J., F., Lanzetta, P., et al. Ranibizumab (Lucentis) in neovascular Age-related macular degeneration: evidence from clinical trials. *Br J Ophthalmol*. 2009, 0, p. 1-12.

Rosenfeld P.J., Brown D. M., Heier J. S., et al. (2006) Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2006, 355, p. 1419-1431.

Sustain - Study of Ranibizumab in Patients With Subfoveal Choroidal Neovascularization Secondary to Age-Related Macular Degeneration (online). c 2009, last update, November, 12, 2009 (cit. 15.11.2009). Dostupné z: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00331864>.

Příloha 10

Význam matematického zpracování obrazu sítnice u diabetické retinopatie

Kolář P.*, Štarha P.*, Hájek D.**, Vlková E.*, Druckmüller M.*****

Oční klinika FN, Brno-Bohunice*, přednosta prof. MUDr. Eva Vlková, CSc.
**Ústav patologické fyziologie Masarykovy univerzity, Brno, přednosta prof. MUDr. Jiří Vácha, DrSc.
***Ústav matematiky Fakulty strojního inženýrství Vysokého učení technického v Brně, ředitel ústavu prof. RNDr. Alexander Ženíšek, DrSc.

Souhrn

V práci autoři ověřují, zda při hodnocení stupně závažnosti diabetické retinopatie lze využít metodu matematického zpracování obrazu sítnice pomocí počítače. Tato metoda je založena na identifikaci cévních zakončení v zobrazené oblasti sítnice. Je stanoven předpoklad, že s růstem závažnosti nálezu roste i počet cévních zakončení ve spojitosti s procesem neogeneze.

Ke zjištění počtu cévních zakončení autoři používají metodiku Adaptive Contrast Control (ACC). Speciálním postupem jsou identifikována cévní zakončení a je stanoven jejich počet na sledované ploše sítnice. Metoda umožňuje určit kromě počtu cévních zakončení také celkovou délku cév, jejich objem, povrch, plochu, kterou pokrývají, a histogram velikosti průměru cév.

Bylo vyšetřeno 19 pacientů (38 očí) se zcela fyziologickým nálezem na sítnici. Průměrný věk v souboru byl 37,3 roku. Dále bylo vyšetřeno 10 pacientů (20 očí) se středně pokročilou a pokročilou diabetickou retinopatií a 10 pacientů (20 očí) s rizikovou proliferativní diabetickou retinopatií. U každého pacienta byla provedena standardní digitální fotografie očního pozadí obou očí ve formátu „tif" a každý ze snímků byl podroben matematické analýze. Soubor pacientů byl rozdělen na 3 skupiny (pacienti s fyziologickým nálezem, nálezem neproliferativní a nálezem proliferativní diabetické retinopatie).

V závěru autoři prokazují, že se zvyšujícím se stupněm závažnosti nálezu na retině roste i počet cévních zakončení.

Klíčová slova: diabetická retinopatie, matematické zpracování obrazu sítnice, Adaptive Contrast Control (ACC), počet cévních zakončení

Summary

Importance of Mathematical Processing of the Retinal Image in Diabetic Retinopathy

The authors test whether for evaluation of the severity of diabetic retinopathy it is possible to use the method of computer assisted mathematical processing of the retinal image. This method is based on the identification of vascular endings in the visualized part of the retina. It is assumed that with the severity of the finding the number of vascular endings increases in conjunction with the process of neogenesis.

For assessment of the number of vascular endings the authors use the Adaptive Contrast Control (ACC) method. By a special procedure the vascular endings are identified and their number is assessed in the investigated area of the retina. The method makes it possible to assess in addition to the number of vascular endings also the total length of the vessels, their volume, surface, area they cover and the histogram of the diameter of the vessels.

Předneseno na III. Vejdovského olomouckém vědeckém dnu v Olomouci dne 23. 3. 2002

The authors examined 19 patients (38 eyes) with a quite normal finding on the retina. The mean age of the group was 37.3 years. Moreover they examined 10 patients (20eyes) with middle advanced and advanced non-proliferative diabetic retinopathy and 10 patients (20 eyes) with risk proliferative diabetic retinopathy. In every patient a standard digital photograph of the fundus of both eyes size "tif" was made and each picture was subjected to mathematical analysis. The group of patients was divided into three sub-groups (patients with a normal finding, a non-proliferative finding and a finding of proliferative diabetic retinopathy).

In the conclusion the authors provide evidence that with increasing severity of the finding on the retina also the number of vascular endings increases.

Key words: diabetic retinopathy, mathematical processing of the retinal image, Adaptive Contrast Control (ACC), number of vascular endings

Čes. a slov. Oftal., 59, 2003, No. 3, p. 160 - 170 **O.**

ÚVOD

Nález diabetické retinopatie (DR) na očním pozadí s diagnózou diabetu spojil v roce 1950 Ashton [1]. V roce 1960 bylo referováno o využití laserové fotokoagulace k omezení vaskulárních komplikací DR Meyer-Schwickerathem [7]. Navzdory tomu ještě v roce 1967 Duke-Elder míní ve své učebnici oftalmologie, že oční komplikace diabetu „nelze preventivně léčit a že jsou relativně neléčitelné" [2]. Zavedení laserové léčby a pars plana vitrektomie do terapie DR v 70. letech představovalo velký průlom. Byly zahájeny rozsáhlé studie s cílem ověřit efektivitu těchto terapeutických postupů v zachování užitečného vizu diabetiků. Jako první byla zahájena Diabetic Retinopathy Study (1976) [11], která ukázala, že riziko těžké ztráty zraku u pacientů s proliferativní DR může být redukováno o 60 % při provedení panretinální laserové fotokoagulace. Další studie v polovině 80. let nazvaná Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (EDTRS) [3] prokázala, že fokální laserová koagulace makuly zásadně redukuje riziko ztráty zrakové ostrosti u pacientů s diabetickým makulárním edémem. Ve stejném období probíhala i další studie Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study (DRVS) [12], která prokázala, že diabetici 1. typu s těžkými sklivcovými hemoragiemi profitují z časně provedené pars plana vitrektomie, oproti odložené chirurgické intervenci.

Počet diabetiků se ve světě rychle zvyšuje především vlivem diabetu 2. typu, ale pozoruje se i alarmující nárůst diabetu 1. typu [8]. Velmi nepříznivé pro kvalitu života pacienta jsou především chronické komplikace. Jednou z nejvýznamnějších je DR. V zemích vyspělého světa představuje nejčastější příčinu slepoty v populaci lidí do 65 let věku. V USA ročně oslepne 5800 pacientů na následky DR. Po několik prvních let od vzniku onemocnění je DR poměrně vzácná, avšak po 5 letech se její kumulativní incidence rychle zvyšuje až na více než 90 %, kterých dosahuje za 20 let od stanovení diagnózy diabetu [10]. Je zjištěno, že asi 25 % diabetické populace je postiženo některým stupněm DR a kolem 5 %–10 % pacientů je postiženo nejtěžším stupněm DR tj. proliferativní DR. Diabetická retinopatie je mikroangiopatií, tj. postižením sítnice na vaskulárním podkladě u pacientů s diabetes mellitus. Je shodná s mikrovaskulárními abnormalitami, které postihují jiné orgány diabetiků [6].

Podkladem očních komplikací diabetu je postižení sítnicových cév, a to v prvé řadě kapilár. Histologicky nalézáme úbytek endoteliálních buněk, zánik pericytů a ukládání glykoproteinů v bazální membráně kapilár. To ve svém důsledku vede k postižení kapilární stěny, tvorbě výdutí (mikroaneuryzmat). Postupně dochází vli-

vem ztlušťování bazální membrány kapilár k jejich obliteraci a snížení perfuze, což vyvolává hypoxii sítnice. Hypoxie poté ve svém důsledku vede k produkci vazoproliferativních faktorů, které jsou iniciátory procesu neovaskularizace [4, 9].

Existuje mnoho schémat pro dělení diabetické retinopatie. Doposud nejjednodušší a zároveň nejnázornější a v našich učebnicích a praxi nejpoužívanější je rozdělení DR do 3 stupňů [4] (viz tab. 1).

Tab. 1. Původní klasifikace diabetické retinopatie

1. prostá	retinopathia diabetica simplex
2. preproliferativní	retinopathia diabetica praeproliferans
3. proliferativní	retinopathia diabetica proliferans

Tab. 2. Doporučená nová klasifikace diabetické retinopatie

Neproliferativní DR	Proliferativní DR
1. počínající (incipens)	1. neovaskularizace na sítnici
	2. neovaskularizace na disku
2. středně pokročilá (modica)	Proliferativní DR (z hlediska dynamiky)
3. pokročilá (gravis)	1. počínající
	2. vysoce riziková

Na druhém setkání zástupců České vitreoretinální společnosti se zástupci České diabetologické společnosti 14. 6. 2001 v Praze došlo k připomínkování standardů klasifikace DR. Byly dořešeny sporné otázky klasifikace DR. Klasifikace DR byla též předmětem sdělení as. Dr. Kalvodové na 9. výročním sjezdu České oftalmologické společnosti v Brně 5.–7. 10. 2001 a bylo navrženo toto základní dělení (viz tab. 2).

Další velmi podrobná klasifikace byla navržena v polovině 80. let minulého století v rámci studie EDTRS. Tato klasifikace je velmi podrobná a je používána pro studie prováděné v rámci výzkumu a terapie DR [3].

Základním cílem terapie diabetu je jeho stabilizace, čímž se dosáhne i stabilizace diabetické retinopatie. Opatření vedoucí ke stabilizaci diabetu byla taktéž diskutována v rámci Druhého setkání zástupců České vitreoretinální společnosti se zástupci České diabetologické společnosti 14. 6. 2001 v Praze. Základní léčebné cíle byly stanovena takto:

1. Lačná glykémie $\leq$ 6,5 mmol/l
2. Glykémie za hodinu po jídle $\leq$ 9 mmol/l
3. HbA1c $\leq$ 7,5 %
4. Celkový cholesterol v séru $\leq$ 5 mmol/l
5. Triacylglyceroly v séru $\leq$ 2 mmol/l
6. Krevní tlak $\leq$ 130/85

Terapie DR spočívá především v dokonalé prevenci, a to ve smyslu dobré kompenzace diabetu do rámců uvedených výše. Diabetiky je ale třeba upozornit, že onemocnění se vyvíjí plíživě a nepozorovaně a pouze pravidelná oftalmologická vyšetření jej mohou včas odhalit [4, 5, 9].

Terapie počínajících forem DR vazoprotektivy je diskutována. Probíhají velké klinické studie s cílem ověření jejich účinku (calium dobesilát, ACE inhibitory).

Ve stadiu klinických zkoušek jsou taktéž antagonisté vazoproliferativních faktorů (somatostatin). Tyto zkoušky se zdají být podle posledních sdělení velmi nadějnými. Vedou ve vysokém procentu ke stabilizaci nálezu.

Základním terapeutickým postupem při léčbě diabetické retinopatie je laserová fotokoagulace [11]. Její efekt byl potvrzen již v roce 1976 při zveřejnění výsledků Diabetic retinopathy study [11]. Laserová fotokoagulace přeměňuje hypoxické oblasti sítnice na chorioretinální jizvy a zlepšuje tím oběhové poměry ve zbylých okrscích. Tím

dochází k omezení produkce vazoaktivních faktorů v sítnici a k potlačení neovaskularizací.

CÍL PRÁCE

V naší práci jsme hodlali ověřit, zda při hodnocení stupně závažnosti lze využít metodu matematického zpracování obrazu sítnice pomocí počítače. Tato metoda je založena na identifikaci cévních zakončení v zobrazené oblasti sítnice. Je stanoven předpoklad, že s růstem závažnosti nálezu roste i počet cévních zakončení ve spojitosti s procesem neogeneze.

METODIKA

Obvyklá metodika

Obvyklá metodika stanovení stupně závažnosti je založena na vyšetření nálezu na očním pozadí v arteficiální mydriáze lékařem. Kvalita hodnocení závisí na zkušenostech a praxi vyšetřujícího lékaře. Porovnání nálezu u jednoho pacienta v průběhu času se i přes sebepodrobnější popis nálezu, a to i pokud je hodnocen jedním lékařem, stává taktéž problematickým.

Další možností obvyklé metodiky, která je používána především k hodnocení velkých klinických studií je hodnocení stupně závažnosti nálezu dle klasifikace EDTRS. Toto hodnocení vyžaduje foto očního pozadí v 7 standardních polích v pseudostereu na barevných diapozitivech. Jde asi o nejpřesnější ale i nejnáročnější metodiku, která vyžaduje velkou zkušenost ke klasifikaci jednotlivých nálezů a je časově velmi náročná.

Metodika matematického zpracování obrazu sítnice

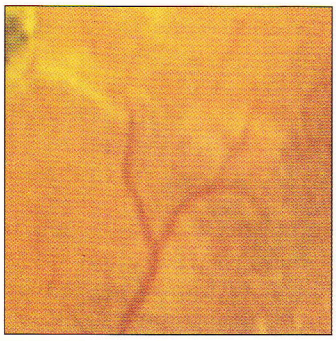
Metodika matematického zpracování obrazu sítnice co do doby svého původu je velmi mladá. Byla vypracována a do praxe uvedena v roce 2000 kolektivem brněnských autorů z Ústavu matematiky Fakulty strojního inženýrství VÚT ve spolupráci s autory z Oční kliniky FN Brno a Ústavu patologické fyziologie LF MU Brno.

Celá metodika je založena na tom, že jsou speciálním postupem identifikována cévní zakončení a je stanoven jejich počet na sledované ploše sítnice. Metoda umožňuje určit kromě počtu cévních zakončení také celkovou délku cév, jejich objem, povrch, plochu, kterou pokrývají, a histogram velikosti průměru cév.

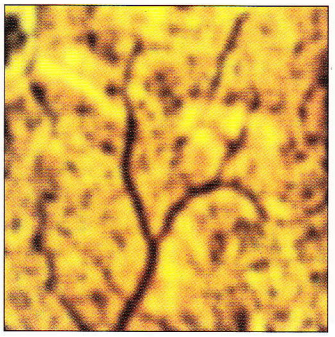
Výhodou metodiky je nižší pracnost, možnost zpracovávat různá média, na kterých jsou zachyceny snímky sítnice (digitální snímky, barevné a černobílé fotografie a diapozitivy), možnost archivace výsledků a jejich porovnávání v čase u téhož pacienta (hodnocení progrese či regrese nálezu) a v neposlední míře i objektivita hodnocení, které není zatíženo subjektivním pohledem hodnotícího lékaře.

Popis metod pro odhad parametrů struktur

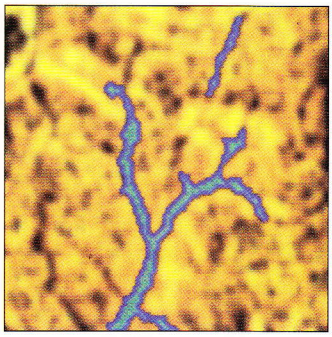
Předtím, než se začne s analýzou cévních struktur, je potřeba originální snímek zpracovat metodou ACC (Adaptive Contrast Control), která umožňuje v obraze zvýraznit definované struktury (obr. 1, 2).



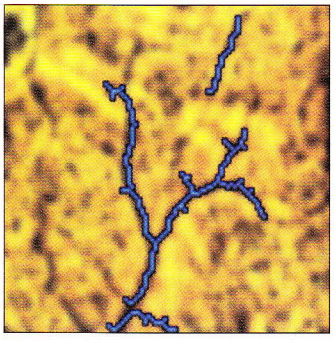
Obr. 1. Originální snímek



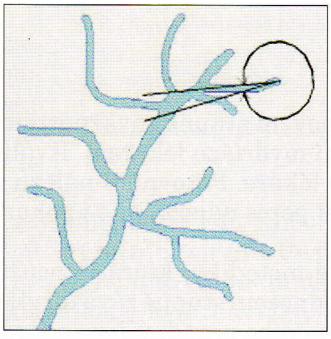
Obr. 2. Snímek zpracovaný metodou ACC



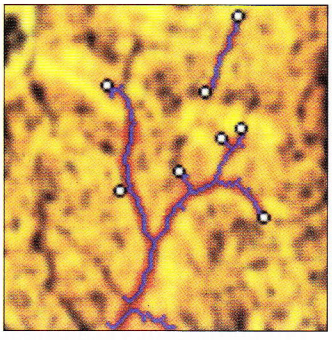
Obr. 3. Snímek s identifikací cév před analýzou



Obr. 4. Snímek s jednobodovou křivkou Γ



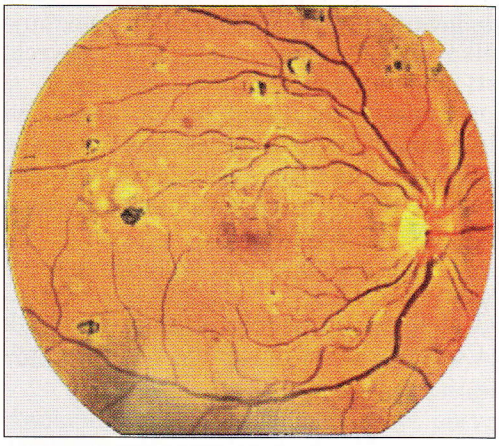
Obr. 5. Princip identifikace cévního zakončení



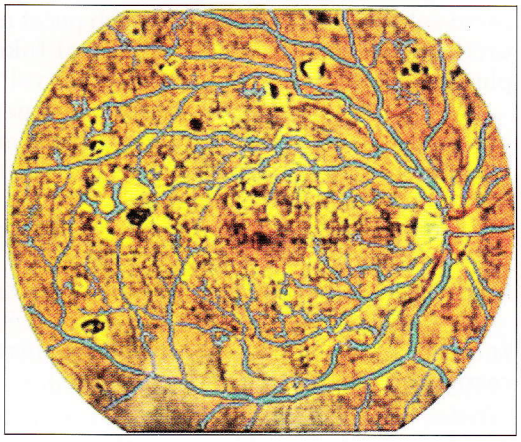
Obr. 6. Bílé kroužky znázorňují místo identifikace cévního zakončení

Dále je třeba vhodnou metodou identifikovat celý cévní systém, abychom měli jednoznačně odděleny cévy od pozadí (obr. 3).

Dalším krokem je nalezení jednobodové čáry, která se nachází ve středu cévy a tím tvoří čárový cévní systém. Nalezení jednobodové středové čáry se provádí



Obr. 7. Originální snímek



Obr. 8. Snímek po celkové analýze

metodou podmíněné eroze. Objekt, který identifikuje cévu, se zužuje tak dlouho, dokud je širší než jeden obrazový bod, ale objekt se nesmí rozpadnout na více částí. Tímto dostáváme křivku Γ (obr. 4).

Dále v každém bodě křivky Γ vypočteme poloměr cévy a tímto určíme funkci r(x,y).

Plocha cév je plocha, kterou v daném obraze pokrývají cévy. Tedy

$$Area = \iint_{\Omega} dxdy$$

kde oblast Ω je objekt identifikující cévy.

Povrch a objem cév se odhadne tak, že se předpokládá jejich kruhový průřez. Pokud známe poloměr cévy v daném místě, můžeme vypočítat celkový povrch

$$Surface = 2\pi \int_{\Gamma} r(x,y)dxdy,$$

kde r(x,y) je poloměr cévy v daném bodě křivky Γ, která tvoří čárový cévní systém. Celkový objem

$$Volume = \pi \int_{\Gamma} r^2(x,y)dxdy,$$

kde r(x,y) je poloměr cévy v daném bodě křivky Γ, která tvoří čárový cévní systém.

Celková délka cév se určí tak, že vypočítáme celkovou délku křivky Γ,

$$Lenght = \int_{\Gamma} dxdy,$$

kde Γ je křivka, která tvoří čárový cévní systém.

Histogram velikosti průměru cév je histogram, který určuje četnost výskytu cév daného průměru. Intervaly jednotlivých tříd si uživatel může volit sám, nebo může určit jen počet tříd a šíře tříd se zvolí automaticky. Četnost dané třídy představuje celkovou délku cévy, která má průměr ležící v intervalu příslušné třídy.

Počet cévních zakončení – zakončení cévy se identifikuje tak, že se pokoušíme na každém konci křivky Γ vykreslit kružnici o poloměru, který si můžeme zvolit. Velikost poloměru může být i interval. Po vykreslení kružnice změříme vnější maximální úhel pro dané poloměry. Vnějším úhlem se rozumí úhel kruhové výseče o daném poloměru, která neprotíná oblast cévy. Pokud tento úhel padne do požadovaného intervalu hodnot, který si též volíme, zakončení křivky Γ se označí jako zakončení cévy. Změnou intervalu velikosti poloměru kružnice a velikosti úhlu ovlivňujeme, jak velké a jak ostré zakončení se bude identifikovat. Princip kružnice a úhlu je znázorněn na dalších obrázcích (obr. 5, 6).

Příklad analýzy snímku očního pozadí

Na dalších dvou snímcích je ukázána analýza očního pozadí (obr. 7, 8).

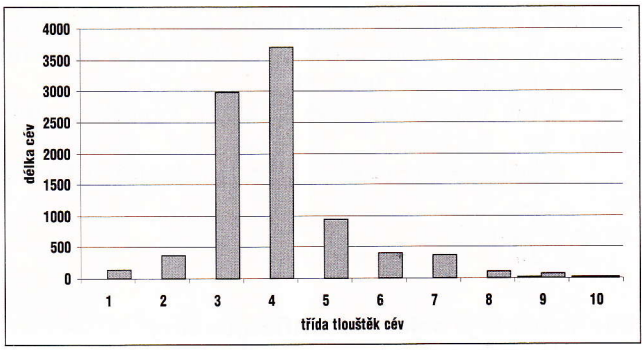
Numerické výsledky analýzy snímku sítnice na obr. 8 jsou následující:

Jednotky: [pixels]
Plocha = 41056
Objem = 171400,3

Povrch = 150026,8
Délka = 12061,0
Počet zakončení = 294

Histogram:

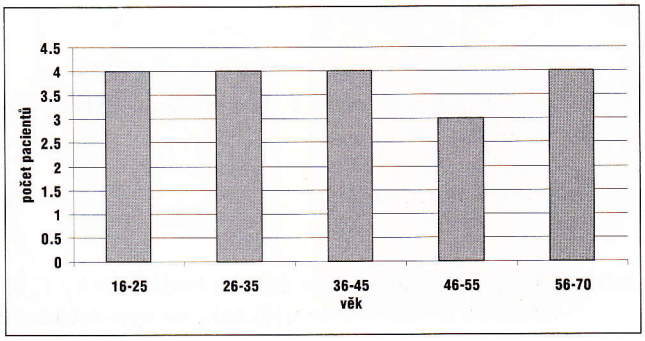
Celková délka cévy náležící do příslušné tloušťkové třídy je zobrazena na grafu 1.



Graf 1. Cévní histogram

Formát obrázků použitý k matematickému zpracování

K provedení matematické analýzy je možné použít víceméně jakýkoliv obrázek očního pozadí. Ve svém důsledku to znamená, že můžeme použít barevnou nebo černobílou fotografii, či diapozitiv, který je možné po naskenování na scaneru zpracovat. Dále je možné použít obrázky očního pozadí, které jsou v digitální podobě z některého z digitálních zobrazovacích systémů. V našem případě používáme digitalizované obrázky sítnice ve formátu „tif", které poté dále bez potřeby skenování zpracováváme.



Graf 2. Věkové rozvrstvení pacientů s fyziologickým nálezem

Výběr úhlu záběru a umístění snímku na fundu

K fotografování očního pozadí používáme funduskameru firmy Fopcon typu TRC 50 IX v kombinaci s digitálním zobrazovacím systémem Image net taktéž firmy Topcon. Velmi důležitou otázkou je volba velikosti úhlu záběru a lokalizace středu snímku do určité oblasti sítnice.

Nejčastěji jsou používány úhly záběru od 45 k 60 stupňům v jednom, či dvou polích, která se částečně překrývají. Středy polí jsou většinou lokalizovány do středu makuly a na nasální okraj optického disku.

Finští autoři [13] porovnávali výtěžnost zobrazení pod úhlem 45° a 60° co do senzitivity k zachycení neovaskularizace lokalizované mimo optický disk (NVEs). S výsledků vyplývá následující. Snímek pod úhlem 60° se středem umístěným do středu makuly má výtěžnost v zachycení NVE 73 %, Snímek pod úhlem 60° se středem v optickém disku 90 %. Snímky pod úhlem 45° mají výtěžnost o něco menší.

Neovaskularizace, o jejichž detekci nám především jde, jsou ze 60 % lokalizovány na disku (NVD), či ve vzdálenosti menší než 1 PD. Zbylá část tj. 40 % neovaskularizací je lokalizována mimo disk (NVE). 59 % NVEs se nachází v temporálních kvadrantech, kde se vyskytují predilekčně zóny non-perfuze [9].

Naše funduskamera má k dispozici úhly záběru 20°, 35° a 50°. Úhel záběru 50° koresponduje velmi těsně s klasickým zobrazením pod úhlem 60°. K focení standardně používáme úhel 50° a snímek centrujeme na střed makuly. V budoucnu se hodláme

samozřejmě zaměřit i na sledování výtěžnosti snímků lokalizovaných i na střed disku a jiná místa sítnice.

Soubory pacientů

Soubor pacientů, kteří byli vyšetřeni pomocí metodiky matematického zpracování obrazu, je rozdělen do 2 částí. První soubor zahrnuje pacienty s fyziologickým retinálním nálezem, druhý soubor zahrnuje pacienty s diabetickou retinopatií.

Soubor byl zařazen pro nakalibrování metodiky, tj. zjištění variability počtu zakončení u pacientů s normálním retinálním nálezem.

Bylo vyšetřeno 19 pacientů (38 očí) se zcela fyziologickým nálezem na sítnice. Průměrný věk v souboru byl 37,3 roku, přičemž nejmladšímu pacientovi bylo 16 a nejstaršímu 69 let. Věkové rozvrstvení souboru bylo proporcionální ve všech věkových kategoriích a je znázorněno na grafu 2.

U každého pacienta byla provedena standardní digitální fotografie očního pozadí obou očí ve formátu „tif" a každý ze snímků byl podroben matematické analýze. V tabulkách 3 a 4 je uveden příklad hodnocení výsledků u jednoho z pacientů, který získáme jako výstup po provedení matematické analýzy.

Všechny hodnoty byly pečlivě zpracovány a bylo provedeno vyhodnocení průměrného počtu cévních zakončení u pacientů s fyziologickým nálezem odděleně v pravém a levém oku a v obou očích současně. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 5.

Jak je patrno, že maximum pacientů se nachází kolem hodnoty 120 zakončení, což odpovídá i vypočtenému průměrnému počtu zakončení, který v obou očích činí 119,44 ± 15,55. Směrodatná odchylka taktéž ukazuje, že variabilita v počtu cévních zakončení není vysoká, a to tedy znamená, že počet cévních zakončení u očí s fyziologickým nálezem je poměrně konstantní a kolísá minimálně. Rozdíl v počtu zakončení mezi pravým a levým okem při fyziologickém nálezu není statisticky významný.

Graf 3 zobrazuje rozvrstvení počtu zakončení u pacientů v souboru s normálním nálezem na sítnici.

Tab. 3. Příklad výsledků matematické analýzy

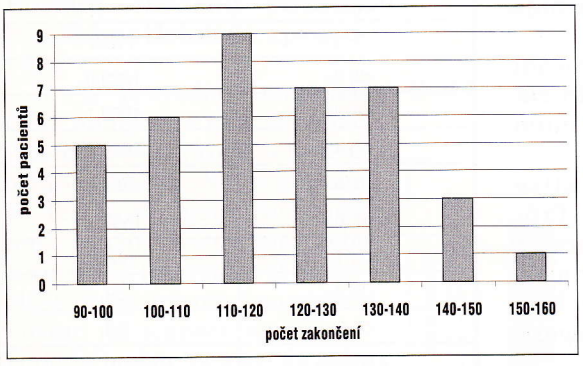
OD	1
Area	51248
Volume	182611,3
Surface	170795,5
Length	14496,8
Histogram	
<1; 1>	778,2
<2; 2>	1329,9
<3; 3>	4950,1
<4; 4>	3528,1
<5; 5>	1965,2
<6; 6>	1555,1
<7; 7>	322,1
<8; 8>	59
<9; 9>	9,1
<10; 10>	0
Number of endings	147
Units	[pixels]

Tab. 4. Příklad výsledků matematické analýzy

OS	1
Area	46597
Volume	171074,6
Surface	157742,5
Length	13313
Histogram	
<1; 1>	732,9
<2; 2>	1209,5
<3; 3>	4506,7
<4; 4>	3331,4
<5; 6>	2983,7
<7; 7>	361,5
<8; 8>	161,2
<9; 9>	24,9
<10; 10>	1,2
<11; 11>	0
Number of endings	138
Units	[pixels]

Tab. 5. Počet cévních zakončení u pacientů s fyziologickým nálezem

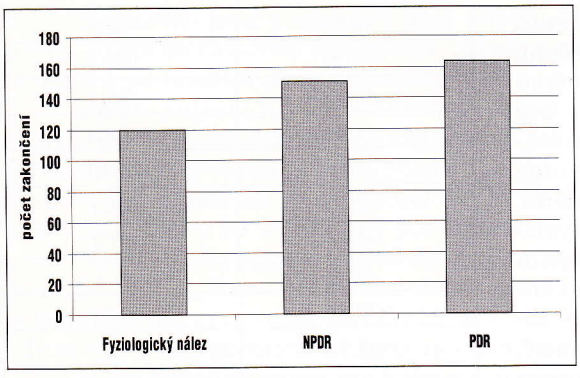
	Počet cévních zakončení
OD	119,42±16,88
OS	119,47±14,54
ODS	119,44±15,97



Graf 3. Počet cévních zakončení u pacientů s fyziologickým nálezem

Tab. 6. Počet cévních zakončení u pacientů s NPDR a PDR

	Počet cévních zakončení u NPDR	Počet cévních zakončení u PDR
OD	147,33±11,15	165,20±12,33
OS	155,00±12,73	161,46±10,36
ODS	150,40±10,99	163,33±10,69



Graf 4. Počet cévních zakončení u pacientů s fyziologickým nálezem, nálezem NPDR a PDR

Soubor pacientů s neproliferativní a proliferativní diabetickou retinopatií

Do tohoto souboru byli zařazeni pacienti s nálezem středně pokročilé a pokročilé neproliferativní diabetické retinopatie (NPDR) a rizikové proliferativní diabetické retinopatie (PRD). Pacienti s neproliferativní a proliferativní retinopatií byli hodnoceni zvlášť, abychom prokázali eventuální rozdílnost v počtu cévních zakončení vzhledem k tíži nálezu.

Bylo vyšetřeno 10 pacientů (20 očí) se středně pokročilou a pokročilou diabetickou retinopatií a 10 pacientů (20 očí) s rizikovou proliferativní diabetickou retinopatií.

U každého pacienta byla provedena standardní digitální fotografie očního pozadí obou očí ve formátu „tif" a každý ze snímků byl podroben matematické analýze.

Bylo provedeno vyhodnocení průměrného počtu cévních zakončení u pacientů s nálezem NPDR a PDR odděleně v pravém a levém oku a v obou očích současně.

Všechny hodnoty byly pečlivě zpracovány a výsledky jsou shrnuty do tabulky 6.

Z výše uvedených výsledků vyplývá, že s tíží nálezu na očním pozadí roste i počet cévních zakončení. Rozdíl v počtu zakončení mezi pravým a levým okem je dán rozdílností v tíži nálezu mezi oběma očima.

Porovnání souborů

V grafu 4 je zpřehledněn rozdíl v počtu cévních zakončení mezi souborem pacientů s fyziologickým nálezem, nálezem NPDR a PDR.

DISKUSE

Ve své práci jsem se snažil ověřit, zda lze při hodnocení stupně

závažnosti nálezu na sítnici využít metodu matematického zpracování obrazu sítnice pomocí počítače.

Jako první byl zhodnocen soubor pacientů s fyziologickým nálezem. Do této analýzy jsem vstupoval s určitými rozpaky, protože nešlo dopředu předpokládat, jaký bude počet zakončení v očích s fyziologickým nálezem, a zda nebude příliš velký rozptyl v těchto hodnotách. Ten by potom samozřejmě ztěžoval hodnocení a porovnání nálezů fyziologických s nálezy patologickými. Na základě provedené analýzy předpokládáme, že počet cévních zakončení u fyziologických očních nálezů je relativně stabilní a jeví poměrně velmi malý rozptyl. Hodnota počtu cévních zakončení se v tomto souboru pohybovala kolem 119 ± 15. Navíc bylo prokázáno, že není rozdílu mezi počtem cévních zakončení na pravém a levém oku, pokud je nález obou očí fyziologický. Tuto skutečnost šlo do jisté míry předpokládat, ale její opodstatněnost byla potvrzena až touto analýzou.

Je velmi pravděpodobné, že existuje příčinný vztah mezi tíží nálezu u proliferativní diabetické retinopatie a počtem cévních zakončení. Zdá se, že u proliferativní diabetické retinopatie stoupá počet cévních zakončení. Zde je zcela jistě na místě otázka, zda vzestup počtu cévních zakončení na základě neogeneze není na druhé straně kompenzován snižováním jejich počtu na základě zvětšování zón non-perfuze v souladu s obliterací kapilárního systému.

Naše zkušenosti a výsledky, které jsou uvedeny výše, prokazují, že proces neogeneze převyšuje nad procesem obliterace kapilárního systému. Jde tedy o jakousi reparační schopnost organismu, která je v jiných orgánech (např. ledvinách) fyziologická, a je vítána, ale v sítnici působí patologicky v souladu se změnou stavby stěny novotvořených cév, které jsou mnohem více permeabilní. Tuto příčinnou souvislost předpokládáme nejen v souboru pacientů s proliferativní, ale i středně pokročilou a pokročilou neproliferativní retinopatií. Zde si tento jev vysvětlujeme zvyšováním počtu intraretinálních mikrovaskulárních abnormalit, které jsou vlastně vyjádřením procesu neogeneze na retinální úrovni.

Možnosti metodiky matematického zpracování obrazu sítnice nejsou samozřejmě vyčerpány. Existují i další směry, kterými se lze vydat. Hodláme se například dále zaměřit na porovnání výtěžnosti jednotlivých polí (dle ETDRS) v souladu s finskými autory [13], kteří považují za více výtěžné hodnocení a zpracování snímků v souladu s polem 1 podle EDTRS (centrum snímku ve středu optického disku). Dle jejich výsledků je výtěžnost zachycení neovaskularizace v tomto poli při úhlu záběru 90 % oproti poli 2, které doposud používáme a které má výtěžnost 73 % [13].

Dále se chceme zaměřit na sledování úplně nové veličiny, kterou s kolegy z Ústavu matematiky FSI VÚT v Brně hodláme definovat, a to cévní hustotu na daném okrsku sítnice a její vývoj v čase. Tato veličina by mohla mít vztah k hodnocení vývoje nálezu v čase vzhledem k zónám non-perfuze. Dále chceme ověřit, zda by šlo tuto veličinu využít i k hodnocení diabetické makulopatie, tj. jejích stupňů a progrese v čase.

ZÁVĚR

Na základě dat hodnocených pomocí metodiky matematického zpracování obrazu sítnice je velmi pravděpodobné, že počet cévních zakončení v očích s fyziologickým nálezem je téměř konstantní veličinou, která jeví pouze velmi malý rozptyl hodnot. Dále předpokládáme, že není rozdílu v počtu zakončení mezi pravým a levým okem při fyziologickém nálezu na sítnici, což podporují i výsledky našich analýz.

Dále se zdá, že metodika matematického zpracování obrazu sítnice se jeví být nadějnou v hodnocení stupně závažnosti postižení sítnice středně pokročilou a pokročilou neproliferativní retinopatií a počínající a rizikovou proliferativní retinopatií. Na základě všech zhodnocených výsledků se zdá, že počet cévních zakončení úzce koreluje s procesem intraretinální a extraretinální neogeneze, což tedy znamená, že čím je nález na sítnici závažnější, tím větší počet cévních zakončení lze předpokládat.

Jedná se samozřejmě o první výsledky na menším souboru pacientů, proto hodláme soubory pacientů zvětšit, a tím ověřit nebo vyvrátit platnost využití dané metodiky v diagnostice a terapii diabetické retinopatie.

Tato práce je řešena v rámci vědeckého záměru „Netradiční metody studia komplexních a neurčitých systémů CEZ: J22/98:261100009".

LITERATURA

1. **Ashton, N.:** Injekction of retinal vascular system in the enucleated eye in diabetic retinopathy, Br. J. Ophthalmol., 1950, 34, 38–41.
2. **Duke-Elder, S.:** System of ophtalmology, Volume X-Diseases of the retina, St. Louis the C. V. Mosby Company, 1967.
3. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: Photocoagulation for diabetic macular edema, Arch. Ophthalmol., 1985, 103, 1796–1806.
4. **Kanski, J.:** Lehrbuch der klinischen Opthalmologie, Theime 1996, Stuttgart, New York.
5. **Klein, R., Klein, B., Moss, D., Davis, M., De Mets, D.:** The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years, Arch. Ophthalmology, 1984, 102, 527–532.
6. **Kordač, V. a kol.:** Vnitřní lékařství III., Avicenum 1989, Praha.
7. **Meyer-Schwickerath, G.:** Light fotocoagulation (Drance SM translator), Mosby Year Book, St. Louis 1960.
8. **Orchard, T.:** Diabetes a time for excitement and concern, Br. M. Journal, 1998, 317, 691–692.
9. **Regilio, C., Brown, G., Flynn, H.:** Vitreoretinal Disease the Essentials, Thieme 1999, New York, Stuttgart.
10. **Rossing, K., Lauritzen, E., Jacobsen, P. et al.:** Improved visual function in IDDM patients with unchanged cumulative incidence of sight-threatening diabetic retinopathy, Diabetes care, 1998, 21, 2007–2015.
11. The Diabetic Retinopathy Study Research Group: Preliminary report on effects on phocoagulation therapy, Am. J. Ophthalmol., 1976, 81, 383–396.
12. The Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group: Early vitrectomy for severe vitreous hemorrhage in diabetic retinopathy: two-year results of a randomized trial, Arch. Ophthalmol., 1985, 103, 1644–1652.
13. **Wendt, G. C., Heikkilä, K. V., Summanen, P. A.:** Detection of retinal neovascularisation using 45° and 60° photographic fields, Diabetes and Metabolism, 2001, 27, 2S3.

MUDr. Petr Kolář
Oční klinika FN Brno-Bohunice
Jihlavská 20
625 00 Brno

Příloha 11

European Journal of Ophthalmology / Vol. 15 no. 6, 2005 / pp. 782-786

Utilization of mathematical processing of retinal images with use of adaptive contrast control (ACC) method to detect quantity of vascular endings

P. KOLAR[1], P. STARHA[2], E. VLKOVA[1]

[1]Eye Clinic of University Hospital Brno, Masaryk University Brno, Brno
[2]Institute of Mathematics, Department of Mechanical Engineering, Technical Engineering College Brno, Brno - Czech Republic

PURPOSE. *The authors investigated whether the method of mathematical processing of retinal images with the use of a computer can be used to evaluate ocular background figures of patients with physiologic retinal findings. This method is based on identification of vascular endings in an examined retinal area. When the authors mention vascular endings, they do not refer to factual endings, but recognizable vascular endings; there are no endings in a vascular system.*
METHODS. *Adaptive contrast control (ACC) method was used to determine a number of vascular endings. The method is based on mathematical processing of a digitized retina picture with the use of a computer. On a digitized retinal picture, the vascular system is identified with the use of the conditional erosion methodology, and the number of vascular endings is then determined. The ACC method was used to process a file of retinal pictures of 38 patients (76 eyes) with physiologic retinal findings.*
RESULTS. *Based on the results of statistical analysis, the authors detected that the number of vascular endings showed a normal curve (Gaussian distribution, p=0.05). A tight correlation between quantities of vascular endings in the right and the left eyes was also detected, which means that the quantity of vascular endings in the right and the left eyes is in a very close correlation (p=0.05).*
CONCLUSIONS. *The authors highlight that the curve of the number of vascular endings of patients with physiologic retinal findings shows a Gaussian distribution. (Eur J Ophthalmol 2005; 15: 782-6)*

KEY WORDS. *Adaptive contrast control, Mathematical processing of retinal images, Physiologic retinal finding, Quantity of vascular endings*

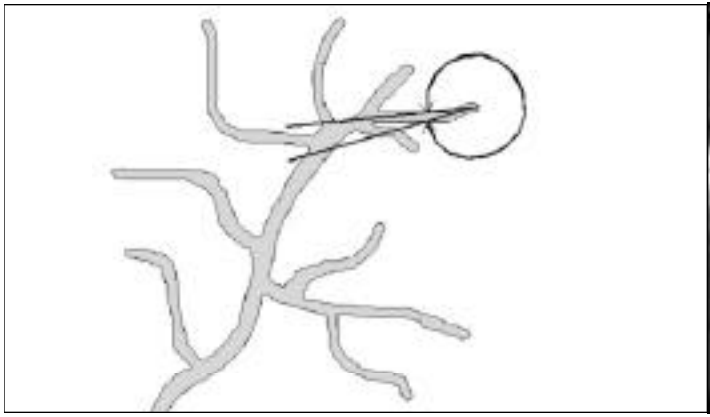
Accepted: April 4, 2005

INTRODUCTION

The aim of this study was to verify whether the method of mathematical processing of digitized retinal pictures can be used for determination of the number of vascular endings in eyes with physiologic retinal findings. When speaking about vascular endings, we do not mean factual endings, but recognizable vascular endings, as there are no endings in the vascular system.

We also aimed to verify that the quantity of vascular endings of patients with physiologic retinal findings shows a normal curve (Gaussian distribution) and to prove a close correlation between the quantity of vascular

1120-6721/782-05$15.00/0
© Wichtig Editore, 2005



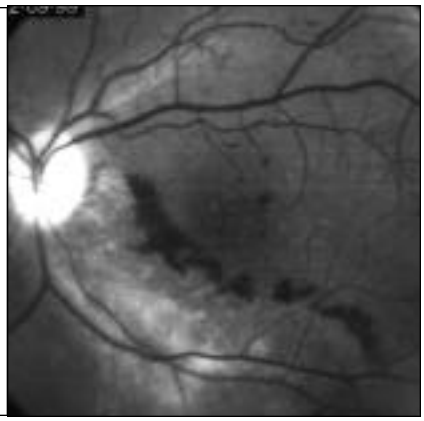


Fig. 1 - *Principle of vessel ending identification. By changing the size of the circle radius and the magnitude of the angle, it is possible to influence the size and sharpness of an ending.*

endings in the right and the left eyes (eyes with physiologic retinal findings).

The main clinical application of our results consists of the possibility to compare the number of vascular endings of patients with various retinal vascular diseases with the relevant numbers found for eyes of patients with physiologic retinal findings. Another clinical aspect of our study is represented by the possibility to determine the degree of severity of a clinical finding for particular retinal pathologies.

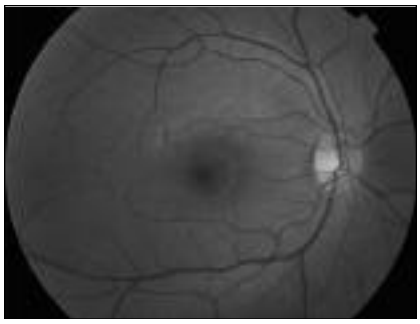


Fig. 2 - *Retinal image before processing.*

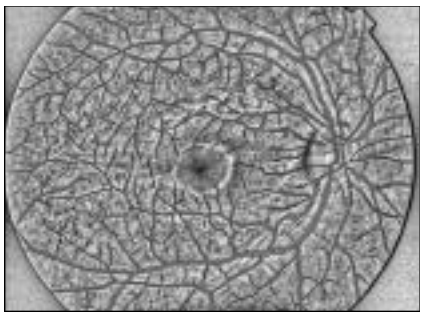


Fig. 3 - *Retinal image after processing using adaptive contrast control method.*

METHODS

To determine the quantity of vascular endings, the adaptive contrast control (ACC) method was used. The ACC method was developed and primarily practiced at the Institute of Mathematics, Department of Mechanical Engineering, Technical Engineering College Brno, in collaboration with the authors, from the Eye Clinic of University Hospital Brno, and the Institute of Pathological Physiology, Medical Faculty of Masaryk University Brno (1).

The ACC method is a software method that enables the user to identify vascular endings and determine their quantity in a monitored retinal area. Its advantages consist of the possibility to process data acquired by means of various media (retinal images from digital pictures, color, black and white photographs, slides), and the possibility to archive the results and compare the results of a particular patient in time (verification of progression or regression of findings).

Methods used for structural parameters estimation

The ACC method makes the defined structures distinct. Most suitable for processing by this method seems to be the images acquired in the red-free mode. In this mode, the green part of the color spectrum is most distinct. This part of a color spectrum gives the best image of the vascular system, as the difference between the red color (representing blood vessels) and the orange color (representing retina) consists of the content of the green part of the spectrum. The acquired good contrast picture is apt for further processing. Modification of the adaptive contrast change method consists of the fact that the luminance part is not defined as a weighted average of individual parts, but it is determined that the luminance picture is consistent with the intensity of the green part of the original colored image.

It is possible to proceed to segmentation of an image,

and thus start identification of the vascular system. First, it is useful to choose particular attributes of pixels. These attributes are represented by brightness, intensity of particular color parts, and especially by the pixel color. It is possible to identify the whole vascular system, having the vessels highlighted on their background.

Using the conditional erosion method, we draft a one-pixel line called G-curve through the center of the vascular system. The number of vascular endings is identified by drafting a circle of a selected radius on both ends of the G-curve. It is also possible to select an interval. After drawing a circle, we measure the maximum outer angle for the selected radii.

By the outer angle we mean the angle of a selected radius sector, which does not intersect the blood vessel area. If this angle falls within the required preselected range of values, the G-curve ending will be designated as a vascular ending (Fig. 1).

By changing the size of the circle radius and the magnitude of the angle, it is possible to influence the size and sharpness of an ending. Figure 2 illustrates a retinal image before processing.

Figure 3 illustrates retinal image after processing with the use of ACC method, with identified vascular endings. If we take a closer look, however, we will see that the endings near the picture edges are caused by artificial discontinuity of a vessel system due to picture edge. Although all the vessels continue farther, we can neglect this matter and count all the identified endings.

Image format used for mathematical processing

Almost any retinal image is applicable for evaluation by mathematical analysis. This means that we can use any good quality color or black and white picture, as well as a slide, that can be scanned and further processed (2). It is also possible to use retinal images in a digital form, acquired with the use of any digital imaging system (3, 4).

In our case, we use digitized noncompressed retinal images in a tiff format that can be further processed without the need of scanning. It is crucially important to use noncompressed retinal images. Any image compression leads to deformation of digitized images that become inapplicable for processing.

Image quality is fundamentally important, which is mainly influenced by transparency of optical media of an eye. Generally, every retinal image with a well visible vascular system can be processed.

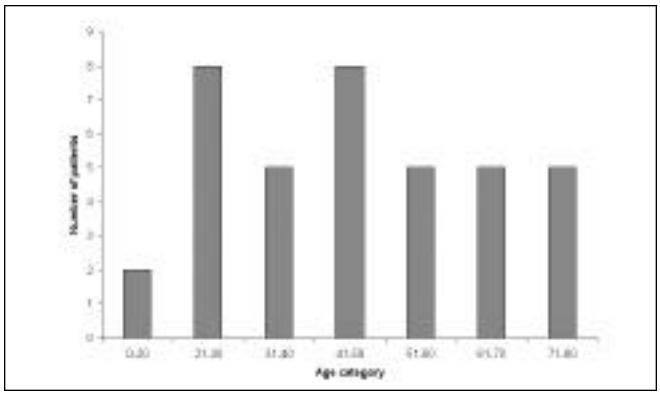


Fig. 4 - *Age distribution in the group of patients.*

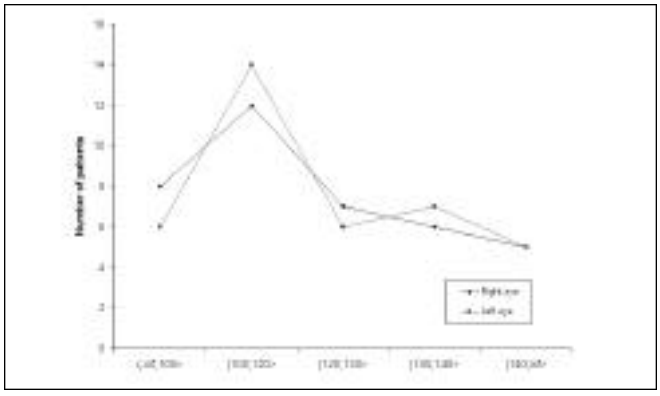


Fig. 5 - *Distribution in number of vascular endings in right and left eyes.*

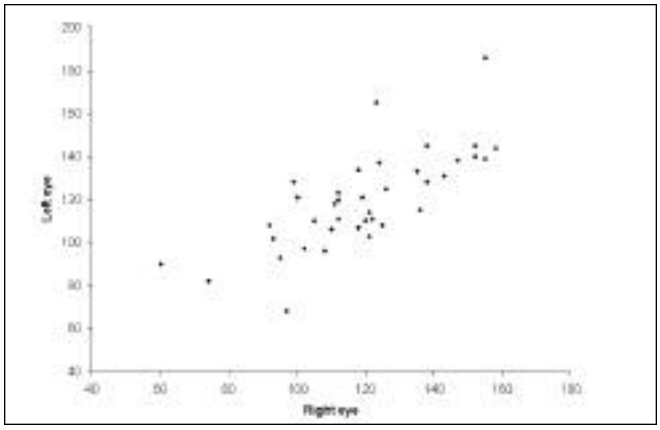


Fig. 6 - *Correlation in number of vascular endings in right and left eyes.*

Image angle selection and image position on fundus

For retinal photography, we use Topcon TRC 50 IX fundus camera combined with the digital imaging system Imagenet (Topcon). It is important to choose the angle size and place the center of an image to a specific

retinal area (5). For our set of images, we used the image angle magnitude of 50 degrees, with its center in the center of a macula.

RESULTS

For our set of images, we used pictures of 76 eyes of 38 healthy individuals: 23 men and 15 women with physiologic retinal findings. These patients presented for a regular preventive ophthalmic examination, during which no eye pathology was diagnosed. The age range of patients was 18 to 80 years (average 46 years), as shown in Figure 4.

We used the chi square formula to determine whether the quantity of vascular endings on the left and the right eyes of healthy individuals shows a normal distribution.

For the right eye, we calculated an average value of vascular endings (119.16) and standard deviation from normal Gaussian distribution (s=22.47). We do not dismiss the hypothesis on normal Gaussian distribution of vascular endings even on the significance level of p=0.05. For the left eye, we calculated the average value of vascular endings (119.79) and standard deviation from normal Gaussian distribution (s=22.54). Similarly as for the right eye, we do not dismiss the hypothesis on normal Gaussian distribution of vascular endings even on the significance level of p=0.05. Distribution of values for vascular ending numbers in the left and the right eyes is shown in Figure 5.

The next task was to examine whether correlation exists between the number of vascular endings in the right and the left eyes. As we have not dismissed both hypotheses on a normal (Gaussian) distribution of vascular endings, we can now determine the correlation coefficient r between the numbers of vascular endings in the left and the right eyes. In our case, the correlation coefficient r=0.747163.

We tested the hypothesis that the number of vascular endings in the right eye does not depend on the number of vascular endings in the left eye, and vice versa. On the significance level of p=0.05 we dismiss this hypothesis. Therefore an alternative hypothesis on the number of vascular endings dependence of the right and the left eyes is not refuted. Correlation between vascular ending numbers in both eyes is shown in Figure 6.

By means of statistical analysis, we also aimed to detect whether the number of vascular endings depends on the age of examined persons. For the purpose of this analysis, the whole set was divided into two parts.

The first set comprised 23 individuals (46 eyes) within the age range of 0 to 50 years (Ø=42). An average number of vascular endings was 126.00, with standard deviation of 19.30. The second set comprised 15 individuals within the age range of 51 to 80 years (Ø=71). An average number of vascular endings was 109.47, with standard deviation of 23.32. After processing by statistical analysis with the use of Student's unpaired t-test, a statistically highly significant difference was found between these two sets in numbers of vascular endings (p=0.0012). Based on this statistical analysis, within the age limit of 51 to 80 years, the number of vascular endings is statistically significantly lower than within the age range group of 0 to 50 years.

DISCUSSION

Based on statistical analysis, the number of recognizable vascular endings in healthy eyes features a Gaussian distribution curve. Average values of vascular ending numbers and their standard deviations in both the left and the right eyes are similar and the number of endings in one eye corresponds with the other eye.

These findings represent qualitatively new information. The number of vascular endings in eyes with a physiologic retinal finding seems constant and runs about the value of 120.

It was also found that the number of vascular endings depends on the age of the assessed entity. This is a new finding. It seems possible that the etiologic agent of vascular endings number dependence on age of patients with physiologic retinal findings may be the process of aging of an organism, especially of the vascular system, connected with straightening and obliteration of small retinal vessels due to changes in vessel wall structure. This results in decreasing vascular endings number in retina area under investigation. This can cause numerous retinal age-related pathologic symptoms.

Some pathophysiologic mechanisms affecting the retinal vascular system as well as the aging process may lead to change of number of vascular endings. This is especially true for the process of vascular neogenesis, which eventuates in an increase in vascular endings number. Our assumption needs further investigation, the results of which we will present in future publications.

The basic clinical application of the retinal image mathe-

matical processing method consists of the possibility to timely diagnose the risk of various retinal vascular diseases, whether indicated by a high or a low number of vascular endings, thus enabling the physician to start adequate treatment in a timely fashion.

Another possibility of clinical application consists of monitoring of disease treatment efficiency in time on the basis of repetitive mathematical analysis of retinal images made within a time interval.

This clinical application is mainly applicable in the field of diabetic retinopathy, where we can assume that the number of vascular endings increases with the increasing severity of a retinal finding.

CONCLUSIONS

We found that the number of vascular endings of patients with physiologic retinal findings shows a normal curve (Gaussian distribution). Based on evaluation of data acquired by the method of mathematical processing of retinal images, it is highly probable that the number of vascular endings of patients with physiologic retinal findings is of a practically constant value, which shows only a small value dispersion (1). There is practically no difference in the number of endings in the right and the left eyes (1). These are the first results acquired by the analysis of a relatively small group of patients. Future larger tests are planned.

ACKNOWLEDGEMENTS

Financed through the grant IGA NK 7730-3.

The authors have no proprietary interest in any aspect of the article.

Reprint requests to:
Petr Kolar, MD, PhD
Eye Clinic, University Hospital Brno
Jihlavska 20
625 00 Brno, Czech Republic
pekolar@quick.cz

REFERENCES

1. Kolar P, Starha P, Hajek D, Vlkova E, Druckmueller M. Importance of mathematical analysis of retinal image in diabetic retinopathy. Cesk Slov Oftalmol 2003; 59: 160-70.
2. Bursell SE, Cavallerano JD, Cavallerano AA, et al. Stereo nonmydriatic digital-video color retinal imaging compared with Early Treatment Diabetic Retinopathy Study seven standard field 35-mm stereo color photos for determining level of diabetic retinopathy. Ophthalmology 2001; 108: 572-85.
3. Eikelboom RH, Yogesan K, Barry CJ, et al. Methods and limits of digital image compression of retinal images for telemedicine. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000; 41: 1916-24.
4. Lee MS, Shin DS, Berger JW. Grading, image analysis, and stereopsis of digitally compressed fundus images. Retina 2000; 20: 275-81.
5. Wendt GC, Heikkilae KV, Summanen PA. Detection of retinal neovascularisation using 45° and 60° photographic fields. Diabetes Metabol 2001; 27: 2S3.

Příloha 12

Short Communication

Ophthalmic Research

Ophthalmic Res 2002;34:327–330
DOI: 10.1159/000065604

Received: January 29, 2002
Accepted after revision: May 23, 2002

Polymorphisms in the von Willebrand Factor Gene Are Not Associated with Proliferative Retinopathy in Non-Insulin-Dependent Diabetes mellitus

Michal Beránek[a] Kateřina Kaňková[a] Petr Kolář[b] Vladimír Znojil[a]

[a]Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University and [b]Department of Ophthalmology, The Brno Faculty Hospital, Brno, Czech Republic

Key Words
Proliferative retinopathy · von Willebrand factor · Non-insulin-dependent diabetes mellitus · Genetic polymorphism

Abstract
Von Willebrand factor, a multimeric glycoprotein synthesized mainly by endothelial cells, is involved in platelet adhesion and aggregation and has an important role in the process of angiogenesis. Increased levels of von Willebrand factor, reflecting activation or damage of endothelial cells, have been described in association with proliferative diabetic retinopathy (PDR). We investigated the relationships of two polymorphisms (–1793G/C and Thr789Ala) in the von Willebrand factor gene with PDR. Genotypes were detected by polymerase chain reactions with subsequent restrictions with specific endonucleases. Allele frequencies were determined in an association study (n = 371) comprising three groups of subjects (diabetics with and without retinopathy and nondiabetics). Allele frequencies of the –1793G/C and Thr789Ala did not differ between the non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) + PDR and the NIDDM non-PDR groups ($p > 0.05$). However, a statistically significant difference in allele and genotype frequencies of the –1793G/C was proved between all NIDDM versus nondiabetic subjects ($p = 0.024$ and 0.0065, respectively) with allele G and genotype GG being significantly more frequent in the NIDDM group. Calculated odds ratio for the GG genotype was 1.20 (95% CI, 0.77–1.86). Although significantly higher plasma von Willebrand factor antigen levels in NIDDM patients with PDR have been described in several studies, our findings indicate that no association exists between the two polymorphisms and PDR. However, the –1793G/C polymorphism might affect the risk of NIDDM.

Copyright © 2002 S. Karger AG, Basel

Introduction

Although proliferative diabetic retinopathy (PDR) is a common microvascular complication of diabetes, the exact pathogenesis is still unknown. Processes necessary for new vessel formation include the migration and proliferation of endothelial cells from the microvasculature, the controlled expression of proteolytic enzymes, the break-

KARGER

Fax + 41 61 306 12 34
E-Mail karger@karger.ch
www.karger.com

© 2002 S. Karger AG, Basel
0030–3747/02/0345–0327$18.50/0

Accessible online at:
www.karger.com/journals/ore

Michal Beránek
Faculty of Medicine, Department of Pathophysiology
Komenského nám. 2
CZ–662 43 Brno (Czech Republic)
Tel. +420 5 42 126 556, Fax +420 5 42 126 550, E-Mail beranek@sci.muni.cz

down and reassembly of extracellular matrix, and the morphogenic process of endothelial tube formation. Von Willebrand factor (vWf) is a multimeric glycoprotein synthesized by endothelial cells and megakaryocytes. vWf is one of the markers of endothelial dysfunction and a prothrombotic state frequently seen in diabetic patients [1], especially those with microvascular disease. Due to its function in hemostasis (platelet adhesion promotion, transport and protection of factor VIII) [2], the vWf gene could be considered a logical candidate locus for the susceptibility to the development of micro- and macrovascular complications in diabetes.

Results of a number of studies corroborate the possible role of the vWf gene as a retinopathy candidate locus. Plasma levels of vWf antigen in patients with PDR were significantly higher than those in the healthy controls and patients with simple retinopathy [3, 4]. In addition, genetic variability in the vWf gene was associated with variability in plasma vWf levels. Several polymorphisms in the promoter region and coding sequence of the vWf gene have been identified so far. Four polymorphisms in linkage disequilibrium were found in the promoter region of the gene [5, 6]. Association of the –1793G/C polymorphism with plasma vWf levels was demonstrated [5]. Also, the Thr789Ala polymorphism in the coding sequence of the vWf gene has been linked to variability in vWf plasma level [7]. The –1793G/G and 789Ala/Ala homozygous genotypes were associated with higher plasma vWf antigen levels [5, 7], therefore, the role of both polymorphisms in the regulation of the vWf expression is very plausible.

With respect to (i) physiologic effects of the vWf in the microcirculation, (ii) previously described enhanced plasma vWf levels in PDR subjects and (iii) the existence of genetic variability in the regulation of its expression, we hypothesized that polymorphism in the vWf locus could belong to the genetic determinants influencing susceptibility to the development of PDR. The aim of the association study was to investigate an association of the –1793G/C and Thr789Ala polymorphisms in the vWf gene with PDR. Both –1793G/C and Thr789Ala substitutions fulfil criteria for polymorphism (frequency of less frequent allele is >1%), therefore, participation of these variants in the determination of this relatively common diabetic complication could be theoretically presupposed. Moreover, for the purpose of discrimination between an association with PDR or with non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) per se, allele frequencies of both polymorphisms were determined in a group of nondiabetic subjects as well.

Patients and Methods

Patients

A total number of 371 unrelated Caucasian subjects were enrolled in the study. The NIDDM group consisted of 245 subjects with diabetes diagnosed previously according to the World Health Organization criteria; antidiabetic treatment was established in all subjects. The known duration of diabetes was 10.2 ± 9.1 years (mean ± SD). In the NIDDM group, a total number of 73 subjects had PDR. They were aged 62.9 ± 8.1 years (mean ± SD), 37 men, 36 women. All PDR subjects regularly attended a specialized diabetological unit of the Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic. PDR was assessed by direct ophthalmoscopy through dilated pupils and classified as proliferative according to ETDRs criteria [8]. PDR had lasted 4.2 ± 2.5 years since the first ophthalmological diagnosis. Ophthalmological examinations were performed regularly. The non-PDR group (n = 172) included NIDDM patients without parallel proliferative retinopathy, aged 64.6 ± 12.1 years (mean ± SD), 80 men and 92 women. The nondiabetic group (n = 126) were subjects without clinical signs or anamnestic symptoms of diabetes, aged 60.1 ± 8.3 years (mean ± SD), 52 men and 74 women. Written informed consent was obtained from each patient prior to being included in the study. The study was approved by the Committee for Ethics of Medical Experiments on Human Subjects, Medical Faculty, Masaryk University, Brno.

Methods

Allele frequencies of the –1793G/C polymorphism were determined by PCR using sense 5′-CATGAGTGCAAAGGATGAAAAT-3′ and antisense 5′-GAGGGAGAACTAGAACGGAGAT-3′ primers. The PCR product (506 bp) was digested with *Aci*I (New England Biolabs); digestion revealed fragments of 284, 147 and 75 bp length for the G allele and 284 plus 222 bp for the C allele. The Thr789Ala polymorphism was detected using sense 5′-GAAAACTGAAGGGCAGGCACCAG-3′ and antisense 5′-GGCAACTCTGAGTCTCTT-3′ primers as described previously [7] with subsequent digestion of the 320-bp-long product with *Rsa*I (MBI Fermentas). Digestion revealed fragments of 122 and 198 bp length for the Thr allele; the Ala allele lacks the *Rsa*I restriction site.

Statistical Analysis

Allele frequencies were calculated from the observed numbers of genotypes. Differences in genotype distributions from those expected for Hardy-Weinberg equilibrium, differences in genotype frequencies and linkage disequilibrium were tested by the χ^2 test. Differences in the allele frequencies between the groups were tested by Fisher's exact test. For all analyses the program package Statistica (Statsoft Inc., Tulsa, USA) was used.

Results

Polymorphisms –1793G/C and Thr789Ala versus PDR

Allele and genotype frequencies of both polymorphisms are listed in table 1. The distribution of genotypes of the –1793G/C polymorphism deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium in the non-PDR group (p =

Table 1. Observed genotype and allele frequencies of the vWf gene polymorphisms: comparisons of allele (or genotype) frequencies between the NIDDM and nondiabetic groups and between the PDR and non-PDR groups

	–1793G/C polymorphism						
	GG (%)	GC (%)	CC (%)	%G	%C	p_{allele}	$p_{genotype}$
PDR (n = 73)	29 (39.7)	35 (48.0)	9 (12.3)	63.7	36.3	NS	NS
Non-PDR (n = 172)[a]	75 (43.6)	88 (51.2)	9 (5.2)	69.1	30.9		
Nondiabetics (n = 126)	48 (38.1)	55 (43.6)	23 (18.3)	59.9	40.1	0.024	0.0065
	Thr789Ala polymorphism						
	Thr/Thr (%)	Thr/Ala (%)	Ala/Ala (%)	%Thr	%Ala	p_{allele}	$p_{genotype}$
PDR (n = 73)	29 (39.7)	35 (48.0)	9 (12.3)	63.7	36.3	NS	–
Non-PDR (n = 172)	80 (46.5)	72 (41.9)	20 (11.6)	67.4	32.6	NS	–
Nondiabetics (n = 126)	65 (51.6)	46 (36.5)	15 (11.9)	69.8	30.2		

[a] Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium in the non-PDR group ($p < 0.01$) and subsequently in the combined NIDDM group (PDR + non-PDR, $p < 0.05$).

0.0087) due to a low frequency of CC homozygotes. Allele frequencies of the –1793G/C and Thr789Ala polymorphisms did not differ significantly between the PDR and non-PDR groups ($p > 0.05$). We did not find linkage disequilibrium between the two polymorphisms.

Polymorphisms –1793G/C and Thr789Ala versus NIDDM

Allele frequencies of the Thr789Ala polymorphism did not differ significantly between the NIDDM (PDR plus non-PDR subjects) and nondiabetic groups ($p > 0.05$). However, a significant difference in allele frequencies of the –1793G/C polymorphism was found between these groups ($p = 0.024$). As the deviation from Hardy-Weinberg equilibrium for the –1793G/C polymorphism was previously detected in the non-PDR group, a comparison of genotype frequencies was performed as well. A highly significant difference in the frequencies of the –1793G/C genotypes was proved between the NIDDM and nondiabetic groups ($p = 0.0065$). Frequency of the G allele as well as the GG genotype was considerably higher in the NIDDM group. The calculated odds ratio estimating the relative incidence of NIDDM in the presence of GG genotype was 1.20 (95% CI, 0.77–1.86).

Discussion

PDR represents a serious long-term diabetic complication with an extremely negative impact on the quality of life of diabetics. Endothelial damage, angiogenesis and inflammation play an important role in the pathogenesis of diabetic retinopathy, therefore, polymorphisms in genes encoding these factors or influencing their individual plasma and tissue levels could belong to the genetic risk factors.

Our major goal was to investigate the association of a logical candidate gene – that coding for vWf – with PDR. Previous studies suggested that the –1793G/C and Thr789Ala polymorphisms in the vWf gene are associated with the variability in plasma vWf levels in patients with proliferative retinopathy [3, 4]. We did not prove any association between the two polymorphisms and PDR. Therefore, it seems unlikely that the vWf gene plays a major role in the susceptibility to the development of PDR in our population. However, a weaker association with PDR could not be excluded completely due to a rather limited number of subjects.

The increased level of vWf seen in diabetic patients with PDR might not be genetically determined, and extragenetic sources could be considered. The sequence comprising the –1793 position represents the binding site for the nuclear factor kappa B (NFκB) regulating the vWf expression in response to NFκB [5]. As NFκB is generally enhanced in the presence of endothelial injury [9], this

might explain increased stimulation of vWf expression in diabetics. Also, higher insulin levels in the systemic circulation were found to be an independent predictor of high vWf plasma concentrations in patients with NIDDM [10].

Beyond our primary hypothesis that the vWf gene polymorphisms could be associated with PDR, a significant association of –1793G/C polymorphism with NIDDM was found. The frequencies of the G allele and the GG genotype (previously associated with higher plasma vWf antigen levels) were significantly higher in the NIDDM group. This might imply a possible genetic risk for NIDDM represented by this allele or genotype. The relative excess of the GG genotype disturbing the Hardy-Weinberg equilibrium in the non-PDR group could suggest an association of this genotype (composed exclusively of the risk G allele) with NIDDM. Allele frequencies of the –1793G/C polymorphism were different from those published for a Canadian population [3]. The frequency of the G allele was 59.9% in our healthy Caucasian subjects in contrast to 36% in the Canadian population. Allele frequencies of the Thr789Ala polymorphism in our control nondiabetic group were similar to the frequencies observed in a French population [7].

In conclusion, polymorphisms –1793G/C and Thr789Ala in the vWf gene are not associated with PDR accompanying NIDDM and most probably do not belong to the cluster of genetic determinants of PDR susceptibility. However, the –1793G/C polymorphism might affect the risk of NIDDM.

Acknowledgments

The study was supported by grant CEZ J07/98:141100002 from the Ministry of Education, Youth and Physical Training of the Czech Republic. The excellent technical assistance of Ms. Martina Valoušková is gratefully acknowledged.

References

1 Lorenzi M, Cagliero E: Pathobiology of endothelial and other vascular cells in diabetes mellitus. Diabetes 1991;40:653–659.
2 Ruggeri ZM, Ware J: The structure and function of von Willebrand factor. Thromb Haemost 1992;67:594–599.
3 Fujiwara Y, Tagami S, Kawakami Y: Circulating thrombomodulin and hematological alterations in type 2 diabetic patients with retinopathy. J Atheroscler Thromb 1998;5:21–28.
4 Lip PL, Belgore F, Blann AD, Hope-Ross MW, Gibson JM, Lip GY: Plasma VEGF and soluble VEGF receptor FLT-1 in proliferative retinopathy: Relationship to endothelial dysfunction and laser treatment. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000;41:2115–2119.
5 Harvey PJ, Keightley AM, Lam YM, Cameron C, Lillicrap D: A single nucleotide polymorphism at nucleotide –1793 in the von Willebrand factor (VWF) regulatory region is associated with plasma VWF:Ag levels. Br J Haematol 2000;109:349–353.
6 Keightley AM, Lam YM, Brady JN, Cameron CL, Lillicrap D: Variation at the von Willebrand factor (vWf) gene locus is associated with plasma vWf:Ag levels: Identification of three novel single nucleotide polymorphisms in the vWf gene promoter. Blood 1999;93:4277–4283.
7 Lacquemant C, Gaucher C, Delorme C, Chatellier G, Gallois Y, Rodier M, Pasa P, Balkau B, Mazurier C, Marre M, Froguel P: Association between high von Willebrand factor levels and the Thr789Ala vWf gene polymorphism but not with nephropathy in type I diabetes. Kidney Int 2000;57:1437–1443.
8 Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs: An extension of the modified Airlie House classification. ETDRS Report No 10. Ophthalmology 1991;98:786–806.
9 Minekura H, Kumagai T, Kawamoto Y, Nara F, Uchida K: 4-Hydroxy-2-nonenal is a powerful endogenous inhibitor of endothelial response. Biochem Biophys Res Commun 2001;282:557–561.
10 Heywood DM, Mansfield MW, Grant PJ: Levels of von Willebrand factor, insulin resistance syndrome, and a common vWf gene polymorphism in non-insulin-dependent (type 2) diabetes mellitus. Diabet Med 1996;13:720–725.

Příloha 13

Three novel polymorphisms in the promoter region of the TIMP-3 gene are not associated with proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus

Running title:

TIMP-3 gene and proliferative retinopathy

Michal Beránek[1,2], Kateřina Kaňková[1], Svatava Tschöplová[1], Petr Kolář[3] and Jiří Vácha[1]

[1]Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University Brno

[2] Centre of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine and Faculty of Science, Masaryk University Brno

[3]Department of Ophthalmology, University Hospital Brno-Bohunice, Brno, Czech Republic

Correspondence:

Michal Beránek

Faculty of Medicine - Department of Pathophysiology

Komenského nám. 2

662 43 Brno, Czech Republic

Tel.: +420-542 126 556

Fax: +420-542 126 550

E-mail: beranek@sci.muni.cz

Abstract

Purpose: Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (TIMP-3) is a member of the TIMP family of proteins, playing a significant role in the control of extracellular matrix remodelling. TIMP-3 might play a role in regulation of retinal neovascularization during progression of diabetic retinopathy. Recently, three novel polymorphisms (-899T/A, -915A/G and –1296T/C) in the promoter region of the TIMP-3 gene were identified. The aim of the study was to investigate a possible association of these polymorphisms with proliferative diabetic retinopathy (PDR) in type 2 diabetes mellitus (T2DM).

Methods: Genotypes were detected by polymerase chain reaction and subsequent restriction with specific endonucleases. Allele frequencies were determined in an association study comprising three groups of subjects (n=371).

Results: Linkage disequilibrium was found among the three polymorphisms ($P \leq 0.01$). Allele frequencies did not differ between neither T2DM+PDR and T2DM non-PDR subjects ($P > 0.05$) nor between all T2DM versus non-diabetic subjects ($P > 0.05$).

Conclusions: Polymorphisms in the promoter region of the TIMP-3 gene were not associated with the PDR in the Caucasian T2DM patients.

Keywords

extracellular matrix; genetic polymorphism; T2DM; proliferative retinopathy; TIMP

Introduction

Proliferative diabetic retinopathy (PDR) in both type 1 and type 2 diabetes mellitus (T2DM) represents the most serious ophthalmic complication of chronic diabetes. Retinal neovascularisation associated with haemorrhage or retinal detachment characterising PDR is a sight threatening process eventually leading to blindness. Neoangiogenesis in retina is characterised by remodelling of retinal vasculature initiated by proteolysis of the capillary basement membrane by migrating endothelial cells. These cells constitutively express mRNA for matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in culture[1]. TIMPs inhibit effect of MMPs and together play a critical role in the extracellular matrix homeostasis. Disturbances in the TIMP/MMP system have been implicated in the etiopathogenesis of other diseases such as arthritis, carcinogenesis and several degenerative processes, where a loss of ECM integrity is a principal feature[2].

Four TIMPs have been identified in humans so far[3]. Some studies propose that TIMP-3 (gene located on chromosome 22) might play a role in retinal homeostasis, and in the modulation of extracellular matrix metabolism and vascularization[4]. Therefore, it is possible that TIMP-3 may play a role in PDR[5]. TIMP-3 has an anti-angiogenic activity, demonstrated by reduced chemotaxis of vascular endothelial cells towards growth factors such as vascular endothelial growth factor in the presence of TIMP-3[6].

Mutations in TIMP-3 gene have been previously shown to cause Sorsby's fundus dystrophy, an autosomal-dominant disorder characterized by extracellular matrix irregularities in Bruch's membrane[7]. Recently, three polymorphisms in the promoter region of the TIMP-3 gene (-899T/A, -915A/G and –1296T/C) were identified by our group[8]. The functional impact of those mutations is not known as yet. The aim of the study was to investigate the association of these newly identified polymorphisms in the TIMP-3 gene with the PDR in Caucasian T2DM patients.

Materials and Methods

Patients

A total of 371 unrelated Caucasian subjects comprising three groups (T2DM+PDR, T2DM without PDR and non-diabetics) were enrolled in the study. All 271 diabetic subjects had established chronic antidiabetic treatment, the mean known duration of diabetes was 11.2 ± 9.1 years (mean ± SD). T2DM+PDR group comprised 113 subjects, aged 62.5 ± 7.9 years, 59 men, 54 women. All PDR subjects regularly attended specialized diabetological unit of the Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic.

PDR was assessed by direct ophthalmoscopy through dilated pupils and classified as proliferative according to ETDRs criteria[9]. The non-PDR T2DM group (n=158) were diabetics without parallel PDR, aged 64.6 ± 12.1 years, 75 men, 83 women. The non-diabetic group (n=100) comprised subjects without clinical signs or anamnestic symptoms of diabetes, aged 58.68 ± 7.5 years, 32 men and 68 women. Written informed consent was obtained from each patient prior to their inclusion in the study. The study was approved by the Committee for Ethics of Medical Experiments on Human Subjects, Medical Faculty, Masaryk University, Brno.

Genotyping

Allele frequencies of the polymorphisms (-899T/A, -915A/G and –1296T/C) were determined by polymerase chain reactions and subsequent digestion with specific endonucleases as described previously[8].

Statistical analysis

Allele frequencies were calculated from the observed numbers of genotypes. Hardy-Weinberg equilibrium, differences in genotype frequencies and linkage disequilibrium were tested by the chi-square test (χ^2). Differences in allele frequencies among groups were tested by the Fisher′s exact test. $P<0.05$ was considered statistically significant. For all statistical analyses programme package STATISTICA (Statsoft Inc., Tulsa, USA) was used.

Results

Genotype and allele frequencies of the polymorphisms in individual groups are shown in Table 1. Genotype distribution of any polymorphism did not differ from Hardy-Weinberg equilibrium in any group ($P>0.05$). Linkage disequilibrium was found among the three polymorphisms ($P\leq0.01$), especially between –915A/G and –1296T/C polymorphisms ($P\leq1*10^{-6}$). Allele frequencies of the three polymorphisms did not differ significantly between the PDR and non-PDR groups ($P>0.05$).

Allele frequencies of the three polymorphisms (-899T/A, -915A/G and –1296T/C) differed significantly between the T2DM (pooled PDR plus non-PDR subjects) and non-diabetic groups ($P=0.020$, $P=0.039$ and $P=0.044$, respectively). However, after Holm´s correction (due to multiple comparison applied), differences were non-significant.

Discussion

The process of new capillary formation from preexisting vessels is a complex physiological event which is strictly controlled, occurring only very rarely under normal conditions. In contrast, there are a number of serious diseases, among them solid tumor growth, rheumatoid arthritis and several eye diseases, which are characterized by unrestricted new capillary growth and which are described as "angiogenic diseases." One of the key events required for successful angiogenesis is extracellular proteolysis.

MMPs and TIMPs have complex regulatory activities in angiogenesis involving degradation of the basement membrane, endothelial cell migration, capillary tube formation and endothelial cell proliferation[10]. The anti-angiogenic effect of TIMPs may be realized through down-regulation of MMPs required for endothelial cell migration and invasion, or through direct suppression of these cells[11]. Endothelial damage, angiogenesis and inflammation play an important role in the pathogenesis of diabetic retinopathy. Polymorphisms in the genes encoding factors implicated in these processes belong to potential genetic risk factors.

Our study performed on a group of T2DM subjects with defined PDR status and non-diabetic subjects showed no association with PDR, therefore, it seems unlikely that the TIMP-3 gene plays a major role in the susceptibility to the development of PDR. Another study comparing epiretinal membranes of subjects with proliferative vitreoretinopathy and normal retinas showed no differences in the expression of TIMP-3 molecule[12] and the same result was described in murine model of developing retinal neovascularization[13].

In conclusion, polymorphisms -899T/A, -915A/G and –1296T/C in the TIMP-3 gene are in strong linkage disequilibrium, not associated with PDR accompanying T2DM and most probably do not belong to the cluster of genetic determinants of PDR susceptibility.

Acknowledgement

This study was supported by grant CEZ J07/98:141100002 from the Ministry of Education, Youth and Physical Education of the Czech Republic.

References

1. Grant MB, Caballero S, Tarnuzzer RW, Bass KE, Ljubimov AV, Spoerri PE, Galardy RE. Matrix metalloproteinase expression in human retinal microvascular cells. *Diabetes* 1998; 47:1311-1317.
2. Docherty AJ, O´Connel J, Crabbe T, Angal S, Murphy G. The matrix metalloproteinases and their natural inhibitors: Prospects for treating degenerative tissue diseases. *Trends in Biotechnology* 1992; 10:200-207.
3. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Presence of four tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1, -2, -3 and -4) in human fetal membranes. *Am J Reprod Immunol* 1998; 40:395-400.
4. Jomary C, Neal MJ, Iwata K, Jones SE. Localization of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 in neurodegenerative retinal disease. *Neuroreport* 1997; 8:2169-2172.
5. Plantner JJ, Smine A, Quinn TA. Matrix metalloproteinases and metalloproteinase inhibitors in human interphotoreceptor matrix and vitreous. *Curr Eye Res* 1998; 17:132-140.
6. Anande-Apte B, Pepper MS, Voest E, Montesano R, Olsen B, Murphy G, Apte SS, Zetter B. Inhibition of angiogenesis by tissue inhibitor of metalloproteinase-3. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38:817-823.
7. Weber BHF, Vogt G, Pruett RC, Stohr H, Felbor U. Mutations in the tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) in patients with Sorsby´s fundus dystrophy. *Nature Genetics* 1994; 8:352-356.
8. Beránek M, Kaňková K, Mužík J. Identification of novel common polymorphisms in the promoter region of the TIMP-3 gene in Czech population. *Mol Cell Probes* 2000; 14:265-268.
9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs-an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. *Ophthalmology* 1991; 98:786-806.
10. Kumar R, Yoneda J, Bucana CD, Fidler IJ. Regulation of distinct steps of angiogenesis by different angiogenic molecules. *Int J Oncol* 1998; 12:749-757.
11. Moses MA. The regulation of neovascularisation by matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Stem Cells* 1997; 15:180-189.
12. Salzmann J, Limb GA, Khaw PT, Gregor ZJ, Webster L, Chignell AH, Charteris DG. Matrix metalloproteinases and their natural inhibitors in fibrovascular membranes of proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2000; 84:1091-1096.
13. Majka S, McGuire P, Colombo S, Das A. The balance between proteinases and inhibitors in a murine model of proliferative retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42:210-215.

Tables

Table 1. Observed genotype and allele frequencies of the TIMP-3 gene polymorphisms. Comparison of allele frequencies between the PDR vs. non-PDR groups and between T2DM (PDR plus non-PDR subject) vs. non-diabetic groups.

	–899T/A polymorphism					
	TT (%)	TA (%)	AA (%)	%T	%A	P
PDR (n=113)	111 (98.2)	2 (1.8)	0	99.1	0.9	NS
non-PDR (n=158)	152 (96.2)	6 (3.8)	0	98.1	1.9	
non-diabetics (n=100)	90 (90.0)	10 (10.0)	0	95.0	5.0	NS
	-915A/G polymorphism					
	AA (%)	AG (%)	GG (%)	%A	%G	P
PDR (n=113)	54 (47.8)	51 (45.1)	8 (7.1)	70.4	29.6	NS
non-PDR (n=158)	71 (45.0)	68 (43.0)	19 (12.0)	66.5	33.5	
non-diabetics (n=100)	40 (40.0)	42 (42.0)	18 (18.0)	61.0	39.0	NS
	-1296T/C polymorphism					
	TT (%)	TC (%)	CC (%)	%T	%C	P
PDR (n=113)	54 (47.8)	51 (45.1)	8 (7.1)	70.4	29.6	NS
non-PDR (n=158)	71 (45.0)	68 (43.0)	19 (12.0)	66.5	33.5	
non-diabetics (n=100)	40 (40.0)	42 (42.0)	18 (18.0)	61.0	39.0	NS

Příloha 14

available at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

journal homepage: www.elsevier.com/locate/diabres

Genetic variation and plasma level of the basic fibroblast growth factor in proliferative diabetic retinopathy

Michal Beranek [a,*], *Petr Kolar* [b], *Svatava Tschoplova* [a], *Katerina Kankova* [a], *Anna Vasku* [a]

[a] *Faculty of Medicine, Department of Pathophysiology, Masaryk University Brno, Czech Republic*
[b] *Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic*

ARTICLE INFO

Article history:
Received 3 May 2007
Accepted 23 September 2007
Published on line 7 November 2007

Keywords:
Basic fibroblast growth factor (bFGF)
Polymorphism
Proliferative retinopathy
Plasma level

ABSTRACT

The basic fibroblast growth factor (bFGF) is considered to be one of the candidate genes in the processes of tumour growth and angiogenesis. The aim of the present investigation was to find possible association of new polymorphisms in bFGF with proliferative diabetic retinopathy (PDR) and determine the plasma level in PDR. Allele, genotype and haplotype frequencies were determined in the association study comprising three groups of Caucasian subjects ($n = 488$) (diabetics with/ PDR/ and without retinopathy/ non-PDR/ and non-diabetics/ non-DM/) in order to identify genetic marker for PDR. The plasma level of the bFGF protein was analysed by ELISA method. Significantly higher frequencies of 754C allele of the new 754C/G polymorphisms was found between PDR and non-DM group ($p = 0.05$, OR = 1.38). The comparison of plasma level of the bFGF showed statistically significant difference among studied groups ($p = 0.001$). The bFGF plasma level in PDR group was significantly higher than in the groups of non-PDR and non-DM ($p = 0.017$, $p = 0.001$, respectively) and was significantly higher for CC and GC genotypes of 754C/G polymorphism in PDR group ($p = 0.006$). Increased plasma level of the bFGF confirmed the importance of this candidate gene in the formation of PDR. However, the regulatory mechanisms of the bFGF level need further examinations.

© 2007 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Angiogenesis, the development of new blood vessels, is a crucial process both for tumour growth and metastatic dissemination. In addition, the deregulation in angiogenesis has been implicated (for example) in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy (PDR), diabetic nephropathy, and rheumatoid arthritis. The process of neovascularization greatly depends on the induction of the angiogenic phenotype of endothelial cells, which is strictly controlled by humoral factors as well as by cellular communication in the vascular system [1,2]. One of these important factors controlling the formation of new vessels is the basic fibroblast growth factor (bFGF), which is involved in the endothelial cells stimulation, differentiation, migration, proliferation, cell growth, tissue repair and angiogenesis [3–5].

The bFGF gene is located on the 4q26-27 chromosome and the primary translation product consists of 155 amino acids [6]. This gene itself compounds of three exones, separated by two introns and two great untranslated regions 5'a 3 UTR [7]. The genomic organization of the bFGF gene and of products of alternative translation has been described [8,9]. The bFGF gene is considered being one of the candidate genes with an important role in the PDR formation (its expression was linked to the development and progression of PDR) [10,11]. However, its genetic base and level in proliferative diabetic retinopathy

* *Corresponding author*. Tel.: +420 608 423 914; fax: +420 549 494 340.
E-mail address: mberanek@med.muni.cz (M. Beranek).
0168-8227/$ – see front matter © 2007 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.diabres.2007.09.012

remains poorly understood. Increased level of the bFGF protein was observed in the processes that stimulate cell proliferation and migration, which leads to the inception of pathological condition (for example angiogenesis) that can be supported by the synergic action, together with other angiogenic factors [12]. This effect was observed not only in cultured human RPE cells but also in proliferative diabetic retinopathy [13].

Four polymorphisms were included in the association study (−553T/A, −834T/A, −921C/G, 223C/T) localized in the promoter and 5′ flanking regions, published earlier [14,15]. In the polymorphism at position 223 interindividual variation of the bFGF mRNA was described, and the protein level (the homozygous genotype (CC) of 223C/T polymorphism) was associated with higher level of mRNA and protein level) [15]. In other polymorphisms located in promoter region, only frequencies in a Caucasian health population were described [14]. The association relationship between these polymorphisms and PDR and the level of the bFGF protein has not described yet.

The aim of the association study was to identify possible genetic polymorphism in other regulatory regions (exons regions and 3′ flanking regions) of the bFGF gene, and to conduct an association analysis of all studied polymorphisms of the bFGF gene with PDR. Furthermore, we intended to determine the plasma level in all studied groups and specify the relationship between the plasma level and genetic variations of the bFGF.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

Total number of 488 unrelated Caucasian subjects was enrolled in the study. The group of patients with Type 2 diabetes mellitus consisted of 304 patients with (PDR group) and without (non-PDR) proliferative retinopathy. The diabetes mellitus was diagnosed previously according to the World Health Organization criteria; antidiabetic treatment was established in all subjects. The mean known duration of diabetes was 11.4 ± 0.56 years (mean ± S.E.). The PDR group was considered with 129 patients, aged 62.3 ± 0.72 years (range 47–79), 66 men, 63 women. All PDR subjects regularly attended a specialized diabetological unit of the Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic. PDR was assessed by direct ophthalmoscopy through dilated pupils and classified as proliferative according to ETDRs criteria [16]. Ophthalmologic examinations were performed regularly several times per year. The non-PDR group ($n = 175$) were patients with diabetes mellitus without parallel proliferative retinopathy, aged 64.3 ± 0.95 years, 80 men, 95 women. The non-diabetic group (non-DM, $n = 184$) were subjects without clinical signs or anamnestic symptoms of diabetes, aged 59.2 ± 0.97 years, 61 men and 123 women. These subjects manifested no evidence of cardiovascular disease, diabetes mellitus, cancer or allergy and were not taking any long-term medication. Signed informed consent was obtained from each patient prior to being included in the study. The study protocol adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the Committee for Ethics of Medical Experiments on Human Subjects, Medical Faculty, Masaryk University, Brno.

2.2. Heteroduplex analysis, SSCP and sequencing

The investigation of new polymorphisms was based on techniques of heteroduplex analysis of a single-strand conformation polymorphism (SSCP). Heteroduplex analysis was described by Beranek et al. previously [14]. SSCP-PCR gene products for bFGF (2 μl) a 5 μl Loading Buffer (FMC BioProducts, Rockland, ME, USA) with form amide were denaturized for 5 min at 100 °C, then immediately put into freezing water to maintain filaments separated. We used 7 μl of the sample for separation in vertical electrophoresis. Each sample was analysed four times in different conditions: with 8% glycerol added at laboratory temperature and at 4 °C; without glycerol added at laboratory temperature and at 4 °C. The samples were fragmented with vertical electrophoresis in 1× MDE (FMC BioProducts, Rockland, ME, USA), for 16 h, at 350 V and 4 °C. The gel was coloured with silver nitrate and the DNA was fixed with 2% solution of acetic acid.

Sequencing was performed by the cycle-sequencing method, using the Thermo Sequenase radiolabeled terminator cycle-sequencing kit (Amersham International, Amersham, UK) and Redivue ^{33}P labeled terminator pack (Amersham International, Amersham, UK). The sequencing reaction was performed according to the manufacturer's protocol. Electrophoresis was run on a sequencing apparatus (Bio-Rad, Prag, CZ) in 6% polyacrylamide, 8 M urea at a constant current of 22 mA for 2 and 4 h.

2.3. PCR and bFGF genotyping

Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes and used as a template for polymerase chain reaction (PCR). The locations of the primers were derived from the original sequences (GenBank accession numbers NM002006, J04513, S81809, X04431-3). Primer sequences, annealing temperatures, PCR product lengths and locations are given in Table 1. PCRs were performed in a final volume of 25 μl, containing 50 mM KCl, 10 mM TRIS–HCl buffer, pH 8.4, 1.5 mM $MgCl_2$, 10 pmol of each primer, 200 μM dNTP, 1 μg of genomic DNA in the presence of 0.7 U of Taq polymerase (MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Germany). After the initial denaturation step (95 °C for 5 min), each cycle (of additional 30 ones) consisted of a 95 °C denaturation for 30 s, 30 s of annealing, a 72 °C extension for 30 s, and a final extension lasting 8 min at 72 °C.

2.3.1. Detection of the −553T/A, −834T/A and −921C/G polymorphisms

The polymorphisms (−553T/A, −834T/A and −921C/G) were genotyped by polymerase chain reaction and subsequent restriction with specific endonucleases according to the methods described elsewhere [14].

2.3.2. Detection of the 223C/T polymorphism

Polymorphism 223C/T was detected by PCR with primers that were assumed from Schulz et al. [15] (Table 1). For a fast detection of a certain polymorphism, we invented a diction

Table 1 – Primer sequences, annealing temperatures, product lengths and location of primers for analysis of bFGF gene polymorphisms

Polymorphism	Primer sequence (sense/antisense)	T_a (°C)	Product (bp)	Location
223C/T	5′-CGCGGTTGCAACGGGATCCC-3′ 5′-GCCCCCCAGCCTCCCGCC-3′	54	207	5′UTR
754C/G	5′-AAGCGGCTGTACTGCAAAAAC-3′ 5′-GGTACTGGTTTACAGGGCAAAT-3′	56	334	Intron 1
65796T/C	5′-TGGTTGAGCAGAATAGGCATTA-3′ 5′-AAAAATTGTTTGACCAATTATCCA-3′	58	412	PolyA signal

system that used restriction analyses: amounts of 10 μl of the PCR product (207 bp) were digested with 3 U of *BtsCI* (BioTech a.s., Prag, CZ) for 4 h at 50 °C. Digestion revealed fragments of 134 and 73 bp for the wild type allele, the mutated allele T lacked the *BtsCI* restriction site.

2.3.3. *Detection of the 754C/G polymorphism*

Amounts of 10 μl of the PCR product were digested with 3 U of *Bsp143II* (MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Germany) for 4 h at 37 °C. Digestion revealed fragments of 134 and 200 bp for the wild type allele, the mutated allele G lacked the *Bsp143II* restriction site.

2.3.4. *Detection of the 65796T/C polymorphism*

Amounts of 10 μl of the PCR product were digested with 3 U of *MscI* (MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Germany) for 4 h at 37 °C. Digestion revealed fragments of 115 and 297 bp for the wild type allele, the mutated allele C lacked the *MscI* restriction site.

2.4. *Determination of plasma bFGF protein*

For determination of plasma level of the bFGF protein of human EDTA blood, the ELISA-Kit ''Human bFGF ELISA Kit'' (RayBiotech, Inc., Norcross, GA, USA; sensitivity: minimum detectable dose less than 8 pg/ml) was used according to the producer's manual.

2.5. *Statistical analysis*

Differences in genotype distribution from those expected by Hardy–Weinberg equilibrium and linkage disequilibrium of the polymorphisms identified were tested by the Chi-square test. Differences in allele frequencies of SNPs were tested by a two-tail Fisher exact test. PHASE v. 2.0 [17,18] and HAPLOTYPER [19] software were used to resolve a sample of phase-unknown multilocus genotypes and to estimate haplotype frequencies in population.

Normal distributed metric parameters are presented as mean ± standard error of the mean (S.E.). The normal distribution was checked by Kolmogorov–Smirnov test for normality. Other quantitative data that did not fulfil the normal distribution condition are presented as range. For the statistical evaluation, the Mann–Whitney *U*-test or Kruskal–Wallis test (values not distributed normally) were used. For the detection of correlative relationships, Spearman's rank correlation test was conducted. Values of $p < 0.05$ were considered to be statistically significant. Since a multiple comparison is involved, only *p*-values of less than 0.05 were regarded significant after Bonferroni's correction (p_{corr}). Statistical analyses were carried out using programme package Statistica for Windows (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

3. Results

3.1. *New polymorphisms of the bFGF gene*

A search for possible polymorphisms in the three exons regions and 3′ flanking regions of the bFGF gene was carried out on healthy Caucasian subjects (both genders) of Czech nationality by means of heteroduplex analysis and SSCP. Those regions of the bFGF gene were amplified sequentially by five fragments. Any polymorphisms were not detected in the amplified fragments of the bFGF exons sequences, this result show a high conservative sequence in coded sequence. This result was confirmed by means of heteroduplex patterns and SSCP obtaining from diabetic patients with and without PDR.

The sequencing of all samples with altered mobility shift pattern identified two sequence variants in the intron 1 (754C/G) and polyA signal (65796T/C). Genotype and allele frequencies were determined (Table 2). Each of the two polymorphisms corresponded to the Hardy–Weinberg equilibrium in control (non-DM) group. The linkage disequilibrium was not observed between two new polymorphisms ($p > 0.05$). Strong linkage disequilibrium was detected only between −921C/G and −834T/A polymorphisms ($p < 10^{-6}$).

3.2. *Polymorphisms in the bFGF gene and diabetes mellitus*

Genotype and allele frequencies of the polymorphisms in individual groups are shown in Table 2. The 65796CC genotype was not detected in our sample (the frequency of the mutated allele was less then 1%) therefore, this polymorphism was excluded from further calculations. Genotype distribution of any polymorphism did not differ from Hardy–Weinberg equilibrium in any group ($p > 0.05$). Allele and genotype frequencies of the all polymorphisms did not differ significantly between PDR and non-PDR groups ($p > 0.05$). Further, we tried to determine if exists any association of polymorphisms in diabetes mellitus, so we tried to compare the group of diabetic patients (PDR plus non-PDR subjects) and non-diabetic groups but we did not find significant differences in frequencies of allele and genotype of all polymorphisms between those groups ($p > 0.05$). The greatest difference in allele frequencies was observed in 754C/G polymorphism, where higher allele frequency was detected for the group of diabetic patients (69% vs. 65% in non-DM group, respectively)

Table 2 – Comparisons of allele frequencies (genotype distribution) between the PDR and non-PDR groups and between the PDR + non-PDR and non-DM groups

	TT (%)	TA (%)	AA (%)	$p_{genotype}$	T (%)	A (%)	p_{allele}
−553T/A polymorphism							
PDR (n = 129)	118 (91)	10 (8)	1 (1)	0.466	95	5	0.556
Non-PDR (n = 175)	159 (91)	16 (9)	0 (0)		95	5	
Non-DM (n = 183)	168 (92)	15 (8)	0 (0)	0.732	96	4	0.421
	TT (%)	TA (%)	AA (%)	$p_{genotype}$	T (%)	A (%)	p_{allele}
−834T/A polymorphism							
PDR (n = 129)	112 (87)	15 (12)	2 (1)	0.193	93	7	0.099
Non-PDR (n = 175)	159 (91)	16 (9)	0 (0)		95	5	
Non-DM (n = 184)	168 (91)	16 (9)	0 (0)	0.463	96	4	0.210
	CC (%)	CG (%)	GG (%)	$p_{genotype}$	C (%)	G (%)	p_{allele}
−921C/G polymorphism							
PDR (n = 129)	93 (72)	33 (26)	3 (2)	0.454	85	15	0.135
Non-PDR (n = 175)	136 (78)	37 (21)	2 (1)		88	12	
Non-DM (n = 184)	139 (75)	42 (23)	3 (2)	0.998	87	13	0.521
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	$p_{genotype}$	C (%)	T (%)	p_{allele}
223C/T polymorphism							
PDR (n = 128)	109 (85)	19 (15)	0 (0)	0.924	93	7	0.524
Non-PDR (n = 173)	148 (86)	25 (14)	0 (0)		93	7	
Non-DM (n = 178)	148 (83)	28 (16)	2 (1)	0.170	91	9	0.209
	CC (%)	CG (%)	GG (%)	$p_{genotype}$	C (%)	G (%)	p_{allele}
754C/G polymorphism							
PDR (n = 129)	66 (51)	52 (40)	11 (9)	0.683	71	29	0.281
Non-PDR (n = 175)	82 (47)	74 (42)	19 (11)		68	32	
Non-DM (n = 184)	76 (41)	87 (47)	21 (12)	0.317	65	35	0.085

$p_{genotype}$—Probability of differences in genotype distribution; p_{allele}—Probability of differences in allelic frequency.

($p = 0.085$). Upon a deeper analysis, we found out that the allele drift in diabetic group was determined by increased frequency of the 754C allele in PDR group (71% vs. 65% in non-DM group, respectively) ($p = 0.05$; $p_{corr} > 0.05$). Calculated odds ratios for the CC and CG genotypes were 1.38 (95% CI, 0.6–2.9).

We also considered the questions of existing difference between the allele frequencies of each group, when divided according to the sex of the patients. No statistically significant differences between observed groups of men and women were found in genotype distributions as well as in allelic frequencies ($p > 0.05$, data are not shown).

Haplotype analysis—As for comparison of the total effect of genetic variability of all polymorphisms and their possible combinations, we experimentally tried to discover the possible association of certain haplotypes with PDR (for testing the association of the bFGF genetic variability with PDR). The haplotypes from genotype data were performed computationally using HAPLOTYPER and PHASE v. 2.0 software packages with the assumption of mutual independence of haplotypes. No statistically significant difference was found between particular haplotype frequencies of all observed groups ($p > 0.05$) (data are not shown).

3.3. *Plasma level of the bFGF protein and genetic variation*

The comparison of plasma level of the bFGF showed statistically significant difference between PDR, non-PDR and non-DM groups ($p = 0.001$) (Fig. 1). The median (range) of bFGF plasma level (pg/ml) was 62.1 (25.8–148.4) in PDR group, 52.4 (30.9–92.6) in non-PDR group and 40.6 (15.3–111.6) in non-DM group, respectively. Using the Mann–Whitney *U*-test, a significant difference in the plasma level of bFGF was seen at PDR a non-PDR groups when compared with non-DM group ($p < 0.001$ and $p = 0.031$, respectively) (Fig. 1). Statistically

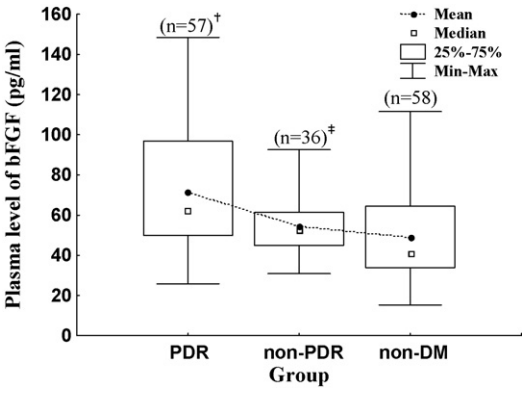


Fig. 1 – Comparison of plasma level of bFGF protein among PDR, non-PDR and non-DM groups; $p = 0.001$ for all studied groups (Kruskal–Wallis ANOVA); $^{\dagger}p < 0.001$ for PDR vs. non-DM groups (Mann–Whitney *U*-test); $^{\ddagger}p < 0.031$ for non-PDR vs. non-DM groups (Mann–Whitney *U*-test).

Table 3 – The influence of the 754C/G polymorphism of bFGF gene on its plasma level in PDR group

PDR group	Plasma level of bFGF (pg/ml) Median (minimum–maximum)
CC-genotype ($n = 28$)	63.6 (32.0–148.4)
CG-genotype ($n = 23$)	73.9 (25.8–121.2)
GG-genotype ($n = 5$)	33.1 (27.5–51.2)
p-value (Kruskal–Wallis test)	0.011
CC + CG-genotype ($n = 51$)	69.4 (25.8–148.4)
GG-genotype ($n = 5$)	33.1 (27.5–51.2)
p-value (Mann–Whitney U-test)	0.006

significant difference was observed in plasma level of bFGF between PDR a non-PDR group ($p = 0.017$).

When we compared the genetic variability of all observed polymorphisms and plasma level of the bFGF, no statistically significant difference was found within the whole sample of patients. When analysing each group, we detected a statistically significant difference in plasma level of bFGF of certain genotype 754C/G polymorphism in PDR group ($p = 0.011$). The bFGF plasma level was significantly higher for CC and GC genotypes, compared to GG genotype in PDR group ($p = 0.006$) (Table 3). There was no statistically significant difference in genetic variability of all polymorphisms and plasma level of bFGF ($p > 0.05$, data are not shown) in non-PDR and non-DM groups.

When we analysed the correlation between the plasma level of the bFGF and age (duration of diabetes), we did not detect any statistically significant Spearman rank correlation between observed parameters ($p > 0.05$). Furthermore, no significant correlation was found between plasma level of the bFGF and age (duration of diabetes mellitus) ($p > 0.05$).

4. Discussion

PDR represents serious long-term diabetic complication with an extremely negative impact on the quality of life of patients with diabetes. It is determined by the activation of genes responsible for proliferation, migration and differentiation of endothelial cells that lead to the formation of new capillaries [20]. The bFGF is involved in the process of controlling new vessel formation, angiogenesis transformation and differentiation [2,21]; therefore it seemed to be a logical candidate gene for PDR. The polymorphisms in gene encoding this factor or influencing his individual plasma level could belong to the genetic risk factors – which was our main goal – to analyse completely the bFGF gene from its genetic variability to its phenotype variability related to PDR.

When analysing genetic variability, two polymorphisms of intron 1 (754C/G) and polyA signal (65796T/C) were found. Although a few genetic variants of the bFGF gene are described in other regulative regions [14,15], no polymorphisms were detected in exon sequences. Therefore, we draw a conclusion that individual exon regions represent highly conservative sequences without genetic variability.

So far, no association study on genetic variability in bFGF gene and PDR has been published. The genomic study of the bFGF gene and the influence of 223C/T polymorphism on the expression and plasma level in atherosclerosis can be found [15]. The common functional the 223C/T polymorphism, a significant increase in the individual bFGF mRNA and protein level in CC-carriers was described. In our study, the 223C/T polymorphism did not seem to be associated with PDR neither in genotype (allele), nor in haplotype evaluation. On the base of our result, the 754C/G polymorphism might be a risk gene marker for the PDR. The C allele was more frequent in PDR group as compared with non-DM group (after multiple correction p-value was not significant). This conclusion needs to be verified by further association studies.

At present, the effects of all particular studied polymorphisms in the bFGF gene on its expression could be only hypothesised. Possible effects on the expression of the gene promoter polymorphisms related to the transcription factors or to the formation of the new sites for transcription activator after mutation were published previously [14]. The influence of 223C/T polymorphism on the expression and plasma level of the bFGF was also described earlier [15]. The mutation in this polymorphism probably leads to a structural change of the mRNA of the bFGF, which plays an important role in the process of the bFGF translation [22,23]. Our study did not prove the association between the 223C/T polymorphism and plasma level. We found an association between the 754C/G polymorphism and plasma level only in PDR group. This might be caused by the structural change of the mRNA, which could play an important role in the processes of post-transcriptional changes. On the basis of the association study and these conclusions, we reckon that there are other regulative mechanisms included (transcriptional factors, genetic changes and post-transcriptional changes), which play an important role in the bFGF level regulation. These results support that the bFGF expression is genetically based.

Increased level of bFGF, reflecting activation or stimulation of endothelial cells for proliferation, differentiation and invasion to extracellular matrix [24] is an important factor for actual vascular structure remodelling. It makes the vascular tone higher [25]. On phenotype level, it was identified that the expression increases with the formation of PDR [13]. The process of angiogenesis was examined on mice model. The process of angiogenesis carried the highest expression of the bFGF gene in the phase of maximum progression [26]. Based on our results, we confirmed higher plasma level of the bFGF gene and its important role for PDR formation.

In summary, our results showed higher plasma level of the bFGF in PDR group and confirmed the results of other studies where this candidate gene plays an important role in the cancerogenesis and angiogenesis. The newly identified polymorphisms might influence the bFGF gene regulation and further studies are necessary to analyse the role of these polymorphisms in the gene regulation and etiopathogenesis of human diseases.

Conflicts of interest

The authors state that they have no conflict of interest. All authors disclose any financial and personal relationships with other people or organization that could inappropriately influence our work.

Acknowledgement

This study was supported by postdoctoral grant 303/05/P523 from the Czech Science Foundation.

REFERENCES

[1] T. Maciag, Angiogenesis, Prog. Hemost. Thromb. 7 (1984) 167–182.
[2] D. Gospodarowicz, I. Vlodavsky, N. Savion, The extracellular matrix and the control of proliferation of vascular endothelial and vascular smooth muscle cells, J. Supramol. Struct. 13 (1980) 339–372.
[3] D. Gospodarowicz, N. Ferrara, L. Schweigerer, G. Neufeld, Structural characterization and biological functions of fibroblast growth factor, Endocr. Rev. 8 (1987) 95–114.
[4] D.B. Rifkin, D. Moscatelli, Recent developments in the cell biology of basic growth factor, J. Cell Biol. 109 (1989) 1–6.
[5] C. Basilico, D. Moscatelli, The FGF family of growth factors and oncogenes, Adv. Cancer Res. 59 (1992) 115–165.
[6] A. Mergia, R. Eddy, J.A. Abraham, J.C. Fiddes, T.B. Shows, The genes for basic and acidic fibroblast growth factors are on different human chromosomes, Biochem. Biophys. Res. Commun. 138 (1986) 644–651.
[7] J.A. Abraham, J.L. Whang, A. Tumolo, A. Mergia, J. Friedman, D. Gospodarowicz, et al., Human basic fibroblast growth factor: nucleotide sequence and genomic organization, EMBO J. 5 (1986) 2523–2528.
[8] M. Okada-Ban, J.P. Thiery, J. Jouanneau, Fibroblast growth factor-2, Int. J. Biochem. Cell Biol. 32 (2000) 263–267.
[9] I. Delrieu, The high molecular weight isoforms of basic fibroblast growth factor (FGF-2): an insight into an intracrine mechanism, FEBS Lett. 468 (2000) 6–10.
[10] C.H. Kon, N.L. Occleston, G.W. Aylward, P.T. Khaw, Expression of vitreous cytokines in proliferative vitreoretinopathy: a prospective study, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 40 (1999) 705–712.
[11] C.W. Kaven, C.W. Spraul, N.K. Zavazava, G.K. Lang, G.E. Lang, Growth factor combinations modulate human retinal pigment epithelial cell proliferation, Curr. Eye Res. 20 (2000) 480–487.
[12] J.S. Rhee, M. Black, U. Schubert, S. Fischer, E. Morgenstern, H.P. Hammes, et al., The functional role of blood platelet components in angiogenesis, Thromb. Haemost. 92 (2004) 394–402.
[13] M.B. Grant, A. Afzal, P. Spoerri, H. Pan, L.C. Shaw, R.N. Mames, The role of growth factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy, Expert. Opin. Investig. Drugs 13 (2004) 1275–1293.
[14] M. Beranek, S. Tschoplova, K. Kankova, V. Kuhrova, J. Vacha, Genetic variation in the promoter region of the basic Fibroblast Growth Factor gene (bFGF), Hum. Immunol. 64 (2003) 374–377.
[15] S. Schulz, K. Kohler, U. Schagdarsurengin, P. Greiser, G. Birkenmeier, U. Muller-Werdan, et al., The human FGF2 level is influenced by genetic predisposition, Int. J. Cardiol. 101 (2005) 265–271.
[16] Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group, Grading diabetic retinopathy from stereoscopic colour fundus photographs-an extension of the modified Airlie House classification, ETDRS Report number 10, Ophthalmology 98 (1991) 786–806.
[17] M. Stephens, N.J. Smith, P. Donnelly, A new statistical method for haplotype reconstruction from population data, Am. J. Hum. Genet. 68 (2001) 978–989.
[18] M. Stephens, P. Donnelly, A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data, Am. J. Hum. Genet. 73 (2003) 1162–1169.
[19] T. Niu, Z.S. Qin, X. Xu, J.S. Liu, Bayesian haplotype inference for multiple linked single-nucleotide polymorphisms, Am. J. Hum. Genet. 70 (2002) 157–169.
[20] A. Bikfalvi, Significance of angiogenesis in tumour progression and meta-stasis, Eur. J. Cancer 31 (1995) 1101–1104.
[21] M. Paques, P. Massin, A. Gaudric, Growth factors and diabetic retinopathy, Diab. Metab. 23 (1997) 125–130.
[22] S.Y. Le, J.V. Maizel, A common RNA structural motif involved in the internal initiation of translation of cellular mRNAs, Nucleic Acids Res. 25 (1997) 362–369.
[23] A.C. Prats, H. Prats, Translational control of gene expression: role of IRES's and consequences for cell transformation and angiogenesis, Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. 72 (2002) 367–413.
[24] R. Tsuboi, Y. Sato, D.B. Rifkin, Correlation of cell migration, cell invasion, receptor number, proteinase production, and basic fibroblast growth factor level in endothelial cells, J. Cell Biol. 110 (1990) 511–517.
[25] S.R. Bryant, R.J. Bjercke, D.A. Erichsen, A. Rege, V. Lindner, Vascular remodelling in response to altered blood flow is mediated by fibroblast growth factor-2, Circ. Res. 84 (1999) 323–328.
[26] E. Chavakis, B. Riecke, J. Lin, T. Linn, R.G. Bretzel, K.T. Preissner, et al., Kinetics of integrin expression in the mouse model of proliferative retinopathy and success of secondary intervention with cyclic RGD peptides, Diabetologia 45 (2002) 262–267.

Příloha 15

Molecular Vision 2008; 14:1114-1121 <http://www.molvis.org/molvis/v14/a132>
Received 7 November 2007 | Accepted 5 May 2008 | Published 14 June 2008

© 2008 Molecular Vision

Genetic variations and plasma levels of gelatinase A (matrix metalloproteinase-2) and gelatinase B (matrix metalloproteinase-9) in proliferative diabetic retinopathy

Michal Beránek,[1] Petr Kolar,[2] Svatava Tschoplova,[1] Katerina Kankova,[1] Anna Vasku[1]

[1]Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic; [2]Department of Ophthalmology, University Hospital Brno-Bohunice, Brno, Czech Republic

Purpose: Matrix metalloproteinases (MMPs) are postulated to be involved in the development of retinal angiogenesis through the regulation of extracellular matrix. The objective of the present study was to test for a possible association of five single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *MMP-2* gene and two polymorphisms in the *MMP-9* gene with proliferative diabetic retinopathy (PDR) and to determine their plasma levels.

Methods: The study comprised 490 Caucasian participants, who were divided into three groups: diabetics with PDR, diabetics without PDR, and nondiabetics. Genotypes were detected by polymerase chain reactions followed by restriction analyses with specific endonucleases and their frequencies determined. Plasma levels of MMP-2 and MMP-9 proteins were analyzed by ELISA.

Results: Neither *MMP-2* SNPs nor *MMP-9* SNPs revealed significant association with PDR in single-locus comparisons; similarly, *MMP-2* haplotype frequencies did not differ notably between groups, although the C-allele of the −1306C/T polymorphism and the C-allele containing haplotype (CGCG) in *MMP-2* exhibited marginally significant association with PDR in males ($p<0.05$, p_{corr}=NS). Both MMP-2 and MMP-9 plasma levels showed statistically significant differences among the studied groups ($p<0.001$ and $p=0.001$, respectively) with highest levels in the PDR group. MMP-2 plasma levels were markedly higher in carriers of either the −1306CC and −1306CT genotypes and ($p=0.009$) or CGCG haplotype ($p=0.043$).

Conclusions: These findings indicate that genotype- and haplotype-specific effects on *MMP-2* expression corresponding with its plasma levels may contribute to the susceptibility to PDR.

Proliferative diabetic retinopathy (PDR) is characterized by active angiogenesis in the retina and the formation of fibrovascular tissue at the vitreoretinal interface [1]. Angiogenesis involves migration, proliferation, differentiation, and adhesion of cells and is influenced by the surrounding extracellular matrix (ECM). These processes require regulation and local production of angiogenic factors [2,3] as well as synthesis of ECM components necessary for the anchorage of migrating endothelial and other cells, such as retinal pigment epithelium, glial cells, and fibroblasts [4, 5]. Degradation of ECM proteins is exerted by matrix metalloproteinases (MMPs), whose activity is, in turn, regulated by natural inhibitors known as tissue inhibitors of MMPs [6]. During angiogenesis, MMPs have an important role in connective tissue remodeling and in the degradation of basement membrane and surrounding ECM [7,8]. Thus, the regulation of angiogenesis may be dependent on the intensity of expression of these enzymes as well as endocrine and growth factors. Any genetic polymorphism in the loci encoding MMPs and their corresponding plasma levels could belong to the risk factors participating in PDR development.

MMPs belong to a family of zinc-containing ECM-degrading enzymes that share common structural and functional properties [9]. The important molecules controlling the formation of new vessels are gelatinase A (MMP-2) and gelatinase B (MMP-9), which have the ability to cleave type IV collagen, a major component of the basement membrane. Some studies reported that both MMPs play an important role in the regulation of angiogenesis and may be relevant to the development of the proliferative phase of DR [10-12].

Genetic variability in the regulatory regions of the genes is one of the significant factors that influence levels of MMPs. Several polymorphisms have been identified in the promoter and coding regions of *MMP-2* and *MMP-9* [13-16]. In this study, we examined five polymorphisms in *MMP-2* (−168G/T, −735C/T, −790T/G, −1306C/T, and –1575G/A) and two polymorphisms in *MMP-9* (−1562C/T and R279Q). We employed the following selection criteria: frequency of the minor allele ≥5%; and previous evidence that sequence variants in the promoters influence expression as well as levels of MMPs. Polymorphism –1306C/T of *MMP-2* was shown to be linked to a strikingly lower promoter activity associated with the T-allele [14]. Similarly, SNP –1562C/T of *MMP-9*

Corresponding author: Michal Beránek, Masaryk University, Faculty of Medicine, Department of Pathophysiology, Kamenice 5, 625 00 Brno, Czech Republic; Phone: +420 608 423 914; FAX: +420 549 494 340; email: mberanek@med.muni.cz

was found to influence transcription in an allele-specific manner, the T-allele having a greater strength than the C-allelic promoter [17]. We hypothesized that susceptibility to the development of PDR may be associated with the presence of particular alleles at the MMPs loci.

The aim of the present study was to employ PDR to find a possible association of genetic variations in *MMP-2* and *MMP-9*. Furthermore, we determined MMP-2 and MMP-9 plasma levels in subjects studied and analyzed mutual relationships between plasma level of product and genetic variability within the particular gene.

METHODS

Subjects: The present study enrolled 490 unrelated Caucasian subjects, 304 of whom had type 2 diabetes mellitus (DM). All participants were divided into three groups: diabetics with PDR (PDR), diabetics without PDR (non-PDR), and nondiabetics (non-DM). DM was diagnosed previously according to the World Health Organization criteria. All diabetic participants were on some form of treatment. Mean known duration of DM was 11.4±0.56 years (mean±SE). The PDR group consisted of 129 patients (66 men and 63 women), and their average age was 62.3±0.72 years (range 47–79 years). All PDR subjects regularly attended a specialized diabetology unit of the Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic. PDR was assessed by direct ophthalmoscopy through dilated pupils of PDR patients and classified as proliferative according to the early treatment diabetic retinopathy (ETDR) criteria [18].Ophthalmologic examinations of PDR patients were performed several times per year. The non-PDR group (n=175) was composed of 175 participants (80 men and 95 women) whose average age was 64.3±0.95 years. The non-DM group had 186 participants (61 men and 125 women) who had no personal history or clinical signs of diabetes. The average age of participants in this group was 59.4±0.99 years. Only the non-DM group (control group) had no evidence of cardiovascular disease, cancer, or allergy, and they were not taking any long-term medication. Signed informed consent was obtained from every participant in each group before their insertion in the study. The present study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethical Committee, Medical Faculty, Masaryk University, Brno, Czech Republic.

PCR for MMP-2 and MMP-9 single nucleotide polymorphisms: Peripheral blood (5 ml) of all investigated subjects was obtained and mixed with EDTA. Genomic DNA was isolated from 5 ml EDTA-anticoagulated peripheral blood leukocytes by a standard extraction method and used as a template for PCR. Reactions were performed in a final volume of 25 µl, containing 50 mM KCl, 10 mM TRIS-HCl buffer, pH 8.4, 1.5 mM $MgCl_2$, 10 pmol of each primer (Table 1), 200 µM dNTP, 1 µg of genomic DNA in the presence of 0.7 U of Taq polymerase (MBI Fermentas, Glen Burnie, MD). After the initial denaturation step (95 °C for 5 min), each cycle (of additional 30 cycles) consisted of a 95 °C denaturation for 30 s, 30 s of annealing, a 72 °C extension for 30 s, and a final extension lasting 8 min at 72 °C. Polymorphisms (−735C/T, −790T/G, −1306C/T, and –1575G/A) were genotyped by PCR and subsequent restriction with specific endonucleases according to methods described elsewhere [15]. Those polymorphisms were analyzed by the standard PCR method which was mentioned above. The primer sequences, annealing temperatures, PCR product and locations for all methods are given in Table 1. In the case of the −168G/T polymorphism, 15 µl aliquots of the PCR product were digested with 3 U of BseDI (MBI Fermentas) for 5 h at 55 °C. Digestion revealed fragments of 26 bp, 194 bp, and 205 bp for the wild-type allele and 26 bp and 399 bp for the mutated allele.

Polymorphisms −1562C/T and R279Q in *MMP-9* were detected using a modified PCR method based on the published single-strand conformation polymorphism technique [16]. Aliquots (10 µl) of the −1562C/T PCR product were digested with 3 U PaeI (MBI Fermentas) for 5 h at 37 °C. Digestion revealed fragments of 144 and 185 bp for the mutated allele. The wild type allele C lacked the PaeI restriction site. In the case of the R279Q polymorphism, 10 µl of PCR product were digested with 3 U of SmaI (MBI Fermentas) for 5 h at 30 °C. Digestion revealed fragments of 22 and 73 bp for the wild type allele. The mutated allele Q lacked the SmaI restriction site.

Determination of metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 plasma levels: For determination of plasma levels of MMPs the human MMP-2 and MMP-9 ELISA Kits (RayBiotech, Inc., Norcross, GA) were used according to the manufacturer's instructions. The minimum detectable dose was less than 80 pg/ml of MMP-2 and 10 pg/ml of MMP-9, respectively.

Statistical analysis: Differences in genotype distribution and consistency with Hardy–Weinberg equilibrium were tested by chi-square test. Differences in allele frequencies of SNPs were tested by two-tailed Fisher exact test. PHASE v. 2.0 [19] software was used to resolve a sample of phase-unknown multilocus genotypes and to estimate population haplotype frequencies by the Bayesian-based algorithm. Comparison of the estimated haplotype frequencies was performed as omnibus testing of differences in haplotype frequency profiles between the two groups (statistical significance assessed empirically via permutation testing). In addition, haplotype-specific effects were analyzed using inferred haplotype pairs by computing chi-square statistics.

Normally distributed metric parameters (Kolmogorov–Smirnov test) were presented as mean ± standard error of the mean (SE), others as median (range). Mann–Whitney U-test, Kruskal–Wallis ANOVA and Spearman rank correlation tests were used where appropriate. Values of $p<0.05$ were considered to be statistically significant. Bonferroni

Table 1. PCR reaction conditions

Gene	SNP	Primer sequence (sense/antisense)	T_a (°C)	Product (bp)
MMP-2				
	−168G/T	5′-CTGACCATTCCTTCCCGTTC-3′ 5′-CGCCTGAGGAAGTCTGGAT-3′	51	425
	−735C/T	5′-ATAGGGTAAACCTCCCCACATT-3′ 5′-GGTAAAATGAGGCTGAGACCTG-3′	59	300
	−790T/G	5′-GGGTCTTTGTGACCTCGATC-3′ 5′-GGTAAAATGAGGCTGAGACCTG-3′	56	118
	−1306C/T	5′-CTTCCTAGGCTGGTCCTTACTGA-3′ 5′-CTGAGACCTGAAGAGCTAAAGAGCT-3′	49	193
	−1575G/A	5′-ACTGACTCTGGAAAGTCAGAGCAG-3′ 5′-GGCACAGGGTGAGGGGATGG-3′	60	269
MMP-9				
	−1562C/T	5′-ATGCTCATGCCCGTAATCCT-3′ 5′-GGGGTAGTATCACTCTGTCACC-3′	65	329
	R279Q	5′-CTCGCCCCAGGACTCTACAC-3′ 5′-GTGCAGGCGGAGTAGGATT-3′	60	95

The table summarizes the primer sequences, annealing temperatures, and PCR product lengths.

correction (p_{corr}) was applied in case of multiple comparisons modifying the significant p-value threshold according to number of comparisons. Statistical analyses were performed using program package Statistica for Windows (StatSoft Inc., Tulsa, OK).

RESULTS

Genetic polymorphisms of metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 genes and proliferative diabetic retinopathy: Genotype frequencies of all SNPs (−168G/T, −735C/T, −790T/G, −1306C/T, –1575G/A, −1562C/T, and R279Q) in the individual groups are shown in Table 2. Genotype distribution of any of the seven polymorphism studied did not differ from Hardy–Weinberg equilibrium in any group (p>0.05). Similarly, genotype frequencies of any polymorphisms did not differ significantly between groups in pair-wise comparison (p>0.05). Comparison of allele frequencies showed statistically significant difference in allele frequencies of the -1306C/T polymorphism between the PDR versus non-DM groups (p=0.024), however, after the correction for multiple comparison the difference did not remained significant (pcorr>0.05). The calculated odds ratio (OR) for the CC and CT genotypes was 1.41 (95% confidence interval (CI): 0.52±3.87).

Testing for association carried separately for males and females revealed statistically significant gender-specific association of the two *MMP-2* polymorphisms (−168G/T and −1306C/T), in particular, differences in genotype as well as in allele frequencies between the PDR and non-DM groups (Table 3). In female subjects, the significant differences in genotype distribution (p=0.040) and allele frequency (p=0.016) were found for −168G/T polymorphism. Female subjects carrying the −168T allele had a 2.45 fold higher risk of developing PDR (OR=2.45, 95% CI: 1.16–5.20) than those not carrying this allele. On the other hand, the statistically significant difference in genotype distribution (allele frequency) of −1306C/T polymorphism was found in male subjects between the same groups (p=0.039 and p=0.024). The calculated OR for patients carrying the −1306C allele was 1.88 (95% CI: 1.05–3.40). However, after taking the number of comparisons into account, we found none of the significances remained statistically significant (p_{corr}>0.05).

Haplotype analysis was performed to compare the sum effect of genetic variability of the four polymorphisms (−1306C/T, −790T/G, −735C/T and −168G/T) in *MMP-2*. The −1575G/A polymorphism was omitted due to the strong linkage disequilibrium between −1306C/T and −1575G/A polymorphisms. Haplotypes were constructed from genotype data of all subjects computationally using PHASE software with the assumption of mutual independence of haplotypes. No statistically significant difference was found in haplotype frequencies between the groups studied (omnibus p>0.05; 10,000 permutations). Analyses performed separately for men and women revealed a statistically significant difference in males (omnibus p=0.042; 10,000 permutations); while no significant difference was observed in females (omnibus p=0.738, 10 000 permutations). The pair-wise comparison of groups in males showed significant differences in haplotype frequencies between PDR versus non-PDR groups (p=0.031). To analyze haplotype-specific effects on the trait (i.e., presence of PDR), we asigned pairs of haplotypes to individuals. Subsequently, numbers of individuals with this particular haplotype were counted. Table 4 shows the absolute numbers of haplotypes in particular groups that were inferred retrospectively with probability more than 90%. Carriers of haplotypes with frequencies <1% in all three groups were pooled together as “rare.” Separate one-degree of freedom

Table 2. Genotype distributions of MMP-2 and MMP-9 polymorphisms

	MMP-2 −168G/T					
	GG (%)	GT (%)	TT (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=128) [1]	106 (83)	19 (15)	3 (2)			
non-PDR (n=175) [2]	151 (86)	23 (13)	1 (1)	NS	NS	NS
non-DM (n=186) [3]	157 (84)	29 (16)	0 (0)	NS	NS	NS
	MMP-2 −735C/T					
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=128) [1]	95 (74)	32 (25)	2 (1)			
non-PDR (n=175) [2]	136 (78)	38 (22)	1 (0)	NS	NS	NS
non-DM (n=186) [3]	142 (76)	40 (22)	4 (2)	NS	NS	NS
	MMP-2 −790T/G					
	TT (%)	TG (%)	GG (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=128) [1]	74 (57)	46 (36)	9 (7)			
non-PDR (n=175) [2]	92 (54)	66 (38)	14 (8)	NS	NS	NS
non-DM (n=186) [3]	90 (48)	85 (46)	11 (6)	NS	NS	NS
	MMP-2 −1306C/T					
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=128) [1]	79 (61)	44 (34)	6 (5)			
non-PDR (n=175) [2]	94 (54)	66 (38)	15 (9)	NS	NS	NS
non-DM (n=186) [3]	90 (48)	84 (45)	12 (7)	NS	NS	**(p=0.024)**
	MMP-2 −1575G/A					
	GG (%)	GA (%)	AA (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=128) [1]	73 (57)	49 (38)	7 (5)			
non-PDR (n=175) [2]	94 (54)	66 (38)	15 (9)	NS	NS	NS
non-DM (n=186) [3]	90 (48)	84 (45)	12 (7)	NS	NS	NS
	MMP-9 −1562C/T					
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=128) [1]	94 (73)	32 (25)	3 (2)			
non-PDR (n=175) [2]	126 (72)	47 (27)	2 (1)	NS	NS	NS
non-DM (n=186) [3]	134 (72)	49 (26)	3 (2)	NS	NS	NS
	MMP-9 R279Q					
	RR (%)	RQ (%)	QQ (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=128) [1]	44 (34)	69 (54)	16 (12)			
non-PDR (n=175) [2]	73 (42)	83 (47)	19 (11)	NS	NS	NS
non-DM (n=186) [3]	70 (38)	86 (46)	30 (16)	NS	NS	NS

There were no significant differences between the groups when comparing genotype distributions ($p>0.05$). The statistically significant difference was found in allele frequencies of −1306C/T polymorphism between the proliferative diabetic retinopathy (PDR versus non-diabetes mellitus (DM) groups ($p=0.024$; $p_{corr}>0.05$). Genotype distribution of any polymorphism did not differ from Hardy-Weinberg equilibrium in any group ($p>0.05$). The p-values of allele frequencies (two-tail Fisher exact test) are given in parentheses.

TABLE 3. COMPARISONS OF GENOTYPE DISTRIBUTIONS OF THE TWO *MMP-2* POLYMORPHISMS IN MALE AND FEMALE SUBJECTS.

Males	**MMP-2 −168G/T**					
	GG (%)	GT (%)	TT (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=65) (1)	57 (88)	7 (11)	1 (1)			
non-PDR (n=80) (2)	69 (86)	11 (14)	0 (0)	NS	NS	NS
non-DM (n=61) (3)	46 (75)	15 (25)	0 (0)	NS	NS	NS
	MMP-2 −1306C/T					
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=66) (1)	42 (64)	24 (36)	0 (0)			
non-PDR (n=80) (2)	43 (54)	32 (40)	5 (6)	NS	NS	**p=0.039**
non-DM (n=61) (3)	29 (47)	28 (46)	4 (7)	NS	NS	**(p=0.024)**
Females	**MMP-2 −168G/T**					
	GG (%)	GT (%)	TT (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=63) (1)	49 (78)	12 (19)	2 (3)			
non-PDR (n=95) (2)	82 (86)	12 (13)	1 (1)	NS	NS	**p=0.040**
non-DM (n=125) (3)	111 (89)	14 (11)	0 (0)	NS	NS	**(p=0.016)**
	MMP-2 −1306C/T					
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	(1) vs. (2)	(2) vs. (3)	(1) vs. (3)
PDR (n=63) (1)	37 (59)	20 (32)	6 (9)			
non-PDR (n=95) (2)	51 (54)	34 (36)	10 (10)	NS	NS	NS
non-DM (n=125) (3)	61 (49)	56 (45)	8 (6)	NS	NS	NS

The table shows the statistical significance of differences in allele frequencies (the p-values of two-tail Fisher exact test are given in parentheses) and genotype distribution (χ^2 test) between the studied groups for the two sexes separately. In female subjects, the significant difference was found in allele frequency of the −168G/T polymorphism between the proliferative diabetic retinopathy (PDR) and non-diabetes mellitus (DM) groups (p=0.016, odds ratio (OR)=2.45, 95% CI: 1.16-5.20). In male subjects the −1306C/T polymorphism exhibited statistically significant difference in allele frequency between the same groups (p=0.024, OR=1.88 (95% CI: 1.05-3.40). However, after the correction for multiple comparisons differences were no longer significant (p_{corr}>0.05).

tests were conducted for a series of 2×2 contingency tables testing the frequency of each specific haplotype versus all others between particular groups (PDR versus non-PDR and PDR versus non-DM). Two specific haplotypes, - CGCG (OR=7.57, i.e., risk haplotype) and TGCG (OR=0.56, i.e., protective haplotype), exhibited significant associations with PDR in male patients (p=0.030 and p=0.041, respectively), after the correction for multiple tests, however, the significances did not remained significant (p_{corr}>0.05).

Plasma levels of metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 versus genetic variation: MMP-9 plasma levels were 12.3 ng/ml (8.0–16.7 ng/ml) in the PDR group, 11.3 ng/ml (7.9–13.1 ng/ml) in the non-PDR group and 10.3 ng/ml (2.0–13.7 ng/ml) in the non-DM group (p=0.001, Kruskal–Wallis ANOVA). Using the Mann–Whitney U test, we observed significant differences in the plasma levels of MMP-9 between the PDR or non-PDR groups and the non-DM group (p<0.001 and p=0.006, respectively), while we observed no notable difference between the PDR and non-PDR groups (p=0.079). No significant differences were found between *MMP-9* genetic variations (groups defined according to the −1562C/T or R279Q polymorphism genotypes), and plasma levels of the MMP-9 in the whole sample or within each gender and study group separately (p>0.05).

MMP-2 plasma levels were 401.5 ng/ml (142.4–633.4 ng/ml) in the PDR group, 277.9 ng/ml (118.0–473.5 ng/ml) in the non-PDR group, and 260.8 ng/ml (44.8–428.2 ng/ml) in the non-DM group (p<0.001, Kruskal–Wallis ANOVA). The Mann–Whitney U test revealed statistically notable differences in MMP-2 between the PDR and non-PDR or non-DM groups (p=0.001 and p<0.001, respectively). A comparison of plasma levels of MMP-2 corresponding to

Table 4. Haplotypes derived from *MMP-2* polymorphisms in male patients

Haplotype	PDR (%)	non-PDR (%)	χ^2 (p-value)	OR (95% CI)	non-DM (%)	χ^2 (p-value)	OR (95% CI)
CTCG	73 (55)	83 (52)	NS	-	53 (43)	NS	-
TGCG	23 (17)	44 (28)	**0.041**	0.56 (0.32-0.98)	34 (28)	**0.046**	0.55 (0.30-0.99)
CTTG	21 (16)	21 (13)	NS	-	17 (14)	NS	-
CTCT	9 (7)	11 (7)	NS	-	15 (12)	NS	-
CGCG	6 (5)	1 (1)	**0.030**	7.57 (0.89-63.71)*	1 (1)	NS	-
Rare	0 (0)	0 (0)	NS	-	2 (2)	NS	-
PDR vs. non-PDR	**0.031****		PDR vs. non-DM	0.068**			

MMP-2 haplotypes inferred from the four single nucleotide polymorphisms (SNPs; ordered from the 5′ to 3′as follows: −1306C/T, −790T/G, −735C/T, and −168G/T) in males. Haplotypes with frequencies less than 1% in both groups were pooled together as "rare". χ^2 (p-value) was derived from single 2x2 contingency tables testing the frequency of each specific haplotype vs. all others between particular groups (proliferative diabetic retinopathy [PDR] versus non-PDR and PDR versus non-diabetes mellitus [DM]). The double asterisk represents omnibus p-value was assessed empirically by permutation testing (PHASE output, 10 000 permutations). The asterisk means an odds ratio>1.5 was significantly associated with PDR.

particular genotypes of *MMP-2* SNPs showed a statistically significant difference for the −1306C/T variant (p=0.011, Kruskal–Wallis ANOVA). The plasma levels were significantly higher in the CC and CT genotypes, compared to TT in diabetic patients (p=0.009, Mann–Whitney U test). No gender-specific differences were ascertained for the −1306C/T variant and *MMP-2*; this was mostly due to incomparably low numbers of TT genotypes after splitting the whole group into two genders.

The comparison of plasma levels of MMP-2 among the haplotype groups–i.e., risk (CGCG) versus the protective (TGCG) versus all others–revealed the highest MMP-2 plasma levels were in the risk haplotype group (p=0.043, Kruskal–Wallis ANOVA). The median (range) of MMP-2 was 388.1 ng/ml (186.4–633.4 ng/ml) in the PDR-risk haplotype, 269.2 ng/ml (185.3 – 473.5 ng/ml) in the protective haplotype, and 259.5 ng/ml (44.8–425.8 ng/ml) in others, respectively. As with the previous situation, gender-specific differences were not ascertained due to low numbers of risk haplotypes after dividing the study population into women and men.

Furthermore, because advanced age and DM duration are risk factors for PDR, we analyzed the correlation between the plasma levels of MMP-2 and MMP-9 and the aforementioned parameters. A statistically significant Spearman rank correlation was found between plasma level of MMP-2 and DM duration (Rs=0.376; p=0.005) while no other correlation was ascertained.

DISCUSSION

So far, no association study of genetic variability in *MMP-2* and *MMP-9* and PDR has been published. Retinal angiogenesis is a hallmark of PDR, involving the production of angiogenic factors as well as synthesis of ECM proteins. Both *MMP-2* and *MMP-9* are interesting candidate genes for PDR because of their role in connective tissue remodeling and in regulation of extracellular matrix during angiogenesis [20].

Analysis of individual polymorphisms showed that their frequencies in Czech Caucasian subjects are similar to those described previously [15,21], however, none of individual polymorphism was associated with PDR in this study. Allele frequencies of the −168G/T and −1306C/T polymorphisms differed marginally in female and male study participants between the PDR and control groups; however, the interpretation of suggestive gender-specific differences is not straightforward. One possible explanation might be a different modulatory effect of sex hormones on cytokine-regulated gene expression of *MMP-2* or regulation of MMP-2 plasma levels [22,23]. While single-locus association studies have prevailed in the past, haplotype-based association studies offer more robust approach to the analysis of complex traits since these studies consider the whole genetic variability within the particular locus as a unit. Previously we showed that TGF-β_1 haplotypes might play a role in PDR susceptibility [24]. Furthermore, specific haplotypes based on SNPs in the promoter region of the MMP-2 gene were associated with coronary artery disease [15]. The present study identified two specific haplotypes, CGCG (risk) and TGCG (protective), which were marginally associated with PDR in male patients. This is in agreement with the results of single-locus association since the C allele of the −1306C/T variant significantly associated with PDR in male subjects defines the two haplotypes.

Several previous studies quantified levels of MMP-2 and MMP-9 proteins in PDR subjects [25-27]. Data were obtained by various methods (zymography, immunoblot, and immunohistochemistry), and the results showed increased concentrations of MMP-2 and MMP-9 in patients with PDR [28,29]. Using ELISA, we confirmed that PDR is associated with the highest plasma levels of both MMP-2 and MMP-9 compared to non-DM as well as non-PDR groups. Effects of

genetic variability on the level of gene expression of MMPs were also described by Price and Zhang [14,17]. The transition C→T of the −1306C/T polymorphism displayed a lower promoter activity for the T allele [17]. Furthermore, the −1575G allele increased transcription activity and had an independent additive effect with the −1306C allele [30]. Our results support an importance of the −1306C/T polymorphism as a factor determining the intermediate phenotype, since the risk CC/CT genotypes and risk haplotype containing the C allele exhibited significantly highest plasma level of MMP-2 protein. Unfortunately, we could not pursue the possible effect of male gender-specific association in the study of its effect on MMP-2 levels since the numbers were too low in some groups of genotypes or haplotypes to allow for an adequate comparison. Nevertheless, the topic is intriguing enough to warrant further study on a larger group.

In conclusion, we demonstrated plasma levels of MMP-2 are notably higher in patients with PDR, and they exhibit significant −1306C/T genotype- and haplotype-specific differences with higher levels in the CC/CT genotypes and CGCG haplotype. Although we have not been able to prove statistically significant association of those *MMP-2* gene variants with PDR, both suggestive risk genotypes and haplotype are overrepresented in the PDR group which explains the observed difference in the MMP-2 plasma levels between patient groups. The gender-specific effects on *MMP-2* regulation require further study.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by grant 303/05/P523 from the Czech Science Foundation.

REFERENCES

1. Kohner EM. Diabetic retinopathy. BMJ 1993; 307:1195-9. [PMID: 8251848]
2. Abu El-AsrarAMVan den SteenPEAl-AmroSAMissottenLOpdenakkerGGeboesKExpression of angiogenic and fibrogenic factors in proliferative vitreoretinal disorders.Int Ophthalmol2007271122Epub 2007 Mar 21 [PubMed: 17375263]
3. Forrester JV, Shafiee A, Schroder S, Knott R, McIntosh L. The role of growth factors in proliferative diabetic retinopathy. Eye 1993; 7:276-87. [PMID: 7607347]
4. Cruickshanks KJ, Vadheim CM, Moss SE, Roth MP, Riley WJ, Maclaren NK, Langfield D, Sparkes RS, Klein R, Rotter JI. Genetic marker associations with proliferative retinopathy in persons diagnosed with diabetes before 30 yr of age. Diabetes 1992; 41:879-85. [PMID: 1612203]
5. Hiscott P, Waller HA, Grierson I, Butler MG, Scott DL. The extracellular matrix of reparative tissue in the vitreous: fibronectin production in proliferative diabetic retinopathy membranes. Eye 1993; 7:288-92. [PMID: 7607348]
6. Khokha R, Denhart DT. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases: a review of their role in tumorigenesis and tissue invasion. Invasion Metastasis 1989; 9:391-405. [PMID: 2689386]
7. Taylor CM, Thompson JM, Weiss JB. Matrix integrity and the control of angiogenesis. Int J Radiat Biol 1991; 60:61-4. [PMID: 1713942]
8. Furness PN. Basement membrane synthesis and degradation. J Pathol 1997; 183:1-3. [PMID: 9370939]
9. GolubnitschajaOJakscheAMoenkemannHYeghiazaryanKKarl SETrogDSchildHHLöfflerKUMolecular imaging system for possible prediction of active retinopathy in patients with Diabetes mellitus.Amino Acids20052822937Epub 2005 Feb 23 [PubMed: 15723238]
10. Grant MB, Caballero S, Tarnuzzer RW, Bass KE, Ljubimov AV, Spoerri PE, Galardy RE. Matrix metalloproteinase expression in human retinal microvascular cells. Diabetes 1998; 47:1311-7. [PMID: 9703333]
11. QiJHEbrahemQYeowKEdwardsDRFoxPLAnand-ApteBExpression of Sorsby's fundus dystrophy mutations in human retinal pigment epithelial cells reduces matrix metalloproteinase inhibition and may promote angiogenesis.J Biol Chem200227713394400Epub 2002 Jan 30 [PubMed: 11821400]
12. Salzmann J, Limb GA, Khaw PT, Gregor ZJ, Webster L, Chignell AH, Charteris DG. Matrix metalloproteinases and their natural inhibitors in fibrovascular membranes of proliferative diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol 2000; 84:1091-6. [PMID: 11004090]
13. Ferrand PE, Parry S, Sammel M, Macones GA, Kuivaniemi H, Romero R, Strauss JF. A polymorphism in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with increased risk of preterm premature rupture of membranes in African Americans. Mol Hum Reprod 2002; 8:494-501. [PMID: 11994547]
14. PriceSJGreavesDRWatkinsHIdentification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 gene: role of Sp1 in allele-specific transcriptional regulation.J Biol Chem2001276754958Epub 2000 Dec 12 [PubMed: 11114309]
15. Vasku A, Goldbergova M, Izakovicova Holla L, Siskova L, Groch L, Beranek M, Tschoplova S, Znojil V, Vacha J. A haplotype constituted of four MMP-2 promoter polymorphisms (−1575G/A, −1306C/T, −790T/G and −735C/T) is associated with coronary triple-vessel disease. Matrix Biol 2004; 22:585-91. [PMID: 14996438]
16. Zhang B, Henney A, Eriksson P, Hamsten A, Watkins H, Ye S. Genetic variation at the matrix metalloproteinase-9 locus on chromosome 20q12.2–13.1. Hum Genet 1999; 105:418-23. [PMID: 10598806]
17. Zhang B, Herrmann SM, Eriksson P, de Maat M, Evans A, Arveiler D, Luc G, Cambien F, Hamsten A, Watkins H, Henney AM. Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation severity of coronary atherosclerosis. Circulation 1999; 99:1788-94. [PMID: 10199873]
18. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs-an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Ophthalmology 1991; 98:786-806. [PMID: 2062513]
19. StephensMSmithNJDonnellyPA new statistical method for haplotype reconstruction from population data. Comment in:

Am J Hum Genet. 2001 Oct;69(4):906–14.Am J Hum Genet20016897889Epub 2001 Mar 9 [PubMed: 11254454]

20. Kon CH, Occleston NL, Charteris D, Daniels J, Aylward GW, Khaw PT. A prospective study of matrix metalloproteinases in proliferative vitreoretinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 1998; 39:1524-9. [PMID: 9660504]
21. Lamblin N, Bauters C, Hermant X, Lablanche JM, Helbecque A, Amouyel P. Polymorphisms in the promoter regions of MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-12 genes as determinants of aneurysmal coronary artery disease. J Am Coll Cardiol 2002; 40:43-8. [PMID: 12103254]
22. Koh KK, Ahn JY, Kang MH, Kim DS, Jin DK, Sohn MS, Park GS, Choi IS, Shin EK. Effects of hormone replacement therapy on plaque stability, inflammation, and fibrinolysis in hypertensive or overweight postmenopausal women. Am J Cardiol 2001; 88:1423-6. [PMID: 11741566]
23. Vegeto E, Bonincontro C, Pollio G, Sala A, Viappiani S, Nardi F, Brusadelli A, Viviani B, Ciana P, Maggi A. Estrogen prevents the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in microglia. J Neurosci 2001; 21:1809-18. [PMID: 11245665]
24. Beranek M, Kankova K, Benes P, Izakovicova-Holla L, Znojil V, Hajek D, Vlkova E, Vacha J. Polymorphism R25P in the gene encoding transforming growth factor-beta (TGF-beta1) is a newly identified risk factor for proliferative diabetic retinopathy. Am J Med Genet 2002; 109:278-83. [PMID: 11992481]
25. Brown D, Hamdi H, Bahri S, Kenney MC. Characterization of an endogenous metalloproteinase in human vitreous. Curr Eye Res 1994; 13:639-47. [PMID: 7805394]
26. Das A, McGuire PG, Eriqat C, Ober RR, DeJuan E Jr, Williams GA, McLamore A, Biswas J, Johnson DW. Human diabetic neovascular membranes contain high levels of urokinase and metalloproteinase enzymes. Invest Ophthalmol Vis Sci 1999; 40:809-13. [PMID: 10067990]
27. De La Paz MA, Itoh Y, Toth CA, Nagase H. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in human vitreous. Invest Ophthalmol Vis Sci 1998; 39:1256-60. [PMID: 9620087]
28. Jin M, Kashiwagi K, Iizuka Y, Tanaka Y, Imai M, Tsukahara S. Matrix metalloproteinases in human diabetic and nondiabetic vitreous. Retina 2001; 21:28-33. [PMID: 11217926]
29. Kosano H, Okano T, Katsura Y, Noritake M, Kado S, Matsuoka T, Nishigori H. ProMMP-9 (92 kDa gelatinase) in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. Life Sci 1999; 64:2307-15. [PMID: 10374894]
30. Harendza S, Lovett DH, Panzer U, Lukacs Z, Kuhnl P, Stahl RA. Linked common polymorphisms in the gelatinase a promoter are associated with diminished transcriptional response to estrogen and genetic fitness. J Biol Chem 2003; 278:20490-9. [PMID: 12657623]

The print version of this article was created on 5 June 2008. This reflects all typographical corrections and errata to the article through that date. Details of any changes may be found in the online version of the article.

Příloha 16

a factor having a deliterious effect of coeliac disease. Acta Paediatr., 1953, 42, p. 34–39. – **8. Ferguson, A., Arranz, E., O'Mahoney, S.** Clinical and pathological spectrum of coeliac disease – active, silent, latent, potencila. Gut, 1993, 34, p. 1500–1508. – **9. Halttunen, T., Maki, M.** Serum IgA from patients with celiac disease inhibits human T84 intestinal crypt epithelial cell diferenciacion. Gastroenterology, 1999, 116, p. 566–570. – **10. Kotalová, R., Vraná, M., Dobrovolná, M., et al.** HLA-DRB1/DQA1/DQB1 alely a haplotypy českých dětí s celiakální sprue. Čas. Lék. čes., 2002, 141, p. 518–522. – **11. Maki, M., Collin, P.** Coeliac disease. Lancet, 1997, 349, p. 1755–1761. – **12. Marsh, M. N., Crove, P. T.** Morphology of the mucosal intestinal lesion in gluten senzitivity. Baillieres Clin. Gastroenterol., 1995, 9, p. 273–281. – **13. Pauley, J. W., Fairweather, F. A., Leemin, A.** Postgastrectomy steatorrhoea and patchy jejunal atrophy. Lancet, 1955, I: p. 406. – **14. Reunala, T., Collin, P.** Diseases associated with dermatitis herpetiformis. Br. J. Dermatol., 1997, 136, p. 315–325. – **15. Rolny, P., Sigurjonsottir, H. A., Remotti, H., et al.** Role of immunosupressive therapy in refractory sprue like disease. Am. J. Gastroenterol., 1999, 94, p. 219–225. – **16. Schuppan, D.** Current concepts of celiac disease pathogenesis. Gastroenterology, 2000, 119, p. 234–239. – **17. Talal, A. H., Murray, J. A., Goeken, J. A., et al.** Celiac disease in an adult population with insulin – dependent DM. Use of endomysial antibody testing. Am. J. Gastroenterol., 1997, 92, p. 1280–1285. – **18. Trier, J. S., Falchuk, Z. M., Carrey, M. C., et al.** Celiac sprue and refractory sprue. Gastroenterology, 1978, 75, p. 307–312.

MUDr. Vladimír Volf
Klinika dětí a dorostu
3. LF UK a FNKV
Vinohradská
110 00 Praha 10

Idiopatická makulární díra – epidemiologie, klasifikace, přirozený průběh, terapie

KOLÁŘ P.

Oftalmologická klinika LF MU a FN, Brno, přednostka prof. MUDr. E. Vlková, CSc.

SOUHRN

Idiopatická makulární díra je poměrně časté onemocnění postihující makulární oblast sítnice. Vyskytuje se především u starších žen. Prevalence je nejvyšší v 6. a 7. deceniu. Ženy vůči mužům jsou postiženy v poměru 3:1. Incidence onemocnění je udávána v průměru 1/3300 pacientů. V počátečních stadiích onemocnění není vyvinuta idiopatická makulární díra v plné tloušťce a hovoříme o hrozící díře. Asi u poloviny nemocných dochází ve stadiu hrozící díry ke spontánní regresi. U další poloviny nemocných idiopatická makulární díra progreduje do fenestrace v plné tloušťce sítnice. Jde většinou o jednostranné onemocnění, riziko vývoje makulární díry v druhém oku, pokud je přítomna ablace zadní sklivcové membrány, je menší než 2 %. Základními symptomy, kterými se onemocnění projevuje, jsou pokles centrální zrakové ostrosti a metamorfopsie (deformace obrazu). Ani v terminálních stadiích onemocnění nehrozí pacientům úplné oslepnutí postiženého oka, pokud není přítomna jiná patologie. Metodou volby v léčbě idiopatické makulární díry je pars plana vitrektomie s odstraněním zadní sklivcové membrány a nitrooční tamponádou expanzivním plynem. S použitím tohoto terapeutického postupu je možné dosáhnout uzavření idiopatické makulární díry u více než 90 % pacientů.
Klíčová slova: idiopatická makulární díra – pars plana vitrektomie – peeling vnitřní limitující membrány.

SUMMARY

Kolář P.: Idiopathic macular hole - epidemiology, classification, natural course, and therapy
Idiopathic macular hole is a relatively frequent event affecting the macular area of the retina. It occurs foremost in elderly females. Prevalence is the greatest in the sixties and seventies of life. The ratio of females to males suffering this affection is three to one. The incidence of this disease is one in 3300 patients at an average. In the initial stages of the disease the idiopathic macular hole is not developed in full depth, and that is called imminent hole. In about half of the patients there comes about a spontaneous regression at the stage of an imminent hole. In the other half the idiopathic macular hole progresses to fenestration in full depth of the retina. In question is mostly a unilateral affection, the risk of development of a macular hole in the other eye is less than 2% when the rear vitreous membrane is ablated. The basic symptoms by which the disease is manifested aedecreased central visual acuity and metamorphopsia (image deformation). Even in the terminal stages of the disease the patients are not threatened by total blindness in the affected eye as long as there is no other pathology present. The method of choice in the treatment of the idiopathic macular hole is pars plana vitrectomy with removal of the posterior hyaloid membrane and with intraocular expansive gas tamponade. With this therapeutic procedure there can be attained a closure of the idiopathic macular hole in more than 90% of the patients.
Key words: idiopathic macular hole - pas plana vitrectomy - peeling of internal limiting membrane

Prakt. Lék., 2005, 85, No. 12, p. 697–700.

Makulární díra se může vyskytovat buď jako idiopatická, nebo může vzniknout jako následek očního traumatu, nebo se vyskytnout v očích postižených patologickou myopií. Pacient, který je postižen tímto onemocněním, si stěžuje na pokles centrální zrakové ostrosti doprovázený velmi obtěžujícími metamorfopsiemi (deformacemi obrazu) (2).

Idiopatická makulární díra (IMD) je poměrně častým makulárním onemocněním, které postihuje starší pacienty. Onemocnění je známo již řadu let. V 70. a 80. letech minulého století probíhala řada studií, jejichž cílem bylo sjednotit klasifikaci onemocnění a stanovit charakteristické klinické rysy (10).

Zájem o onemocnění dramaticky vzrostl v 90. letech minulého století, kdy Kelly a Wendel publikovali své práce o chirurgické terapii IMD cestou pars plana vitrektomie (PPV) s použitím tamponády expanzivním plynem (8). Vlastní operační zákrok však sám o sobě nezajistí zhojení IMD. Klíčovou roli v pooperačním období hraje polohování hlavy obličejem dolů (tzv. pronační postavení

hlavy), kdy tlak intraokulárně aplikovaného expanzivního plynu na makulární oblast zajistí zhojení fenestrace. S použitím tohoto terapeutického postupu je možné dosáhnout operačního úspěchu u více než 90 % pacientů.

Jako operační úspěch je hodnocen stav, kdy dojde k uzavření fenestrace a vytvoření foveolární deprese, a dále stav, kdy sice nedojde k uzavření fenestrace, ale oploští se její okraje. U většiny pacientů dochází po úspěšné operaci ke statisticky významnému zlepšení centrální zrakové ostrosti a vymizení velmi obtěžujících metamorfopsií, což většina pacientů hodnotí velmi pozitivně.

Epidemiologie

Studií, které by přinášely informace o prevalenci onemocnění, není mnoho. The Beaver Dam Eye Study sledovala 4926 pacientů po dobu 10 let. Prevalence IMD v tomto souboru byla 0,3 % a kolísala od hodnoty 0 % v populaci mezi 43.–54. rokem věku a 0,8 % v populaci starší 75 let. Australská Blue Mountains Eye Study a The Baltimore Eye Study prokazovaly ještě vyšší prevalenci IMD.

Onemocnění se většinou vyskytuje unilaterálně, bilaterální výskyt je vzácný. Riziko vzniku onemocnění ve druhém oku je důležitým faktorem pro pacienta i lékaře zejména u starých pacientů. Riziko anestezie, operační riziko, nutnost pooperačního polohování hlavy je nutno zvážit oproti zisku pro operované oko a nízkému riziku postižení druhého oka. Základním rizikovým faktorem vzniku IMD na druhém oku je výskyt foveální léze charakteru „hrozící díry" (stadium Ia, Ib dle Gasse), kde riziko stoupá na 40 až 60 %. Naopak výskyt ablace zadní sklivcové membrány snižuje riziko vzniku IMD na druhém oku pod 1 %.

Choroba většinou postihuje starší ženy, poměr postižených žen k mužům je 3:1. The Eye Disease Case-Control Study sledovala rizikové faktory spojené s rozvojem IMD. Ablace zadní sklivcové membrány nebyla shledána jako rizikový faktor, naproti tomu vysoká hladina fibrinogenu byla prokázána jako možný rizikový faktor.

Patogeneze

Pohled na patogenezi IMD se v průběhu doby měnil. V 60. a 70. letech se předpokládalo, že IMD vzniká na podkladě degenerativního procesu, který je způsoben cévní nedostatečností.

V 80. a 90. letech přišel Gass s teorií, která vyzdvihovala roli tangenciální trakce proliferujících Müllerových buněk ve foveální oblasti (4, 5). Význam separace zadní sklivcové membrány v patogenezi IMD byl prokázán v 90. letech minulého století. Bylo zjištěno, že v očích s kompletní separací zadní plochy sklivce je frekvence vzniku IMD velmi nízká. Klíčovou roli v Gassově teorii vzniku IMD hraje fakt, že nedochází ke ztrátě fotoreceptorů, ale dochází k dehiscenci neuroretiny ve foveální oblasti s periferním odsunem fotoreceptorů. Tato teorie vysvětluje zlepšení centrální zrakové ostrosti (CZO) po úspěšně provedené operaci IMD. Tuto teorii podporují i histologické studie, které prokázaly v operkulech získaných při operaci IMD pouze zmnožení gliálních buněk bez přítomnosti fotoreceptorů.

Nové světlo do patofyziologie IMD vnesla optická koherenční tomografie (OCT). Jde o vyšetřovací metodu, která je nazývána „biopsií bez operace". Dovede vytvořit optický řez v neuroretině, a tím zobrazit anatomické poměry mezi jednotlivými vrstvami sítnice (2,10).

Na základě výsledků OCT studií provedených u pacientů s makulární dírou byla revidována Gassova teorie vzniku IMD. Na základě výsledků OCT sledování pacientů s časnými stadii IMD bylo zjištěno, že dochází k parciální elevaci zadní plochy sklivce se zachováním úponu ve foveální oblasti. To vede k tvorbě makulární pseudocysty. Její vnitřní část je tvořena kuželem Müllerových buněk, zevní část je poté tvořena fotoreceptory (čípky). Po vytržení centrální části pseudocysty, z níž se formuje operkulum, dochází k odstředivé migraci fotoreceptorů a formaci IMD v plné tloušťce. Odstředivá trakce potom během doby způsobuje zvětšení velikosti IMD se vznikem jejího charakteristického kruhového tvaru. OCT nálezy tedy naznačují, ze IMD vzniká jako následek selhání přirozeného procesu stárnutí makuly, který je spojen s vitreofoveální separací (2).

Klinický obraz a přirozený průběh onemocnění

Onemocnění bylo Gassem rozděleno na základě dlouhodobého pozorování přirozeného průběhu na 4 stadia. Jednotlivá stadia se od sebe liší jak klinickým obrazem, tak symptomatologií (4, 5). Upřesnění klasifikace do jednotlivých stadií nám umožňuje OCT vyšetření.

Stadium 1 je nazýváno „hrozící dírou". Je charakterizováno vznikem foveální pseudocysty se ztrátou foveolární deprese. Biomikroskopicky se projevuje žlutavým bodem v centru fovey o velikosti 100–150 μm (stadium 1a), či žlutavým prstencem (stadium 1b). Makulární pseudocysta vzniká, jak již bylo uvedeno výše, na podkladě trampolínovité trakce nekompletně odloučené zadní plochy sklivce. Žlutavé zbarvení vzniká na podkladě odstředivého přesunu pigmentu ve fotoceptorech. Povrch neuroretiny je intaktní bez známek defektu. CZO nebývá výrazněji postižena, pohybuje se na úrovni 5/5–5/10, nebývají přítomny ani metamorfopsie. Můžeme tedy říci, že pacient v tomto stadium onemocnění je asymptomatický. Onemocnění je proto v tomto stadiu zachyceno většinou až na druhém oku, přičemž první oko pacienta je postiženo pokročilejším stadiem IMD.

Stadium 2 je nazýváno časnou IMD. Vzniká na základě další tangenciální a předozadní trakce zadní plochy sklivce na makulární oblast, kde může být patrné radiální nařasení vnitřní limitující membrány (VLM). Defekt neuroretiny v plné tloušťce se objevuje buď centrálně, nebo excentricky. CZO bývá snížena na hodnotu 5/10–5/20, bývají přítomny metamorfopsie. Někdy můžeme pozorovat operkulum na zadní ploše odloučeného sklivce před makulární oblastí. Velikost IMD není v tomto stadiu není větší než 400 μm.

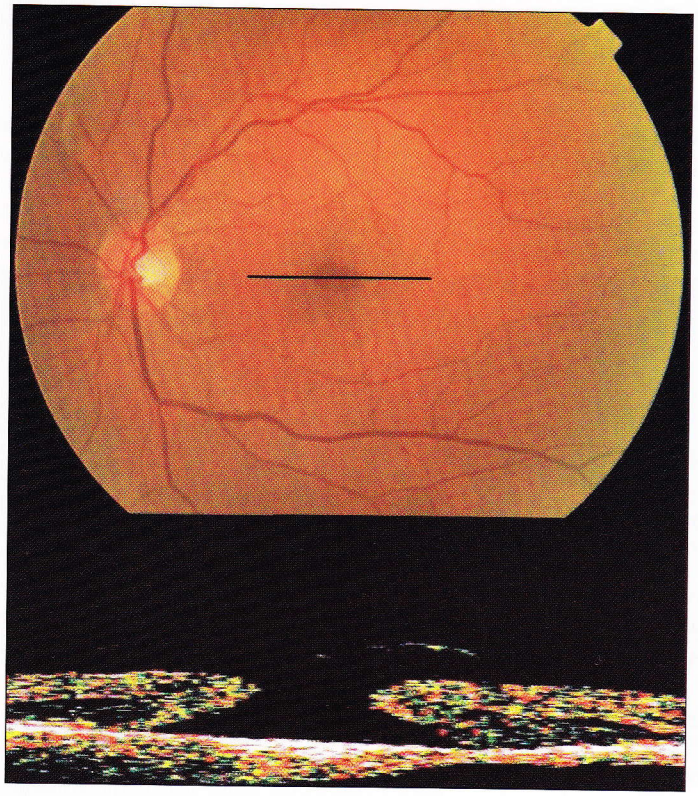
Stadium 3 je nazýváno plně vyvinutou IMD. V makulární oblasti bývá patrna kompletní ablace zadní plochy sklivce. CZO bývá snížena na hodnotu 5/15–5/50, bývají přítomny metamorfopsie. Na vyšetření perimetrem bývá přítomen centrální skotom. Bývá patrno operkulum na abladované zadní ploše sklivce. Velikost IMD není v tomto stadiu větší než 400 μm.

Stadium 4 se liší od stadia 3 přítomností kompletní ablace zadní plochy sklivce, tj. separací zadní plochy sklivce i v oblasti zrakového nervu.

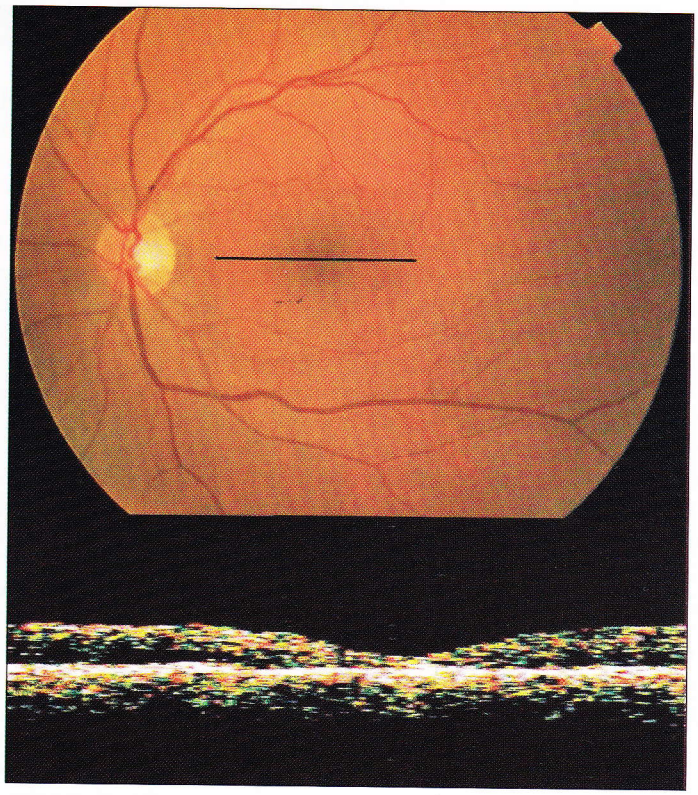
Přirozený průběh onemocnění IMD může být dvojího druhu. Buď onemocnění progreduje pomalu do stadia 3–4, nebo dochází ke spontánnímu uzavření IMD. Progrese onemocnění ze stadia 1 do stadia 2 a ze stadia 2 do stadia 3 probíhá většinou několik týdnů až měsíců. Pacient přitom pozoruje postupný pokles zrakové ostrosti a progresi metamorfopsií. U pacientů, u nichž je postiženo IMD pouze jedno oko, je někdy obtížné stanovit celkovou dobu trvání obtíží. Pokles CZO si pacient neuvědomuje pro normální CZO druhého oka. Symptomatologie charakteristická pro IMD je poté zpozorována při náhodném překrytí zdravého oka.

Asi 30–66 % IMD v prvním stadiu progreduje do stadia 2–4. Asi 67 % IMD progreduje do stadia 3 a 30 % do stadia 4. Všeobecné riziko progrese IMD stadia 2 do stadia 3 a 4 je 74 % (10).

Největší ochotu ke spontánnímu uzávěru jeví IMD v prvním stadiu. Dochází k tomu v 30–50 % případů. U těchto pacientů se zraková ostrost vrací k normálním hodnotám a metamorfopsie většinou spontánně vymizí. Spontánní uzavření je



OBR. 1. Předoperační nález na fundu pacienta se 3. stadiem IMD doplněný OCT nálezem



OBR. 2. Pooperační nález na fundu pacienta se 3. stadiem IMD doplněný OCT nálezem

však pozorováno i ve stadiu 2 a 3, ale pouze asi v 10 % případů. Ve stadiu 4 dochází ke spontánnímu uzavření IMD v méně než 5 % případů (10).

Vyšetření a stanovení diagnózy, diferenciální diagnostika

Velmi důležité je při stanovení diagnózy IMD vyšetření CZO. Ta je, jak již bylo uvedeno výše, ve stadiu 1 neporušena, nebo minimálně snížena. V dalších stadiích onemocnění je snížena s ohledem na pokročilost onemocnění.

Velmi důležité informace nám poskytuje vyšetření Amslerovou mřížkou. U IMD pacienti pozorují centrálně lokalizované metamorfopsie, které po spontánním uzavření IMD nebo po úspěšné operaci vymizí.

Stanovení diagnózy IMD ve stadiu 1 může činit určité obtíže. Onemocnění je zaměnitelné s mnoha dalšími makulárními patologiemi (makulární dystrofie, časná stadia věkem podmíněné makulární degenerace, centrální serózní chorioretinopatie, centrální retinitida). Ke stanovení správné diagnózy nám v tomto případě, jak již bylo uvedeno v části zabývající se patogenezí, pomůže kromě biomikroskopického vyšetření v dostatečné mydriáze i OCT vyšetření. Od stadia 2, kdy je viditelný kompletní defekt neuroretiny, by stanovení diagnózy nemělo činit výraznější obtíže. Určité diagnostické rozpaky a omyly může přinést záměna IMD s lamelární fenestrací makuly. I zde však OCT vyšetření dokáže rozlišit obě klinické jednotky. Defekt neuroretiny totiž není u lamelární fenestrace makuly kompletní a zraková ostrost nebývá tak výrazně snížena jako u IMD. Vyšetření pomocí Watzkeho–Allenova testu (projekce úzkého světelného paprsku na makulární oblast) je zastaralé. Tento vyšetřovací test měl zásadní význam před érou OCT. Shrneme-li tedy výše uvedená fakta, lze říci, že zcela zásadní diagnostickou metodou v případě IMD je OCT vyšetření.

Vyšetření pomocí fluorescenční angiografie (FAG) vykazuje u IMD od stadia 2 centrálně lokalizovaný bod časné hyperfluorescence. Ani do pozdních stadií angiogramu nedochází k průsaku barviva, což je pro IMD charakteristické. Hyperfluorescence je dána tzv. window efektem defektů obnaženého pigmentového epitelu. Diagnostický přínos FAG vyšetření není na rozdíl od jiných makulárních onemocnění u IMD příliš velký a není nutné ji rutinně provádět.

Vyšetření zorného pole (ZP) počítačovou perimetrií je u IMD velmi přínosné. Dovede stanovit stupeň postižení ZP v makulární krajině. K tomu je možné většinou použít makulárních programů, které se zaměří na testování pouze v centrální oblasti sítnice. Toto vyšetření má také význam ve zhodnocení efektu operační léčby IMD.

Terapie

První studie zabývající se léčbou IMD (Vitrectomy for Prevention of Maculare Hole Trial 1988) si stanovila 2 základní cíle: 1. prevenci progrese IMD, 2. uzavření již vyvinuté IMD. Do této multicentrické studie bylo zahrnuto 67 pacientů, kteří podstoupili PPV s odstraněním zadní sklivcové membrány. Výsledky však nenaplnily očekávané cíle.

Tyto skutečnosti však neodradily další následovníky ve hledání správného terapeutického postupu k léčbě IMD. V roce 1991 publikovali Kelly a Wendel svou průlomovou práci (8), která zcela změnila náhled na možnosti terapie IMD. Studie, jejíž výsledky zveřejnili, si stanovila jeden základní cíl: uzavření IMD za pomoci PPV s tamponádou expanzivním plynem doplněnou striktním polohováním pacienta obličejem dolů po dobu 1 týdne. Uzavření IMD bylo definováno jako oploštění okrajů IMD s vymizením lemu subretinální tekutiny k okolí IMD. První publikace zahrnovala výsledky u 52 pacientů. Uzavření IMD bylo referováno u 73 % pacientů, zlepšení nekoordinované zrakové ostrosti (NKZO) o více než 2 řádky Snellenových optotypů u 42 % pacientů. Výsledky publikované týmiž autory o 2 roky později již uváděly kompletní vymizení IMD s obnovením normální foveolární konfigurace.

Další studie (Vitrectomy for Macular

Hole Study) (1) byla provedena na 171 očích pacientů se stadiem 2–4 IMD. Šlo o doposud jedinou randomizovanou studii, která se zabývala porovnáním výsledků chirurgické terapie IMD v porovnání se sledování přirozeného průběhu onemocnění. Výsledky prokázaly statisticky významný efekt chirurgické terapie IMD v zábraně progrese onemocnění do dalších stadií a stabilizace, či zlepšení NKZO u operovaných očí. Hlavní komplikací v souboru operovaných očí byl vznik komplikované katarakty. Vznik komplikované katarakty je však obecně spojen s PPV a nepředstavuje v současnosti žádný terapeutický problém. Je možno jej řešit standardně fakoemulzifikací s implantací nitrooční čočky (6).

Taktéž čeští (Karel) a slovenští (Krásnik) autoři uvádějí dlouhodobě příznivé výsledky chirurgického řešení IMD cestou PPV s plynnou tamponádou (7, 9).

Práce, které byly publikovány koncem 90. let minulého století, obrátily pozornost na prospěšnost provedení peelingu vnitřní limitující membrány během PPV. Tento terapeutický postup se stává rutinně používaným v souvislosti s použitím barvících substancí, které barví vnitřní plochu sítnice a peeling VLM tak činí jednodušším. Takovýmito barvivy jsou indocyaninová zeleň a trypanová modř. Prvně jmenovaná je pro podezření z retinotoxity používána již velmi omezeně. Na popularitě získaly preparáty obsahující trypanovou modř, u které retinotoxicita prokázána nebyla (3).

Metodou volby v léčbě idiopatické makulární díry je tedy dnes PPV s odstraněním zadní sklivcové membrány a VLM doplněná nitrooční tamponádou expanzivním plynem. S použitím tohoto terapeutického postupu je možné dosáhnout uzavření idiopatické makulární díry u více než 90 % pacientů. Více než 60–70 % pacientů poté profituje ze zlepšení NKZO o více než 2 řádky Snellenových optotypů. Více než 90 % pacientů poté uvádí vymizení metamorfopsií, které jsou v běžném denním životě obtěžující.

Závěr

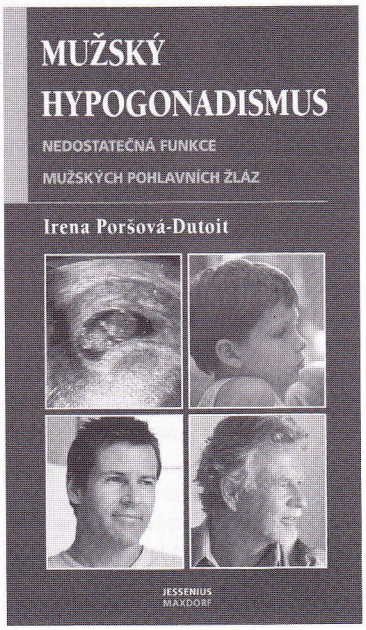
Chirurgické řešení IMD představuje v dnešní oftalmologii rutinní proceduru, která si pevně vydobyla své místo. Z této léčby profitují nejvíce pacienti ve 2. stadiu onemocnění. U vysokého procenta z nich (více než 70 %) je možné očekávat zlepšení NKZO. Dále dochází k vymizení obtěžujících metamorfopsií. Z chirurgické léčby však profitují i pacienti ve stadiu 3 a 4, u nichž dochází ve valné většině k oploštění okrajů IMD, nebo jejímu kompletnímu uzavření, což je doprovázeno taky zlepšením NKZO a vymizením metamorfopsií. Závěrem je tedy nutno poznamenat, že je nutné naše pacienty informovat o možnosti léčby tohoto makulárního onemocnění s velmi dobrými výsledky.

Literatura

1. De Bustros, S. The Vitrectomy for Prevention of Macular Hole Study Group. Vitrectomy for the prevention of macular holes: results of a randomized clinical trial. Ophthalmology, 1994, 101, p. 1055–1060. – **2. Ezra, E.** Idiopathic full thickness macular hole: natural history and pathogenesis. Br. J. Ophthalmol., 2001, 85, p. 102–108. – **3. Feron, E. J., Veckeneer, M., Parys van Ginderdeuren, R.** Trypan blue staining of epiretinal membranes in proliferative vitreoretinopathy. Arch. Ophthalmol., 2002, 120, p. 141–144. – **4. Gass, J. D. M.** Stereoscopic atlas of macular diseases: diagnosis and treatment. St. Louis: CV Mosby, 1970. – **5. Gass, J. D. M.** Stereoscopic atlas of macular diseases: diagnosis and treatment. St. Louis: CV Mosby, 1987. – **6. Kalvodová, B., Karel, I., Dotřelová, D., a kol.** Operace katarakty u vitrektomovaných očí pro idiopatickou makulární díru. Čes. a Slov. Oftal., 2001, 57, s. 75–79. – **7. Karel, I., Kalvodová, B., Dotřelová, D., a kol.** Vitrektomie a koncentrát autologních trombocytů v léčbě idiopatických makulárních děr. Čes. a Slov. Oftal., 1999, 55, s.191–202 – **8. Kelly, N. E., Wendel, R. T.** Vitreous surgery for idiopathic macular holes: results of a pilot study. Arch. Ophthalmol., 1991, 190, p. 654– 659. – **9. Krásnik, V., Strmeň, P., Javorská, L.** Dlhodobé sledovanie zrakových funkcií po anatomicky úspešnej chirurgickej liečbe idiopatickej diery makuly. Čes. a Slov. Oftal., 2001, 57, p. 80–87. – **10. La Cour, M., Friis, J.** Macular holes: Classification, epidemiology, natural history, and treatment. Acta Ophthalmol. Scand., 2002, 80, p. 579–587.

5. 10. 2005

MUDr. Petr Kolář, PhD.
Oční klinika LF MU a FN
Jihlavská 20
625 00 Brno



MUŽSKÝ HYPOGONADISMUS

Nedostatečná funkce mužských pohlavních žláz

Irena Poršová-Dutoit

Monografie s tímto zaměřením nebyla dosud v České republice vydána. Kniha podává stručně, jasně a přehledně praktický postup při diagnostice a léčbě mužského hypogonadismu u mužů všech věkových skupin, od narození po stáří. Je doplněna přílohami, ktreré usnadňují pochopení textu široké lékařské obci (Seznam užívaných léků v andrologii, Referenční hodnoty v andrologii, Slovník užitých výrazů). Pozoruhodné pokroky ve farmakoterapii nedostatečné funkce pohlavních žláz v průběhu posledních patnácti let vyzvedly tuto interdisciplinární, endokrinologickou, internistickou a urologickou problematiku na čelní místo lékařského zájmu. Autorka působí již patnáctým rokem (od roku 1989) na předních univerzitních pracovištích (v USA a ve Francii) zabývajících se touto problematikou a má s novými léčebnými metodami v andrologii bohaté zkušenosti.

Vydal Maxdorf v roce 2004, edice Jessenius, ISBN 80-7345-035-6, formát 110 x 190 mm, brož., 192 str., cena 245 Kč.

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz

Příloha 17

Dlouhodobé výsledky chirurgického řešení idiopatické makulární díry s peelingem vnitřní limitující membrány

Kolář P., Vlková V.

Oční klinika FN a LF MU, Brno, přednosta prof. MUDr. Eva Vlková, CSc.

Souhrn

Cíl: Cílem studie bylo ověřit účinnost chirurgického řešení idiopatické makulární díry cestou pars plana vitrektomie s peelingem vnitřní limitující membrány a plynnou tamponádou 15% perfluoropropanem.
Metodika: Do souboru bylo zařazeno 28 pacientů (24 žen a 4 muži) průměrného věku 68,0 ± 6,8 roku. U dvou pacientů byly operovány s odstupem času obě oči. Stadium makulární díry bylo stanoveno na základě klinického obrazu a OCT vyšetření podle Gassovy klasifikace. Průměrné sledovací období v této skupině pacientů bylo 14,7 ± 6,8 měsíce. Výsledný efekt operace byl ověřen klinickým a OCT vyšetřením na konci sledovacího období. Všech 28 pacientů (30 očí) s idiopatickou makulární dírou bylo podrobeno standardní PPV s peelingem zadní sklivcové membrány. Do vzduchem naplněného oka byla aplikována na 2 minuty trypanová modř (Membrane blue™). Byl proveden peeling obarvené vnitřní limitující membrány v oblasti makuly a použita tamponáda 15% perfluoropropanem. Pacientům bylo doporučeno zachovat na 2 týdny pronační postavení hlavy. Nejlepší korigovaná zraková ostrost byla zjišťována na konci sledovacího období.
Výsledky: Průměrná sledovací doba byla 14,7 ± 6,8 měsíce. Obarvení vnitřní limitující membrány bylo dostatečné ve všech případech. Průměrná zraková ostrost před operací byla 0,89 ± 0,33 logMAR (0, 2–1,7). Na konci sledovacího období byla průměrná zraková ostrost 0, 67 ± 0, 38 logMAR (0,2–1,1). Zlepšení vizu bylo dosaženo v 77 %, stabilizace ve 20 % a zhoršení v 3 %. Podle statistického zhodnocení je zlepšení BCVA statisticky významné (p=0, 005). Metamorfopsie vymizely ve 100 %. Úplného uzavření idiopatické makulární díry (stadium 1 dle Tornambeho – oploštěno/uzavřeno) bylo dosaženo u 26 očí (87 %), oploštění okrajů (stadium 2 dle Tornambeho – oploštěno/otevřeno) bylo dosaženo u 4 očí (13 %).
Závěr: Pars plana vitrektomie s peelingem vnitřní limitující membrány představuje efektivní způsob léčby idiopatické makulární díry. Barvení pomocí trypanové modři (Membrane blue™) usnadňuje identifikaci a delaminaci vnitřní limitující membrány.

Klíčová slova: idiopatická makulární díra, trypanová modř, pars plana vitrektomie, plynná tamponáda, peeling vnitřní limitující membrány, pronační postavení hlavy

Summary

The Long-Term Results of Surgical Treatment of the Idiopathic Macular Hole with the Peeling of the Internal Limiting Membrane

The aim of the study was to confirm the surgical treatment of the macular hole by means of pars plana vitrectomy with the peeling of the internal limiting membrane and gas tamponade by 15 % perfluoropropane.
Methods: The group consisted of 28 patients (24 women and 4 men) of the average age 68 ± 6.8 years. In two patients, subsequently both eyes were operated on. The stage of the macular hole was established according to the clinical findings and OCT examination in accordance with the Gass' classification. The average follow up period of this group of patients was 14.7 ± 6.8 months. The final result of the surgery was verified at the end of the follow up period by means of clinical and OCT examination as well. In all 28 patients (30 eyes) with idiopathic macular hole, the standard pars plana vitrectomy with the peeling of the posterior hyaloid was performed. After air/fluid exchange, the trypane blue (Membrane blue™) was applied for 2 minutes. The peeling of the stained internal limiting membrane in the macular region was performed and tamponade with 15 % perfluoropropane was used. The prone position of the patient's head for the next two weeks was recommended. At the end of the follow up period, the best-corrected visual acuity (BCVA) was assessed.
Results: The average follow up period was 14.7 ± 6.8 months. The staining of the internal limiting membrane was sufficient in all cases. The average visual acuity before the surgery was 0.89 ± 0.33 logMAR (0.2 – 1.7). At the end of the follow up period the average visual acuity was 0.67 ± 0.38 logMAR (0.2 ± 1.1). The visual acuity improved in 77 %, was stabilized in 20 %, and worsened in 3 % of cases. The BCVA improvement is statistically significant (p = 0.005). Metamorphopsia disappeared in 100 % of cases. The total closure of idiopathic macular hole (stage 1 according to Tornambe – flat/closed) was achieved in 26 eyes (87 %), flattening of the rim (stage 2 according to Tornambe – flat/open) was achieved in 4 eyes (13 %).
Conclusion: The pars plana vitrectomy with the peeling of the internal limiting membrane represents an effective method of treatment of the idiopathic macular hole. The trypane blue (Membrane blue™) staining facilitates the identification and delamination of the internal limiting membrane.

Key words: idiopathic macular hole, trypane blue, pars plana vitrectomy, gas tamponade, peeling of the internal limiting membrane, prone positioning of the head.

Čes. a Slov. Oftal., 62, 2006, No. 1, p. 34–41

ÚVOD

Idiopatická makulární díra (IMD) je poměrně časté sítnicové onemocnění, které postihuje především starší ženy. Poměr postižení žen a mužů je 3:1 [1, 2]. Prevalence IMD se pohybuje kolem 1/3300. Onemocnění se projevuje fenestrací makuly v plné tloušťce [1, 2, 9, 10, 11, 16, 17, 19, 20, 24, 28, 29, 31, 32, 37, 41]. Pacient si stěžuje na metamorfopsie a pokles zrakové ostrosti. Zájem o makulární díru se dramaticky zvýšil poté, co Kelly a Wendel v roce 1991 publikovali první sdělení o chirurgické terapii IMD cestou pars plana vitrektomie (PPV) doplněné plynnou tamponádou [21, 40].

Gass v roce 1988 publikoval práci, ve které rozdělil přirozený vývoj IMD do 4 stadií [9, 10, 11]. Stadium 1 – hrozící díra – se projevuje žlutým bodem ve fovei (1a), nebo žlutým prstencem (1b). Zraková ostrost je normální nebo lehce snížená, pacient

většinou netrpí metamorfopsiemi. Stadium 2 – časná IMD – se projevuje již dírou v plné tloušťce, která je menší než 400 μm. Stadium 3 – plně vyvinutá IMD bez ablace zadního sklivce – se projevuje dírou v plné tloušťce o průměru větším než 400 μm. A stadium 4 – plně vyvinutá IMD – která je totožná se stadiem 3, liší se pouze přítomností ablace zadní sklivcové membrány.

Progrese ze stadia 1 do stadia 2 a 3 zabere několik týdnů až měsíců [7]. U některých pacientů může zůstat nález statický, bez progrese. Ústup hrozící IMD je ve stadiu 1a a 1b popisován ve 30–50% případů [6, 7, 17, 21, 23, 40]. Ve stadiu 2 a 3 je spontánní uzavření daleko vzácnější, popisuje se pouze v 10 % případů [11, 13, 17, 18, 22].

Watzkeův-Allenův test představuje základní diagnostické kritérium, které dovede odlišit makulární díru od jiných makulárních onemocnění. Tento test se provádí projekcí velmi tenkého světelného paprsku na retinu fovey. Pokud pacient pozoruje přerušení světelného paprsku, je test hodnocen jako pozitivní a prokazuje IMD v plné tloušťce [35].

Nejdůležitější metodou, která v současné době dovede zcela exaktně diferencovat jednotlivá stadia IMD, je optická koherentní tomografie (OCT) [3, 12, 14, 15, 35]. Ve stadiu 1 prokazujeme foveolární pseudocystu často s trampolínovitou ablací zadní sklivcové membrány. Ve stadiu 2 je již patrný foveolární defekt neuroretiny v plné tloušťce do průměru 400 μm. Okraje díry bývají často cysticky změněny a v různé vzdálenosti před foveou může být patrno operkulum. Stadium 3 se liší pouze velikostí defektu neuroretiny, který je větší než 400 μm. Ve stadiu 4 bývá patrno kompletní odchlípení zadní sklivcové membrány.

Ve stanovení pooperační konfigurace IMD má opět své nezastupitelné místo OCT vyšetření. Dle publikace Tornambeho a spol. z roku 1998 je možné rozlišit 3 stadia [36]: stadium 1 – oploštěno/uzavřeno, stadium 2 – oploštěno/otevřeno a stadium 3 – elevováno/otevřeno. Stadium 1 představuje fyziologickou makulární konfiguraci s vytvořenou foveolární depresí. Stadium 2 je charakterizováno přiložením okrajů IMD bez jejího uzavření, stadium 3 poté otevřenou IMD s elevací okrajů. Oploštění okrajů makulární díry má pro pacienty velmi pozitivní dopad, protože vede k vymizení metamorfopsií, což je pacienty IMD velmi pozitivně vnímáno [26].

METODIKA

U každého z pacientů bylo před operací provedeno vyšetření nejlepší korigované zrakové ostrosti (NKZO) na ETDRS optotypech v jednotkách logMAR pro snadnější statistické zhodnocení. Pro představu hodnota NKZO logMAR = 0,0 je rovna na ETDRS optotypu NKZO 1,0 (4/4), hodnota NKZO logMAR = 1,0 je poté rovna na ETDRS optotypu NKZO 0,1 (4/40).

Bylo provedeno taktéž perimetrické vyšetření ke zjištění eventuálních výpadků v zorném poli a stanovena hodnota nitroočního tlaku (NT). Dále byl zhodnocen stav čočky, pokud již u pacienta nebyla přítomna pseudofakie.

Stadium makulární díry bylo stanoveno na základě klinického obrazu doplněného o OCT vyšetření.

Všichni pacienti podstoupili standardní tříportovou PPV bez cerkláže, která zahrnovala odstranění zadní sklivcové membrány, peeling epiretinálních membrán (EM) a vnitřní limitující membrány (VLM). K vizualizaci EM a VLM byla použita try-

panová modř (TM) (Membrane blue™). Barvivo bylo aplikováno na 2 minuty do makulární oblasti oka vyplněného sterilním vzduchem. Po jeho odstranění bylo oko vyplněno sterilním roztokem BSS™. Za pomoci Eckhardtovy mikropinzety byl proveden peeling EM a VLM v makule v rozsahu minimálně 3 x 3 papilární diametry (PD). Operace byla ukončena plynnou tamponádou pomocí 15% perfluoropropanem (C_3F_8). Pacientům bylo doporučeno zachovat nejméně na 2 týdny pronační postavení hlavy.

Pokud došlo v průběhu sledovacího období v očích operovaných pro IMD ke vzniku komplikované katarakty, byla tato řešena operačně fakoemulzifikací s implantací umělé zadněkomorové nitrooční čočky.

Zhodnocení výsledného stavu bylo provedeno na konci sledovacího období u každého pacienta. Byla stanovena NKZO na ETDRS optotypech v jednotkách logMAR. U každého pacienta bylo provedeno perimetrické vyšetření ke zhodnocení výpadků zorného pole a vyšetření pomocí Amslerovy mřížky ke zhodnocení metamorfopsií. Byla změřena hodnota NT a byl zhodnocen stav čočky, pokud nebyla již přítomna psedofakie.

Pomocí biomikroskopického vyšetření a OCT byl zhodnocen anatomický nález v makule. Výsledný nález byl zařazen do jednoho ze 3 stupňů dle Tornambeho [27] (stadium 1 – oploštěno/uzavřeno, stadium 2 – oploštěno/otevřeno a stadium 3 – elevováno/otevřeno).

Pomocí statistického zpracování (Studentův t-test) byl zhodnocen rozdíl mezi předoperační a pooperační NKZO

Tab. 1. Přehled pacientů zařazených do souboru

Pacient	Věk	Pohlaví	Stadium IMD	LogMAR před OP	LogMAR po OP	Pooperační stadium
1	76	Ž	4	1,7	1	2
2	73	Ž	4	0,8	0,6	1
3	76	Ž	3	1	1	1
4	62	M	2	0,5	0,2	1
5	69	M	3	0,8	0,5	1
6	65	Ž	3	1	0,6	1
7	76	M	2	1	0,3	1
8	59	Ž	2	0,6	0,4	1
9	76	Ž	3	1	1	1
10	58	Ž	3	1	1	1
11	73	Ž	4	1,4	0,9	2
12	70	Ž	3	1,4	1	1
			3	0,6	2	1
13	75	Ž	4	0,8	0,5	1
14	68	Ž	2	0,8	0,3	1
			2	1,4	0,3	1
15	61	Ž	2	0,3	0,3	1
16	72	Ž	2	0,8	0,4	1
17	65	Ž	3	0,6	0,5	1
18	66	Ž	2	0,5	0,3	1
19	70	Ž	2	1	0,8	1
20	68	M	4	1	0,5	1
21	51	Ž	2	0,2	0,2	1
22	71	Ž	3	1	0,9	1
23	79	Ž	2	0,5	0,4	1
24	68	Ž	4	1	0,8	1
25	65	Ž	3	1	0,6	1
26	70	Ž	4	1	1	2
27	65	Ž	2	0,8	0,7	1
28	56	Ž	2	1,2	1,1	2

Pozn.: LogMAR před OP = NKZO před operací (v LogMAR), LogMAR po OP = NKZO po operaci (v LogMAR), Pooperační stadium = pooperační stadium dle Tornambeho (1 = oploštěno/uzavřeno, 2 = oploštěno/otevřeno)

VÝSLEDKY

Do našeho souboru bylo zahrnuto 28 pacientů (30 očí), kteří byli postiženi podle Gassovy klasifikace [4] IMD 2.–4. stadia. Soubor tvořilo 24 žen

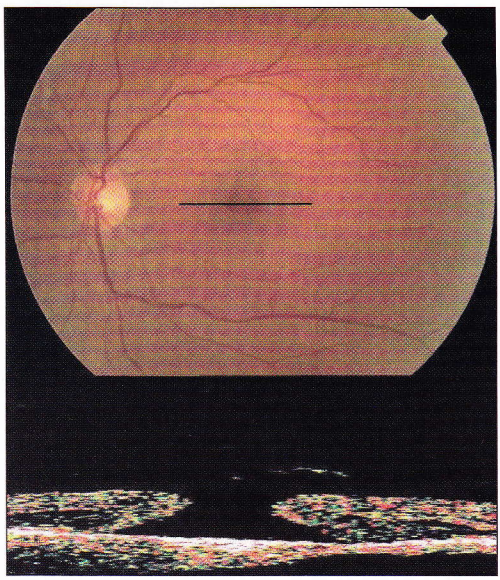
a 4 muži. U 26 pacientů bylo onemocnění jednostranné. U dvou pacientů bylo onemocnění oboustranné, a proto s odstupem času oba podstoupili operaci IMD na obou očích. Průměrný věk pacientů našeho souboru byl 68,0 ± 6,8 roku. Přehled pacientů zařazených do souboru představuje tabulka 1.

Všech 30 očí podstoupilo standardní tříportovou PPV s peelingem EM a VLM. U 29 očí byla použita vnitřní tamponáda 15% C3F8. Tamponáda silikonovým olejem byla použita u jednoho oka.

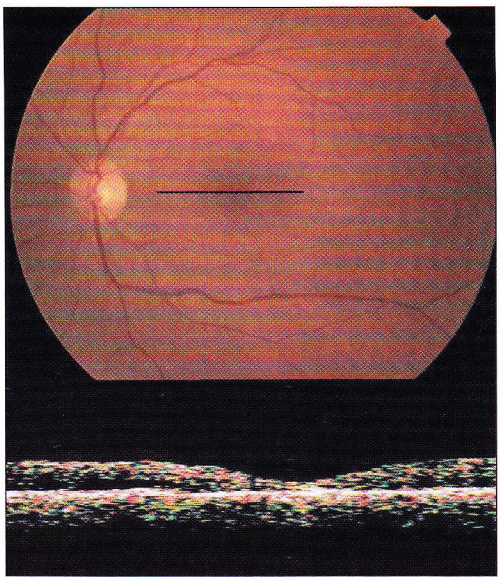
IMD 2. stadia se vyskytla 13krát (43 %), 3. stadia 10krát (33 %), 4. stadia 7krát (24 %).

Úplného uzavření IMD (oploštěno/uzavřeno dle Tornambeho) bylo dosaženo u 26 očí (87 %), oploštění okrajů IMD (oploštěno/otevřeno dle Tornambeho) bylo dosaženo u 4 očí (13 %). Stadium elevováno/otevřeno se nevyskytlo u žádného oka. Výsledný stav byl hodnocen jako úspěšný, pokud došlo k uzavření, či oploštění okrajů IMD. V našem souboru se tedy jednalo o 100 % očí.

Na obrázku 1 je patrný předoperační nález na fundu pacienta se 3. stadiem IMD společně s korespondujícím OCT nálezem. Na obrázku 2 je patrný pooperační nález na fundu téhož pacienta společně s OCT nálezem. Z obrázku je dobře patrno, že IMD se kompletně uzavřela.



Obr. 1. předoperační nález na fundu pacienta se 3. stadiem IMD společně s korespondujícím OCT nálezem



Obr. 2. pooperační nález na fundu pacienta se 3. stadiem IMD společně s korespondujícím OCT nálezem

Průměrná NKZO byla před operací na hodnotě 0,89 ± 0,33 logMAR (0,2–1,7). Průměrná pooperační NKZO na konci sledovacího období činila 0,67 ± 0,38 (0,2–1,1). Za zlepšení hodnoty NKZO bylo považováno zlepšení o více než 1 řádek ETDRS optotypů. NKZO se zlepšila u 23 očí (77 %). Hodnota vizu zůstala stabilizována u 6 očí (20 %). U 1 oka (3 %) se NKZO zhoršila. Podle statistického zhodnocení pomocí párového Studentova t-testu je tedy zlepšení NKZO v našem souboru statisticky významné (p = 0,005).

Při porovnání výsledků perimetrického vyšetření před a po operaci nebyla patrna progrese již existujících skotomů v zorném poli.

V našem souboru se vyskytly následující komplikace:

V pooperačním období se NT přechodně zvýšil (do 30 torr) u 4 očí (13 %). Elevace NT byla u všech očí dostatečně kompenzována lokální terapií.

U 4 očí v souboru (13 %) byla již před operací přítomna pseudofakie, ostatních 26 očí bylo fakických. Opacifikace čočky postoupila pouze u 10 očí (38 %).

Všech 10 očí podstoupilo před koncem sledovacího období operaci katarakty s implantací umělé nitrooční čočky.

U 1 oka (3 %) vznikla během operace velká retinální díra v horních kvadrantech. Jednalo se pseudofakický bulbus s predisponujícími periferními degeneracemi. Stav byl vyřešen laserovou baráží a tamponádou silikonovým olejem. Po evakuaci silikonového oleje zůstává retina přiložena a IMD uzavřena.

DISKUSE

PPV s peelingem VLM a plynnou tamponádou je v současné době považována za nejvhodnější metodu k terapii IMD 2.–4. stadia [6, 7, 21, 26, 27, 36, 38, 40]. TM představuje výraznou pomoc ve vizualizaci EM a VLM [8, 27, 39]. Umožňuje jejich co nejšetrnější a nejúplnější odstranění. Tím je dosaženo lepšího funkčního a anatomického výsledku u více než 90 % pacientů [4, 5, 25, 30, 33, 34, 38]. Zkušenosti našeho souboru pacientů prokazují ve shodě s výše uvedenými autory velmi dobrou vizualizaci jak EM tak VLM. Plynná tamponáda s pronačním postavením hlavy je ve shodě s našimi zkušenostmi mnoha autory považována za nezbytnou k dosažení dobrého anatomického i funkčního výsledku [6, 7, 21, 26, 27, 36, 38, 40].

Na našem souboru jsme si ověřili, že OCT přináší velmi důležité informace o anatomickém stavu makuly před i pooperačně. Nedokáže však zcela plně informovat o funkci fotoreceptorů, buněk pigmentového epitelu sítnice a Müllerových buněk.

Podle statistického hodnocení se NKZO v našem souboru zlepšila ($p = 0{,}005$). Největší zlepšení bylo pozorováno ve shodě s ostatními autory u očí s dobrou předoperační NKZO [4, 5, 6, 7, 21, 25, 26, 27, 30, 33, 34, 36, 38, 40]. Jednalo se převážně o oči ve 2. stadiu IMD. Nicméně z chirurgického řešení profitovaly i oči ve 4. stadiu IMD, u nichž bývá toto řešení považováno některými autory za kontroverzní [26].

Pooperačního stadia oploštěno/uzavřeno a oploštěno/otevřeno, která byla hodnocena jako anatomický a funkční úspěch, bylo dosaženo u všech očí souboru. S tímto nálezem korespondovalo i vymizení metamorfopsií u 100 % očí. U 97 % očí byla použita plynná tamponáda a pacienti zachovávali na 2 týdny pronační postavení hlavy. U 1 oka (3 %) byla použita silikonová tamponáda pro periferní retinální fenestraci.

Komplikace, které se v našem souboru vyskytly (zvýšení NT, periferní retinální díra, progrese katarakty), nebyly závažné a byly dobře řešitelné.

Výsledky, kterých jsme dosáhli na souboru našich pacientů, prokazují příznivý terapeutický efekt PPV s peelingem ILM u IMD 2.–4. stadia. Výsledky našeho souboru dále prokázaly velmi dobrou schopnost TB k selektivnímu barvení EM a ILM. Známky toxicity TB nebyly v našem souboru pozorovány.

Podpořeno grantem IGA NK 7730-3

LITERATURA

1. **Aaber, T. M., Blair, C. L., Gass, J. D. M.:** Macular holes. Am. J. Ophthalmol., 69, 1970; 555–562.
2. **Aaberg, T. M.:** Macular holes: a review. Surv. Ophthalmol., 15, 1970; 139–162.
3. **Azzolini, C., Patelli, F., Brancato, R.:** Correlation between optical coherence tomography data and biomicroscopic interpretation of idiopathic macular hole. Am. J. Ophthalmol., 132, 2001; 348–355.
4. **Brooks, H. L.:** Macular hole surgery with and without internal limiting membrane peeling. Ophthalmology, 107, 2000; 1939–1949.
5. **Da Mata, A. P., Burk, S. E., Riemann, C. D., et al.:** Indocyanine green assisted peeling of the retinal internal limiting membrane during vitrectomy surgery for macular hole repair. Am. J. Ophthalmol., 108, 2001; 1187–1192.
6. **De Bustros, S.:** The Vitrectomy for Prevention of Macular Hole Study Group. Vitrectomy for the prevention of macular holes: results of a randomized clinical trial. Ophthalmology, 101, 1994; 1055–1060.
7. **Ezra, E.:** Idiopathic full thickness macular hole: natural history and pathogenesis. Br. J. Ophthalmol., 85, 2001; 102–108.
8. **Feron, E. J., Veckeneer, M., Parys van Ginderdeuren, R.:** Trypan blue staining of epiretinal membranes in proliferative vitreoretinopathy. Arch. Ophthalmol., 120, 2002; 141–144.
9. **Gass, J. D. M.:** Stereoscopic atlas of macular diseases: diagnosis and treatment. St. Louis: CV Mosby, 1970.
10. **Gass, J. D. M.:** Stereoscopic atlas of macular diseases: diagnosis and treatment. St. Louis: CV Mosby, 1987.
11. **Gass, J. D. M.:** Idiopathic senile macular hole: its early stages and development. Arch. Ophthalmol., 106, 1988; 629–639.
12. **Gass, J. D. M.:** Mueller cell cone, an overlooked part of the anatomy of the fovea centralis: hypotheses concerning in its role in the pathogenesis of macular hole and foveomacular retinoschisis. Arch. Ophthalmol., 117, 1999; 821–823.
13. **Gass, J. D. M., Joondeph, B. C.:** Observation concerning patients with suspected impending macular holes. Am. J. Ophthalmol., 109, 1990; 638–646.
14. **Gaudric, A., Haouchine, B., Massin, P., et al.:** Macular hole formation: new data provided by optical coherence tomography. Arch. Ophthalmol., 117, 1999; 744–751.
15. **Haouchine, B., Massin, P., Gaudric, A.:** Foveal pseudocyst as the firs step in macular hole formation: a prospective study by optical coherence tomography. Ophthalmology, 108, 2001; 15–22.
16. **James, M., Fenman, S. S.:** Macular holes. Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol., 215, 1980; 59–63.
17. **Johnson, R. N., Gass, J. D. M.:** Idiopathic macular holes. Observations, stages of formation and implication for surgical intervention. Ophthalmology, 95, 1988; 917–924.
18. Kakehashi, A., Schepens, C. L., Aikiba, J., et al.: Spontaneous resolution of foveal detachments and macular breaks. Am. J. Ophthalmol., 120, 1995; 767–775.
19. **Kalvodová, B., Karel, I., Dotřelová, D., et al.:** Operace katarakty u vitrektomovaných očí pro idiopatickou makulární díru. Čes. a slov. Oftal., 57, 2001; 2: 75–79.
20. **Karel, I., Kalvodová, B., Dotřelová, D., et al.:** Vitrektomie a koncentrát autologních trombocytů v léčbě idiopatických makulárních děr. Čes. a slov. Oftal., 55, 1999; 191–202.
21. **Kelly, N. E., Wendel, R. T.:** Vitreous surgery for idiopathic macular holes: results of a pilot study. Arch. Ophthalmol., 190, 1991; 654–659.
22. **Kim, J. W., Freeman, W. R., El-Haig, W., et al.:** Baseline characteristics, natural history and risc factors to progression in eyes with stage 2 macular holes. Results from a prospective randomized clinical trial. Ophthalmology, 102, 1995; 1818–1829.
23. **Kokame, G. T., De Bustros S.:** The Vitrectomy for Prevention of Macular Hole Study Group. Visual acuity as a prognostic indicator in stage 1 macular holes. Am. J. Ophthalmol., 119, 1995; 112–114.
24. **Krásnik, V., Strmeň, P., Javorská, L.:** Dlhodobé sledovanie zrakových funkcií po anatomicky úspešnej chirurgickej liečbe idiopatickej diery makuly. Čes. a slov. Oftal., 57, 2001; 2: 80–87.
25. **Kwok, A. K., Li, W. W., Pang, C. P., et al.:** Indocyanine green staining and removal of internal limiting membrane in macular hole surgery: histology and outcome. Am. J. Ophthalmol., 132, 2001; 178–183.
26. **La Cour, M., Friis, J.:** Macular holes: Classification, epidemiology, natural history, and treatment. Acta Ophthalmol. Scand., 80, 2002; 579–587.

27. **Li, K., Wong, D., Hiscot, P., et al.:** Trypane blue staining of internal limiting membrane during vitrectomy: visual results and histopathological findings. Br. J. Ophthalmol., 87, 2003; 216–219.
28. **Margherio, R. R., Schepens, C. L.:** Macular breaks: I. Diagnosis, etiology, and observations. Am. J. Ophthalmol., 74, 1972; 219–232.
29. **McDonnell, P. J., Fine, S. L., Hillis, A. I.:** Clinical features of idiopathic macular cysts and holes. Am. J. Ophthalmol., 93, 1982; 777–786.
30. **Mester, V., Kuhn, F.:** Internal limiting membrane removal in the management of the full-thickness macular holes. Am. J. Ophthalmol., 129, 2000; 769–777.
31. **Morgan, C. M., Schatz, H.:** Idiopathic macular holes. Am. J. Ophthalmol., 99, 1985; 437–444.
32. **Morgan, C. M., Schatz, H.:** Involutional macular thinning: a pre-macular hole condition. Ophthalmology, 93, 1986; 153–161.
33. **Park, D. W., Sipperley, J. O., Sneed, S. R., et al.:** Macular hole surgery with internal limiting membrane peeling and intravitreous air. Ophthalmology, 106, 1999; 1392–1397.
34. **Smiddy, W., Feuer, W., Cordahi, G.:** Internal limiting membrane peeling in macular hole surgery. Ophthalmology, 108, 2001; 1471–1478.
35. **Tanner, V., Williamson, T. H.:** Watzke-Allen slit lamp beam test in macular holes confirmed by optical coherence tomography. Arch. Ophthalmol., 188, 2000; 1059–1063.
36. **Tornambe, P. E., Poliner, L. S., Cohen, R. G.:** Definition of macular hole surgery end points: elevated/open, flat/open, flat/closed. Retina, 18, 1998; 286–287.
37. **Trempe, C. L., Weiter, J. J., Furukawa, H.:** Fellow eyes in cases of macular hole: biomicroscopic study of the vitreous. Arch. Ophthalmol., 104, 1986; 93–95.
38. **Uemoto, R., Yamamoto, S., Aoki, T., et al.:** Macular configuration determined by optical coherence tomography after idiopathic macular hole surgery wit or without internal limiting membrane peeling. Br. J. Ophthalmol., 86, 2002; 1240–1242.
39. **Veckeneer, M., van Overdam, K., Monzer, J.:** Ocular toxicity study of trypan blue injected into the vitreous cavity of rabbit eyes. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 239, 2001; 698–40.
40. **Wendel, R. T., Patel, A. C., Kelly, N. E. et al.:** Vitreous surgery for macular holes. Ophthalmology, 100, 1993; 1671–1676.
41. **Yaoeda, H.:** Clinical observation on macular hole. Acta Soc. Ophthalmol. Jpn., 71, 1967; 1723–1736.

MUDr. Petr Kolář, Ph.D.
Oční klinika FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
tel. +4205 4719 3362, fax +4205 4719 2378
e-mail: pekolar@quick.cz

Příloha 18

Corespondence address:

Dr. Petr Kolar
Department of Ophthalmology, University Hospital Brno
625 00 Brno
CZECH REPUBLIC.
Email: pkolar@fnbrno.cz

ABSTRACT

Background:
The purpose of this study was to verify the efficency of surgical treatment of idiopathic macular hole (IMH) using pars plana vitrectomy (PPV) with peeling of internal limiting membrane (ILM) and gas-tamponade with 15% perflouropropan (C3F8).

Methods:
There were placed 52 patients (54 eyes) in our test group (47 women, 5 men). Their mean age was 68.2±5.9 years. Two patients had surgery of both eyes at different times. The stage of macular hole has been determined based on clinical symptoms and examination using optical coherence tomography (OCT). The mean observation period in this study group was 14.0±9.6 months. The final result of surgery has been tested in OCT at the end of observation period. All 52 patients with IMH submitted to standard PPV with peeling of posterior hyaloid. Trypan blue (Membrane blue) has been applied into air filled eye for 1 minute. Then, we performed peeling of stained ILM in macular region and tamponade with 15% C3F8. Patient were then recommended to keep a prone position of the head for 2 weeks. The best-corrected visual accuity (BCVA) was determined at the end of observation period.

Result:
ILM staining was suffucient in all cases. Average BCVA before operation was 0.94±0.32 logMAR (0.2–1.7). Postoperative BCVA was 0.58±0.33 logMAR (0.0–1.7). Visual acuity improve in 48 eyes (89%), stabilized in 5 eyes (9%), and deterioted in 1 eye (2%). By statistical evaluation is BCVA improvement statistically significant (p=0.001). Metamorphopsia was elimitated in 100%. Full IMH closure (flat/closed after Tornambe)was reached in 45 eyes (83%). Total flattening IMH borders (flat/closed after Tornambe) was reached in 6 eyes (11%). IMH remained open (open/elevated after Tornambe) in 3 eyes (6%).

Conclusion:
PPV with ILM peeling represents an effective way for treatment of IMH. Trypan blue (Membrane blue™) staining makes ILM identification and delamination easier.

Keywords:
idiopathic full thickness macular hole, pars plana vitrectomy with gas tamponade, peeling of internal limiting membrane, prone position of the head, trypan blue.

Results Of Surgical Treatment Of Idiopathic Full Thickness Macular Hole With Peeling Of The Internal Limiting Membrane

Kolar P, Vlkova E
Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic.

Background

Idiopathic macular hole (IMH) is relatively frequent retinal disease, affecting mostly older women.[1,2] The prevalence of IMH is about 1/3300. The basic diagnostic sign of the disease is complete macular fenestration.[1-13] Patient with IMH complaint of metamorphosia and visual acuity decrease. Interest in macular hole has dramatically increased after Kelly and Wendel in 1991 published their announcement of surgical treatment of IMH via PPV and gas tamponade.[14,15]

In 1988 Gass divided natural course of IMH into 4 stages:[4,11,12] Stage 1: impending IMH – displays with yellow spot (1a) or yellow ring in fovea (1b). BCVA is normal or mildly decreased, in most cases patient does not suffer any metamorphopsia.[12,13,15] Stage 2: early IMH – displays with in full thickness hole, smaller than 400 µm. Stage 3: fully developed IMH without detachment of posterior hyaloid – full thickness hole, diameter above 400 µm. Stage 4: fully developed IMD with detachment of posterior hyaloid – almost identical with stage 3, differs only in present detachment of posterior hyaloid.

Progress from stage 1 to stage 2 and 3 takes several weeks to months.[16,17] In some patients the finding can remain constant, without any progression. Spontaneous IMH closure in stages 1a and 1b has been described in 30-50% cases.[12,13,15-18] Spontaneous IMH closure in phases 2 and 3 is a lot less common, it has been described in 10% cases only.[12,13,19-21]

In former times Watzke-Allen test represented basic diagnostic method able to differentiate macular hole from other macular diseases. This test was based on the projection of very narrow slit lamp beam into the fovea. If patient saw the slit lamp beam interrupted, the test was positive and proved full thickness IMH.[22]

At the present time, the crucial diagnostic method able to fully differentiate various stages of IMH, is optical coherence tomography (OCT).[22-26] In its stage 1, we are proving foveolar pseudocyst, often with trampoline detachment of posterior hyaloid. In stage 2, foveolar full thickness defect up to 400 µm is already present. Edges of the hole often show cystic changes, and operculum is obvious in front of fovea in various distances. The only difference between stage 2 and 3 is the size of the hole which is now bigger then 400 µm in stage 3. Completely posterior vitreous detachment is obvious in phase 4.

OCT examination has also its important place in postoperative IMH configuration.[27] We can differentiate after Tornambe and collaborators 3 stages of postoperative IMH configuration: Stage 1: fat/closed, stage 2: flat/open, stage 3: elevated/open. Stage 1 represents physiological macular configuration with foveolar depression. Stage 2 is characterized by flattening IMH edges without closure. In stage 3 is IMH open with elevation of edges. Flattening of macular hole edges has its practical significance, because it

Kolar P, Vlkova E
Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic.

The EVRS Educational Electronic Journal, Vol 2, issue 1, 2006.

© EVRS 2006

leads to disappearence of metamorphopsia, which patients perceived very positively.[28]

Methods

Before surgery, in each patient was determined the best corrected visual acuity (BCVA) on Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research (ETDRS) charts, in logMAR units for easier statistical evaluation. Also all the patients had perimetric examination to discover possible visual field defects, the Amsler grid examination was performed to evaluate the grade of metamorphopsia, and the value of intraroccular pressure (IOP) has been measured. Similarly was evaluated lens status if the patient was phakic. Stage of IMH was determined based on clinical finding and OCT examination.

All patients underwent a standard 3 port pars plana vitrectomy (PPV), including removal of posterior hyaloid, peeling of epiretinal membranes (EM) and ILM. Trypane blue (TB) (Membrane blue™) has been used to visualize EM and ILM. The solution has been applied for 1 minute into the macular area of the air filled eye according to literature recommendations.[29-31] After its removal the eye was filled with sterile BSS liquid. Using Eckhardt endgripping microforceps, peeling EM and ILM have been performed in macular region on minimal area of 3x3 disc diameters (DD). Surgery has been finished using gas tamponade with 15% C3F8. Patient was instructed to keep prone position of the head for at least 2 weeks.

The results of surgery were evaluated at the end of observation period. The BCVA was determined. Each patient underwent a perimetric examination to determine possible visual field defects and the Amsler grid examination was performed to evaluate the grade of metamorphopsia. IOP value has been measured and lens status has been evaluated if the eye was phakic.

The anatomical findings in macula were determined by biomicroscopic and OCT examination. The final findings were subsumed into one of Tornambe three stages (27) (1 – flat/closed, 2 – flat/open, 3 – elevated/open).

Result

Our group consisted of 52 patients (54 eyes) suffering from IMH of stage 2, 3 and 4 by Gass. The group consisted of 47 women and 5 men. The disease affected only one eye in 50 patients. In two patients, both eyes were affected, and therefore they had IMH surgery on both eyes at different times. The mean age of our patients group was 68.2±5.9 years.

All 54 eyes were treated with standard 3 port PPV with EM and ILM peeling. In 51 eyes (94%), was used gas tamponade (15% C3F8). Silicon oil tamponade was used in 3 eyes (6%). Ones in eye with peripheral giant retinal tear and twice in non-cooperative patients. Silicon oil was removed in this patient in tree month period.

Stage 2 IMH was diagnosed 24 times (44%), stage 3 IMH 20 times (37%), and stage 4 IMH 10 times (19%). Completely closure of IMH (stage 1 after Tornambe) we achieved in 45 eyes (83%), flattening of the edges of the IMH (stage 2 Tornambe) in 6 eyes (11%), and IMH remained open (stage 3 after Tornambe) in 3 eyes (6%). Stage 1 and 2 after Tornambe were

Kolar P, Vlkova E
Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic.

The EVRS Educational Electronic Journal, Vol 2, issue 1, 2006.

© EVRS 2006

classified as a successful result. That means in our group was reached a successful result in 94%.

The mean of BCVA was before surgery 0.94±0.32 logMAR (0.2–1.7). At the end of observation period reached the mean of BCVA to 0.58±0.33 logMAR (0.0–1.7). As a visual improvement was classified BCVA improvement of more then 1 line in ETDRS chart. Therefore an improvement was reached in 48 eyes (89%).The BCVA stabilized in 5 eyes (9%). One eye was worsened (2%). By statistical evaluation is BCVA improvement statistically significant (p=0.001).

The entire results of our test group are presented in Table 1. Figure 1 presents the preoperative finding in patient No. 18 (IMH stage 2, BCVA 0.5, phakia). Figure 2 presents preoperative OCT findig in the same patient. Figure 3 then presents postoperative finding in patient No. 18 (stage 1 after Tornambe, BCVA 0.3, pseudophakia). Figure 4 presents postoperative OCT finding in this patient.

By comparing results in perimetric examination before and after surgery, there was no progression of already existing peripheral visual field defects.

In our group of patients we observed following complications:
During post-operative period, IOP value temporarily increased (to 30 torr) in 10 eyes (19%). The IOP elevation was treated by local antiglaucomatous therapy.

In 6 eyes in our test group there was pseudophakia diagnosed before surgery, the remaining 48 eyes were phakic. 21 phakic eyes (44%) undrewent during observation period surgery due to complicated cataract (phacoemulsification and lens implantation).

One eye (2%) developed during IMH surgery a giant retinal tear in the superior quadrants. This eye had predisposed peripheral retinal degenerations. The tear was treated with laser barrage and silicon oil tamponade. Within the observation period was silicon oil removed and retina remains attached.

In one eye (2%) had developed 6 months after IMH surgery retinal detachment. This complication was solved by PPV and silicon oil tamponade. Before end of the observation period silicon oil was removed, retina remains attached, and IMH closed (stage 1 after Tornambe).

Discussion

Presently, PPV with ILM peeling and gas tamponade is recognized as the best method for tretment IMH from stage 2 to stage 4.[14,15,17,18,27,28,31,32] TB is a significant help in EM and ILM visualization.[29-31] It enables its complete and careful delamination and can help to accomplish better functional and anatomical results in more that 90% patients.[32-38] Gas tamponade with prone position of the head is perceived as essential by many authors to achieve a good anatomical and functional result.[14,15,17,18,28,31-38]

In our test group we verified, that OCT gives us very important information about the anatomical status of macula before and after surgery although it cannot fully inform us about photoreceptors, pigment epithelial cells and Muller's cells functions.

Results Of Surgical Treatment Of Idiopathic Full Thickness Macular Hole With Peeling Of The Internal Limiting Membrane

Kolar P, Vlkova E
Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic.

The EVRS Educational Electronic Journal, Vol 2, issue 1, 2006.

© EVRS 2006

Patient No.	sex/age	Preop BCVA	Postop BCVA	Preop stage	Postop stage
1	F/76	1,7	1	4	1
2	F/73	0,8	0,5	4	1
3	F/76	1	1	3	2
4	M/62	0,5	0,2	2	1
5	M/69	0,8	0,5	3	1
6	F/65	1	0,6	3	1
7	M/76	1	0,3	2	1
8	F/59	0,6	0,5	2	1
9	F/76	1	1	3	2
10	F/58	1	1	3	1
11	F/73	1,4	0,9	4	2
12	F/70	1,4	1	3	1
12		0,6	2	3	1
13	F/75	0,8	0,1	4	1
14	F/68	0,8	0,3	2	1
14		1,4	0,2	2	1
15	F/61	0,3	0,3	2	1
16	F/72	0,8	0,4	2	1
17	F/65	0,6	0,4	3	1
18	F/66	0,5	0,3	2	1
19	F/70	1	0,8	2	1
20	M/68	1	0,5	4	1
21	F/51	0,2	0	2	1
22	F/71	1	0,8	3	1
23	F/79	0,5	0,4	2	1
24	F/68	1	0,7	4	2
25	F/65	1	0,4	3	1
26	F/70	1	1	4	2
27	F/65	0,8	0,3	2	1
28	F/56	1,2	1,1	2	1
29	F/72	0,9	0,2	2	1
30	F/59	0,9	0,5	2	1
31	F/76	1	0,6	4	1
32	F/79	1	0,6	3	1
33	M/71	1	0,4	2	1
34	F/69	0,9	0,6	2	2
35	F/70	1,5	0,3	3	1
36	F/68	1,5	0,6	3	1
37	F/67	0,7	0,2	2	1
38	F/69	0,9	0,5	4	1
39	F/70	1,5	1	3	3
40	F/55	0,7	0,6	2	1
41	F/68	1	0,5	2	1
42	F/72	1	0,7	3	3
43	F/70	1	0,5	3	1
44	F/69	1	0,8	3	1
45	F/65	0,9	0,5	2	3
46	F/67	1	0,6	3	1
47	F/65	1,5	0,7	3	1
48	F/70	0,5	0,3	2	1
49	F/71	1	0,6	3	1
50	F/70	0,6	0,4	2	1
51	F/66	1,5	0,8	4	1
52	F/67	0,7	0,5	2	1

Preop BCVA=preoperative BCVA; Postop BCVA=postoperative BCVA; Preop stage=preoperative stage of IMH (after Gass), Postop stage=postoperative stage of IMF (after Tornambe)

Table 1: The entire results of the test group.

Results Of Surgical Treatment Of Idiopathic Full Thickness Macular Hole With Peeling Of The Internal Limiting Membrane

Kolar P, Vlkova E
Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic.

The EVRS Educational Electronic Journal, Vol 2, issue 1, 2006.

© EVRS 2006

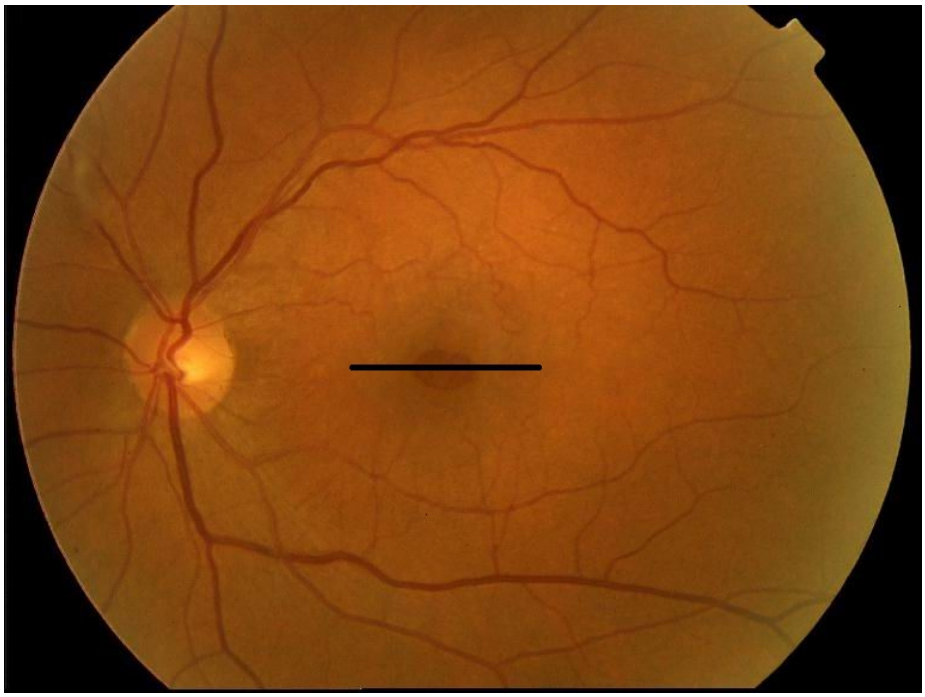


Figure 1: Preoperative finding of patient No. 18.

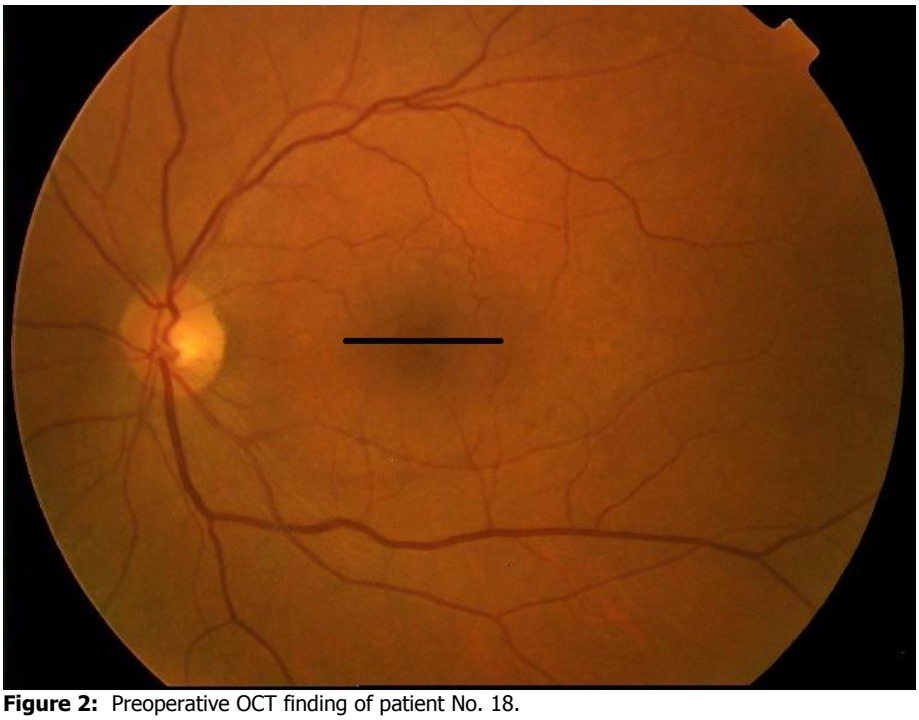


Figure 2: Preoperative OCT finding of patient No. 18.

Kolar P, Vlkova E
Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic.

The EVRS Educational Electronic Journal, Vol 2, issue 1, 2006.

© EVRS 2006

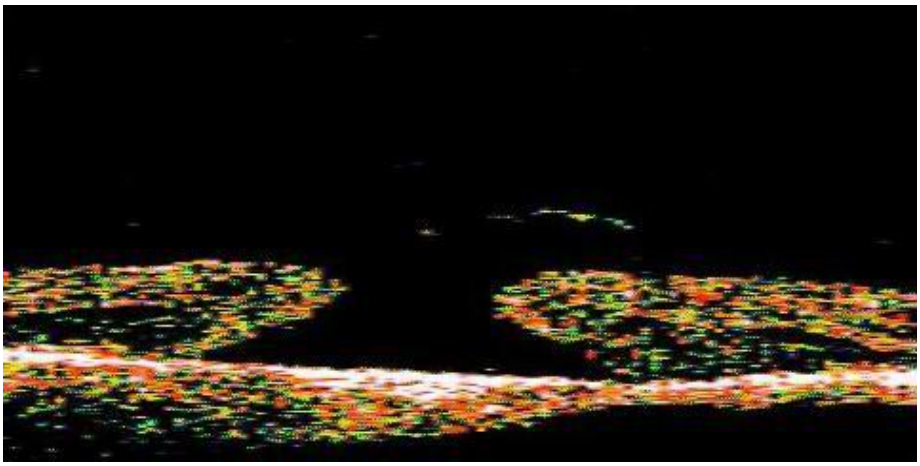


Figure 3: Postoperative finding of patient No. 18.

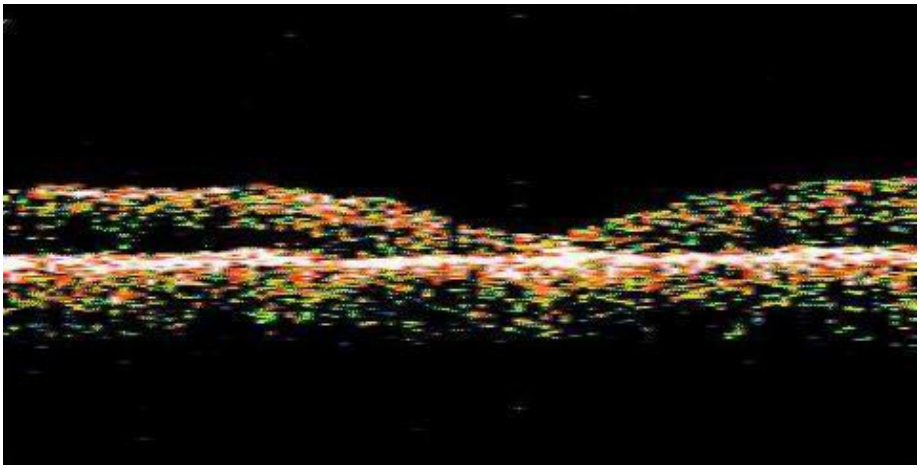


Figure 4: Postoperative OCT finding of patient No. 18.

In our test group we reached statistical significant improvement in BCVA (p=0.001). The biggest effect was achieved in concordance with other authors[14,15,17,18,27,28,31-38] in eyes with a good preoperative BCVA. The most cases were preoperative in stage 2 of IMH. Nevertheless, even eyes in stage 4 profited from the surgery, although some authors find this solution for this stage controversial.[28]

Postoperative stage 1 and 2 after Tornambe, classified as an anatomical and functional success was reached in 51 eyes of our test group (94%). The metamorphopsia also disappeared in 100% of eyes.

92% of eyes had used gas tamponade, and patients kept prone position of the head for 2 weeks. 3 eyes (2%) had used silicone tamponade. One eye due to giant peripheral retinal tear. Twice was silicon oil used in non-cooperating patients. Complications, that apeared in our test group (IOP elevation, peripheral retinal tear, cataract progression, late retinal detachment) were not critical and were good treatable.

Our results accomplished on our patient test group show in concordance with other works[31-38] positive therapeutic effect of PPV with ILM peeling in 2-4 stages IMD. The results also proved an excellent TB ability to selectively staining of EM and ILM. No TB toxicity was observed in our group.

Kolar P, Vlkova E
Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic.

The EVRS Educational Electronic Journal, Vol 2, issue 1, 2006.

© EVRS 2006

Reference

1. Aaber TM, Blair CL, Gass JDM. Macular holes. *Am J Ophthalmol* 1970; 69; 555-562.
2. Aaberg TM. Macular holes: a review. *Surv Ophthalmol* 1970; 15; 139-162.
3. Yaoeda H. Clinical observation on macular hole. *Acta Soc Ophthalmol Jpn* 1967; 71; 1723-1736.
4. Gass JDM. Stereoscopic atlas of macular diseases: diagnosis and treatment. St. Louis: CV Mosby, 1970; 195-199.
5. Margherio RR, Schepens CL. Macular breaks: I. Diagnosis, ethiology, and observations. *Am J Ophthalmol* 1972; 74; 219-232.
6. James M, Fenman SS. Macular holes. *Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1980; 215; 59-63.
7. McDonnell PJ, Fine SL, Hillis AI. Clinicacl features of idiopathic macular cysts and holes. *Am J Ophthalmol* 1982; 93; 777-786.
8. Morgan CM, Schatz H. Idiopathic macular holes. *Am J Ophthalmol* 1985; 99; 437-444.
9. Morgan CM, Schatz H. Involutional maculat thinning: a pre-macular hole condition. *Ophthalmology* 1986; 93; 153-161.
10. Trempe CL, Weiter JJ, Furukawa H. Fellow eyes in cases of macular hole: biomicroscopic study of the vitreous. *Arch Ophthalmol* 1986; 104; 93-95.
11. Gass JDM. Stereoscopic atlas of macular diseases: diagnosis and treatment. St. Louis: CV Mosby, 1987; 684-693.
12. Gass JDM. Idiopathic senile macular hole: its early stages and development. *Arch Ophthalmol* 1988; 106; 629-639.
13. Johnson RN, Gass JDM. Idiopathic macular holes. Observations, stages of formation and implication for surgical intervention. *Ophthalmology* 1988; 95; 917-924.
14. Kelly NE, Wendel RT. Vitreous surgery for idiopathic macular holes: results of a pilot study. *Arch Ophthalmol* 1991; 190; 654- 659.
15. Wendel RT, Patel AC, Kelly NE *et al*. Vitreous surgery for macular holes. *Ophthalmology* 1993; 100; 1671-1676.
16. Kokame GT, de Bustros S. The Vitrerectomy for Prevention of Macular Hole Study Group. Visual acuity as a prognostic indicator in stage 1 macular holes. *Am J Ophthalmol* 1995; 119; 112-114.
17. Ezra E. Idiopathic full thickness macular hole: natural history and pathogenesis. *Br J Ophthalmol* 2001; 85; 102-108.
18. De Bustros S. The Vitrectomy for Prevention of Macular Hole Study Group. Vitrectomy for the prevention of macular holes: results of a randomized clinical trial. *Ophthalmology* 1994; 101; 1055-1060.
19. Gas JDM, Joondeph BC. Observation concerning patients with suspected impending macular holes. *Am J Ophthalmol* 1990; 109; 638-646.
20. Kim JW, Freeman WR, El-Haig W *et al*. Baseline characteristics, natural history and risc factors to progression in eyes with stage 2 macular holes. Results from a prospective randomized clinical trial. *Ophthalmology* 1995; 102; 1818-1829.
21. Kakehashi A, Schepens CL, Aikiba J *et al*. Spontaneous resolution of foveal detachments and macular breaks. *Am J Ophthalmol* 1995; 120; 767-775.
22. Tanner V, Williamson TH. Watzke-Allen slit lamp beam test in macular holes confirmed by optical coherence tomography. *Arch ophthalmol* 2000; 188: 1059-1063.
23. Gass JDM. Mueller cell cone, an overlooked part of the anatomy of the fovea centralis: hypotheses concerning its role in the pathogenesis of macular hole and foveomacular retinoschisis. *Arch ophthalmol* 1999; 117; 821-823.

Kolar P, Vlkova E
Department of Ophthalmology, University Hospital Brno, Czech Republic.

The EVRS Educational Electronic Journal, Vol 2, issue 1, 2006.

© EVRS 2006

24. Gaudric A, Haouchine B, Massin P, Paques M, Blain P, Erginay A. Macular hole formation: new data provided by optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 1999; 117; 744-751.
25. Haouchine B, Massin P, Gaudric A. Foveal pseudoccyst as the firs step in macular hole formation: a prospective study by optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2001; 108; 15-22.
26. Azzolini C, Patelli F, Brancato R. Correlation between optical coherence tomography data and biomicroscopic interpretation of idiopathic macular hole. *Am J Ophthalmol* 2001; 132; 348-355.
27. Tornambe PE, Poliner LS, Cohen RG. Definition of macular hole surgery end points: elevated/open, flat/open, flat/closed. *Retina* 1998; 18; 286-287.
28. La Cour M, Friis J. Macular holes: Classification, epidemiology, natural history, and treatment. *Acta Ophthalmol Scand* 2002; 80; 579-587.
29. Veckeneer M, van Overdam K, Monzer J. Ocular toxicity study of trypan blue injected into the vitreous ccavity of rabbit eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001; 239; 698-704.
30. Feron EJ, Veckeneer M, Parys van Ginderdeuren R. Trypan blue staining of epiretinal membranes in proliferative vitreoretinopathy. *Arch Ophthalmol* 2002; 120; 141-144.
31. Li K, Wong D, Hiscot P, Stanga P, Groenewald C, McGalliard J. Trypane blue staining of internal limiting membrane duering vitrectomy: visual results and histopathological findings. *Br J Ophthalmol* 2003; 87; 216-219.
32. Uemoto R, Yamamoto S, Aoki T, Tsukahara I, Yamamoto T, Takeuchi S. Macular configuration determined by optical coherence tomography after idiopathic macular hole surgery wit or without internal limiting membrane peeling. *Br J Ophthalmol* 2002; 86; 1240-1242.
33. Park DW, Sipperley JO, Sneed SR *et al*. Macular hole surgery with internal limiting membrane peeling and intravitreous air. *Ophthalmology* 1999; 106; 1392-1397.
34. Brooks HL. Macular hole surgery with and without internal limiting membrane peeling. *Ophthalmology* 2000; 107; 1939-1949.
35. Mester V, Kuhn F. Internal limiting membrane removal in the management of the full-thickness macular holes. *Am J Ophthalmol* 2000; 129; 769-777.
36. Kwok AK, Li WW, Pang CP *et al*. Indocyanine green staining and removal of internal limiting membrane in macular hole surgery: histology and outcome. *Am J Ophthalmol* 2001; 132; 178-183.
37. Da Mata AP, Burk SE, Riemann CD *et al*. Indocyanine green assisted peeling of the retinal internal limiting membrane duering vitrectomy surgery for macular hole repair. *Am J Ophthalmol* 2001; 108; 1187-1192.
38. Smiddy W, Feuer W, Cordahi G. Internal limiting membrane peeling in macular hole surgery. *Ophthalmology* 2001; 108; 1471-1478.

Příloha 19

Vliv operace idiopatické makulární díry s peelingem MLI a plynnou tamponádou na elektrickou funkci sítnice

Karkanová M., Vlková E., Došková H., Kolář P.

Oční klinika LF MU a FN Brno, přednostka prof. MUDr. E. Vlková, CSc.

SOUHRN

Mnoho současných klinických prací dokazuje příznivý vliv PPV s peelingem MLI a plynnou tamponádou pro idiopatickou makulární díru (IMD) na morfologii makuly. Dokazují zmenšení či vymizení centrálního skotomu a metamorfopsií a především také zlepšení NKZO do dálky i do blízka. Zhodnocení objektivního funkčního stavu sítnice je ale nadále diskutovanou otázkou. Práce se zabývá srovnáním elektrické funkce sítnice před a po operaci IMD s peelingem MLI a plynnou tamponádou.

Do souboru bylo zařazeno 19 pacientů (8 mužů, 11 žen), tzn. 19 očí s IMD. Průměrný věk byl 69±6 let. Soubor tvořili pacienti s transparentními optickými médii. U žádného z těchto pacientů nebyla nalezena přítomnost jiné makulární patologie než IMD. Nikdo neprodělal předchozí operaci sítnice. Pacienti byli vyšetřeni 1 den před operací, 1 měsíc po operaci a 3 měsíce po operaci makulární díry. Při každé kontrole byla provedena následující vyšetření: Amslerův test, nejlépe korigovaná zraková ostrost (NKZO) do blízka (Jaegerovy tabulky), NKZO do dálky (ETDRS optotypy), vyšetření nitroočního tlaku (bezkontaktní přístroj NIDEK NT- 2000), vyšetření předního segmentu na štěrbinové lampě, vyšetření očního pozadí biomikroskopicky i nepřímou oftalmoskopií, vyšetření fotopického, pattern i multifokálního ERG (Retiscan podle metodiky ISCEV) a OCT vyšetření (Stratus OCT). Dle potřeby bylo provedeno i UZV vyšetření (Ultrascan Alcon).

Ke statistickému zpracování hodnot ERG komponent mezi souborem před operací (soubor 1), 1 měsíc po operaci (soubor 2) a 3 měsíce po operaci (soubor 3) jsme použili neparametrický Wilcoxonův párový test.

U fotopického ERG byla statisticky signifikantně prodloužena latence *b* u souborů 2 a 3 oproti souboru 1 ($p < 0,05$). Při srovnání latence *b* mezi soubory 2 a 3 nebyla nalezena statistická významnost. Srovnání ostatních parametrů fotopického ERG nebylo statisticky významné. U pattern ERG nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi soubory 1, 2 a 3.

U multifokálního ERG bylo nalezeno statisticky signifikantní zvýšení *amplitudy P1 na hustotu odpovědi dané jednotky* a *amplitudy P1* v centrálním prstenci u souboru 3 oproti souboru 1 ($p < 0,05$). Srovnání ostatních parametrů nebylo statisticky významné. V paracentrálním prstenci bylo nalezeno statisticky signifikantní prodloužení *latence N1* i *latence P1* u souboru 3 oproti souboru 1 ($p < 0,05$). Srovnání ostatních parametrů v paracentrálním prstenci nebylo statisticky významné.

Statisticky signifikantní zlepšení elektrické funkce sítnice v centrálních 4°, 3 měsíce po operaci, potvrzuje příznivý funkční efekt operace ve fovee. Ve fovee dochází ke zvýšení počtu funkčních nervových buněk vnějších vrstev sítnice. V parafoveolární oblasti, stejně i na celé sítnici, dochází 3 měsíce po operaci, naopak ke statisticky signifikantnímu zhoršení funkce sítnice ve smyslu prodloužení doby vedení vnějšími vrstvami sítnice. I dle našich výsledků je peeling MLI v chirurgii IMD přes jeho nesporný přínos stále kontroverzní technikou. V krátkém tříměsíčním sledovacím období došlo ke zlepšení funkce ve fovee, ale ke zhoršení funkce parafoveolární oblasti, která se ve velkém rozsahu shoduje s oblastí peelingu MLI. Diskuse ohledně indikace peelingu MLI u nižších stadií IMD je jistě na místě. Vývoj elektrické funkce sítnice po operaci IMD s peelingem MLI a plynnou tamponádou budeme nadále sledovat.

Klíčová slova: ERG, idiopatická makulární díra, pars plana vitrektomie

SUMMARY

The Influence of the Idiopathic Macular Hole (IMH) Surgery with the ILM Peeling and Gas Tamponade on the Electrical Function of the Retina

Many contemporary clinical papers establish positive influence of the pars plana vitrectomy (PPV) with the ILM (internal limiting membrane) peeling and gas tamponade in macular hole to the macular morphology. They prove diminishing or disappearing of the central scotoma and metamorphopsia and especially also improvement of the BCVA for far and near. The evaluation of the objective functional condition of the retina is still a discussed question.

This paper concerns with the comparison of the electric functions of the retina before and after the IMH surgery with the ILM peeling and the gas tamponade.

In the group 19 patients (8 men, 11 women), or 19 eyes with IMH were included. The average age was 69 ± 6 years. The group consisted of patients with transparent optical media. In none of these patients was found other macular pathology than IMH. Nobody underwent other retinal surgery. The patients were examined 1 day before and 1 and 3 months after the surgery. During each control, the following examinations were performed: the Amsler grid examination, the best corrected visual acuity (BCVA) for far (EDRTS chart) and near (Jaeger optotypes), intraocular pressure measurement (non contact tonometer NIDEK NT-2000), examination of the anterior segment on the slit lamp, examination of the posterior segment biomicroscopically and by means of indirect ophthalmoscopy, examination of the photopic, pattern, and multifocal ERG (Retiscan, according to the ISCEV methodology), and OCT examination (Stratus OCT). If necessary, the ultrasound examination (Ultrascan Alcon) was performed as well.

For the statistical evaluation of the ERG component values among the data files before the surgery (data file 1), 1 month after the surgery (data file 2), and 3 months after the surgery (data file 3), the non-parametric Wilcoxon pair test was used.

In the photopic ERG, there was statistically significant prolongation of the latency *b* in data file 2 and 3 comparing to the data file 1 ($p < 0.05$). Comparing latency *b* of data file 1 to data file 2, there was found no statistical significance. Comparing other parameters of photopic ERG found no statistically significant difference among data files 1, 2, and 3. In the multifocal ERG, there was found statistically significant elevation of the *P1 amplitude according to the response density of given unit and the P1*

amplitude **in the central ring in data file 3 comparing to the data file 1 ($p < 0.05$). Comparison of other parameters was not statistically significant.**
In the paracentral ring, there was found statistically significant extension of the *N1 and P1* latency in data file 3 comparing to the data file 1 ($p < 0.05$). Comparison of other parameters in the paracentral ring was not statistically significant.
Statistically significant improvement of the retinal electric function in the central 4° 3 months after the surgery, confirms the positive functional effect of the surgery to the fovea. In the fovea, the increase of the number of functional nerve cells of the outer layers of the retina occurs. On the other hand, in the parafoveolar region, as well as in the whole retina, 3 months after the surgery, statistically significant decrease of the function of the retina, meaning the time prolongation of the conduction in the outer layers of the retina, occurs. According also to our results, the peeling of the ILM in the IMH surgery remains, despite its unquestionable contribution, still a controversial technique. During the short, three months lasting, follow-up period, the functional improvement in the fovea occurred, but the functional decrease in the parafoveolar region which correlates in the large extent with area of the ILM peeling was found. The discussion about the ILM peeling indication in the earlier stages is adequate. We will further follow-up the development of the retinal electric function after the IMH surgery with ILM peeling and gas tamponade.

Key words: ERG, idiopathic macular hole, pars plana vitrectomy.

Čes. a slov. Oftal., 66, 2010, No. 2, p. 84–88

ÚVOD

Idiopatická makulární díra (IMD) je defekt fovey v plné tloušťce, od membrana limitans interna až po zevní segmenty fotoreceptorů, který se postupně zvětšuje spolu s narůstajícím prstencem subretinální tekutiny. Příčinou IMD je předozadní i tangenciální trakce sklivce. IMD je věkem podmíněnou makulopatií. Nejčastěji vzniká v 7. decenniu, avšak postiženy mohou být i osoby mladší. Častější incidence je u žen, od 67 do 91 %. Celková prevalence je 3 onemocnění na 1000 obyvatel [11].

Dle doby trvání rozdělujeme IMD na akutní a chronickou. Akutní netrvá déle než 1 rok, chronická naopak trvá déle než 1 rok. Dle velikosti a hloubky defektu se IMD dělí dle uznávané Gassovy klasifikace, publikované v roce 1988 a revidované v roce 1995, do 4 stadií [4]. Stadium 1 je vlastně prekurzorem makulární díry. Představuje pouze elevaci fovey se zachovanou foveolární depresí (stadium 1A) nebo elevaci fovey s vymizením foveolární vklesliny (stadium 1B). Fotoreceptory jsou postupně roztahovány centrifugálně. U 60 % očí se v průběhu ablace zadní plochy sklivce trakce uvolní a stadium 1 se zhojí buď zcela nebo s lamelárním defektem se zachováním vnějších vrstev sítnice. Dalších 40 % očí progreduje dále do stadia 2. Stadium 2 je defekt fovey v plné tloušťce sítnice menší než 400 μm. Sklivec se odlučuje od fovey, ale nadále zůstává fixován k okolní sítnici. I defekt stadia 2 se může spontánně zhojit. Stadium 3 je defekt fovey v plné tloušťce sítnice větší než 400 μm. Vzniká ze stadia 2, buď koncentrickou progresí, nebo excentrickým cirkulárním růstem. Může a nemusí být přítomno operkulum. Sklivec se odlučuje od fovey, nikoliv od papily. Není přítomen Weissův ring, tzn. ablace sklivce od papily zrakového nervu. Stadium 4 je defekt fovey v plné tloušťce sítnice větší než 400 μm. Sklivec se odlučuje od fovey i od papily zrakového nervu. Je přítomen Weissův ring [11].

Uznávanou léčbou symptomatické IMD je v současnosti pars plana vitrektomie (PPV) s precizním odloučením zadní sklivcové membrány a odstraněním sklivce, důslednou kontrolou periferní sítnice, peelingem membrana limitans interna (MLI), výměnou voda/vzduch a tamponádou expanzivním plynem (SF6, C3F8).

Při peelingu MLI ve fovee a perifoveolárně je odstraněna tangenciální trakce, která se spolu s trakcí předozadní podílí na vzniku a rozvoji IMD. Mnohé studie prokázaly významný přínos peelingu MLI na zvýšení počtu uzavřených děr a snížení rizika znovuotevření díry. S vyšším procentem uzávěrů bylo logicky spojené i zlepšení zrakové ostrosti. [2, 5, 6, 12, 18, 19, 21]. Přesto je peeling MLI v současnosti stále kontroverzní technikou. MLI je tvořena výběžky Müllerových podpůrných buněk sítnice. Při odstranění MLI dochází k jejich narušení. V centrální oblasti sítnice proto dochází k nevratným změnám. V důsledku toho vyvstává diskuse o přesných indikacích peelingu MLI v chirurgii makulární díry [8, 13, 15].

Mnoho současných klinických prací dokazuje příznivý vliv PPV s peelingem MLI a plynnou tamponádou pro makulární díru na morfologii makuly. Dokazují zmenšení či vymizení centrálního skotomu a metamorfopsií a především také zlepšení NKZO do dálky i do blízka [3, 6, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 21, 22]. Zhodnocení objektivního funkčního stavu sítnice je ale nadále diskutovanou otázkou.

Práce se zabývá srovnáním elektrické funkce sítnice před a po operaci IMD s peelingem MLI a plynnou tamponádou.

MATERIÁL A METODIKA

Do souboru bylo zařazeno 19 pacientů (8 mužů, 11 žen), tzn. 19 očí s IMD. Průměrný věk byl 69 ± 6 let. Soubor tvořili pacienti s transparentními optickými médii. U žádného z těchto pacientů nebyla nalezena přítomnost jiné makulární patologie než IMD. Nikdo neprodělal předchozí operaci sítnice. Stadium 1B s progresí se vyskytlo u 3 pacientů, stadium 2 u 6 pacientů, stadium 3 u 4 pacientů a stadium 4 u 2 pacientů. U 4 pacientů byla přítomna lamelární fenestrace s progresí.

Pacienti byli vyšetřeni 1 den před operací, 1 měsíc po operaci a 3 měsíce po operaci makulární díry. Při každé kontrole byla provedena následující vyšetření: Amslerův test, nejlépe korigovaná zraková ostrost (NKZO) do blízka (Jaegerovy tabulky), NKZO do dálky (ETDRS optotypy), vyšetření nitroočního tlaku bezkontaktním tonometrem (NIDEK NT-2000), vyšetření předního segmentu na štěrbinové lampě, vyšetření očního pozadí biomikroskopicky i nepřímou oftalmoskopií, vyšetření fotopického, pattern i multifokálního ERG (Retiscan dle metodiky ISCEV) a OCT vyšetření (Stratus OCT). Dle potřeby bylo provedeno i UZV vyšetření (Ultrascan Alcon). ERG vyšetření jsme provedli dle standardů klinické elektroretinografie stanovených ISCEV [16]. Použili jsme nitkovité kontaktní DTL elektrody. Při vyšetření multifokálního ERG jsme sítnici stimulovali pomocí 61 binárních hexagonů [17].

U všech pacientů byla v roce 2007–2008 na naší klinice provedena standardní tříportová PPV s peelingem MLI a plynnou tamponádou expanzivním plynem. Operace provedli dva chirurgové. U všech pacientů bylo operováno pouze jedno oko. Dvě oči byly artefakické, ostatní fakické. U 4 očí byl s přihlédnutím k věku pacientů, vzhledem k častému rozvoji kompliko-

vané katarakty po operaci, proveden výkon kombinovaný, spolu s operací katarakty. U všech bylo doporučeno polohování obličejem dolů nejméně 14 dní. IMD se uzavřela u 17 očí, u 2 očí přetrvala perzistující IMD.

Ke statistickému zpracování hodnot ERG komponent mezi souborem před operací (soubor 1), 1 měsíc po operaci (soubor 2) a 3 měsíce po operaci (soubor 3) jsme použili neparametrický Wilcoxonův párový test. Byly srovnány následující parametry: u fotopického ERG *latence a*, *latence b*, *amplituda a*, *amplituda b* a *poměr b/a*, u pattern ERG *latence N35*, *latence P50* a *latence N95*, *amplituda P50* a *amplituda N95*, u multifokálního ERG *amplituda P1 na hustotu odpovědi dané jednotky*, *amplituda P1*, *amplituda N1*, *latence P1* a *latence N1*. U multifokálního ERG jsme hodnotili počítačem extrahované hodnoty komponent zvlášť v centrálním (4° kolem oblasti fixace) a zvlášť v paracentrálním prstenci (5–10° kolem oblasti fixace).

VÝSLEDKY

U fotopického ERG (F ERG) byla statisticky signifikantně prodloužena *latence b* u souborů 2 a 3 oproti souboru 1 ($p < 0,05$) (obr. 1). Při srovnání *latence b* mezi soubory 2 a 3 nebyla nalezena statistická významnost. Srovnání ostatních parametrů F ERG nebylo statisticky významné. U pattern ERG (P ERG) nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi soubory 1, 2 a 3.

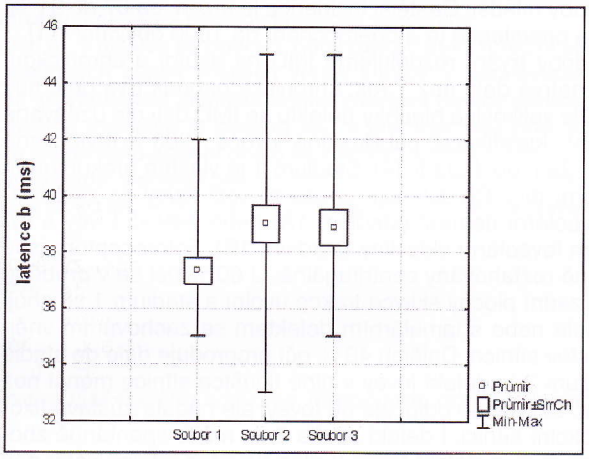
U multifokálního ERG (Mf ERG) bylo nalezeno statisticky signifikantní zvýšení *amplitudy P1 na hustotu odpovědi dané jednotky* a *amplitudy P1* v centrálním prstenci u souboru 3 oproti souboru 1 ($p < 0,05$) (obr. 2). Srovnání ostatních parametrů nebylo statisticky významné. V paracentrálním prstenci bylo nalezeno statisticky signifikantní prodloužení *latence N1* i *latence P1* u souboru 3 oproti souboru 1 ($p < 0,05$) (obr. 3). Srovnání ostatních parametrů v paracentrálním prstenci nebylo statisticky významné.

DISKUSE

Výsledky srovnání ERG před, 1 měsíc a 3 měsíce po PPV s peelingem MLI a plynnou tamponádou pro makulární díru dokazují následující:

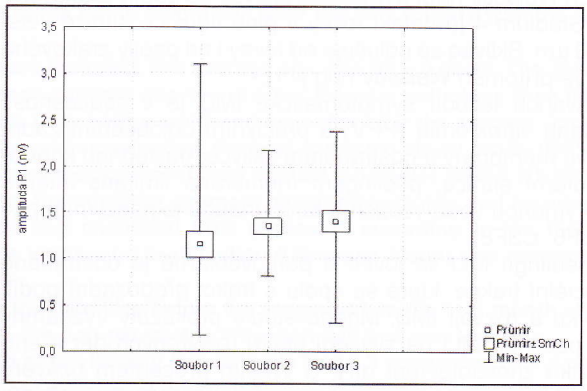
Jednoznačné zlepšení funkce sítnice v centrálním prstenci 3 měsíce po operaci, odráží uzavření IMD, snížení edému a obnovení foveolární deprese u 17 pacientů nebo přiblížení okrajů díry u 2 pacientů. Zlepšení elektrické funkce fovey dokazuje statisticky signifikantní zvýšení *amplitudy P1 na hustotu odpovědi dané jednotky* a *amplitudy P1* v centrálním prstenci. V centrálních 4° dochází ve vnějších vrstvách sítnice ke zvýšení počtu funkčních nervových buněk [7]. Statisticky signifikantní zvýšení *amplitudy P1* v centrálním prstenci publikoval 1 rok po operaci IMD s peelingem MLI Apostolopoulos [1]. Vyšetřil 20 uzavřených IMD. K po-

latence b (ms)			
n=19	soubor 1	soubor 2	soubor 3
průměr	37,28	38,89	38,78
směrodatná odchylka	2,08	2,90	2,76
maximum	42,00	45,00	45,00
minimum	35,00	33,00	35,00



Obr. 1. Srovnání latence b u F ERG mezi soubory 1, 2, 3

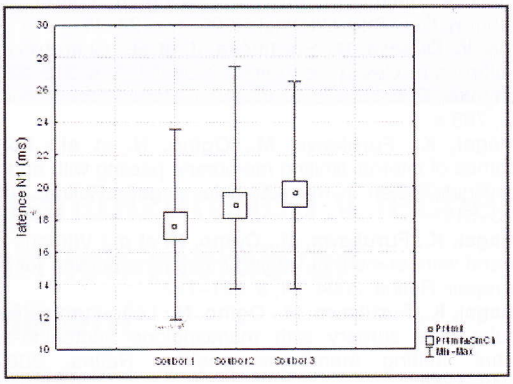
amplituda P1 (μV) v centrálním prstenci			
n=19	soubor 1	soubor 2	soubor 3
průměr	1,18	1,38	1,44
směrodatná odchylka	0,59	0,37	0,48
maximum	3,11	2,17	2,38
minimum	0,18	0,84	0,31

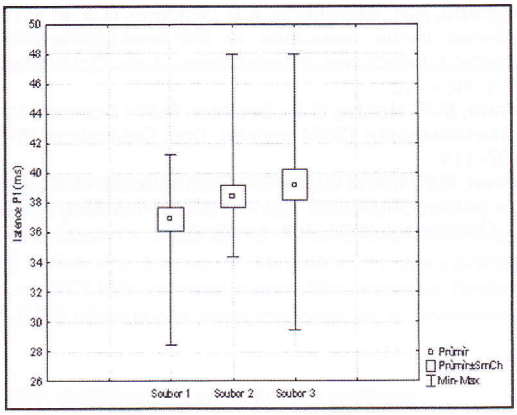


Obr. 2. Srovnání amplitudy komponenty P1 v centrálním prstenci u Mf ERG mezi soubory 1, 2, 3

latence N1 (ms) v paracentrálním prstenci			
n=19	soubor 1	soubor 2	soubor 3
průměr	17,31	18,40	19,60
směrodatná odchylka	3,35	2,77	3,18
maximum	23,50	23,50	26,50
minimum	11,80	13,70	13,70

latence P1 (ms) v paracentrálním prstenci			
n=19	soubor 1	soubor 2	soubor 3
průměr	36,64	37,90	38,76
směrodatná odchylka	3,31	2,38	4,06
maximum	41,20	43,10	48,00
minimum	28,40	34,30	29,40





Obr. 3. Srovnání latence komponent N1, P1 v paracentrálním prstenci u Mf ERG mezi soubory 1, 2, 3

dobnému výsledku také došel Si Ying-Ji, který publikoval statisticky signifikantní zvýšení *amplitudy P1* v centrálním prstenci u 40 očí 3 měsíce po operaci a další zvýšení 6 měsíců po operaci [20]. V paracentrálním prstenci (5–10° kolem oblasti fixace) jsme nenalezli v hodnotě *amplitudy P1* statisticky významný rozdíl mezi soubory. Naopak práce Apostolopoulose a Si Ying-Ji poukazovaly na pooperační zvýšení *amplitudy P1* i v pericentrální oblasti [1, 20]. Tuto skutečnost vysvětlovaly přiložením ablace neuroretiny při uzávěru IMD. Naše práce naopak signalizuje 3 měsíce po operaci, statisticky signifikantní prodloužení *latence N1* i *P1* v paracetrálním prstenci. Poukazuje na možnost prodloužení doby vedení nervovými buňkami vnějších vrstev sítnice [7]. Tento výsledek je důležitý vzhledem ke skutečnosti, že paracentrální prstenec se ve velkém rozsahu shoduje s oblastí, kde byl proveden peeling MLI. Práce Apostolopoulose a Si Ying-Ji *latence N1* a *P1* v paracentrálním prstenci vůbec neuváděly.

ZÁVĚR

Statisticky signifikantní zlepšení elektrické funkce sítnice v centrálních 4°, 3 měsíce po operaci, potvrzuje příznivý funkční efekt operace ve fovee. Ve fovee dochází ke zvýšení počtu funkčních nervových buněk vnějších vrstev sítnice. V parafoveolární oblasti, stejně i na celé sítnici, dochází 3 měsíce po operaci, naopak ke statisticky signifikantnímu zhoršení funkce sítnice ve smyslu prodloužení doby vedení vnějšími vrstvami sítnice. I dle našich výsledků je peeling MLI v chirurgii IMD přes jeho nesporný přínos stále kontroverzní technikou. V krátkém tříměsíčním sledovacím období došlo ke zlepšení funkce ve fovee, ale ke zhoršení funkce parafoveolární oblasti, která se ve velkém rozsahu shoduje s oblastí peelingu MLI. Diskuse ohledně indikace peelingu MLI u nižších stadií IMD je jistě na místě. Vývoj elektrické funkce sítnice po operaci IMD s peelingem MLI a plynnou tamponádou budeme nadále sledovat.

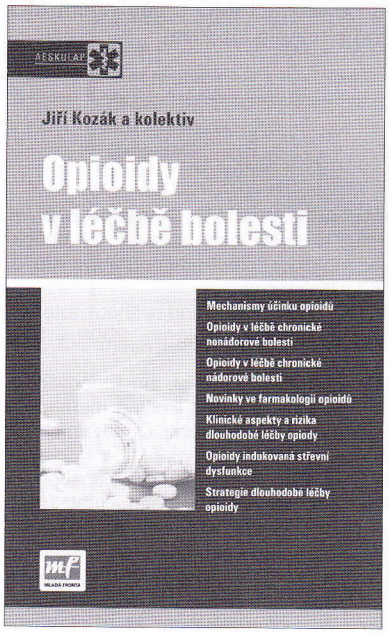
LITERATURA

1. **Apostolopoulos, M.N., Koutsandrea, CH.N., Moschos, M.N. et al.:** Evaluation of sucessful macular hole surgery by optical coherence tomography and multifocal electroretinography. Am. J. Ophthalmol. 2002, 5, s. 667–674
2. **Brooks, HL.:** Macular hole surgery with and without internal limiting membrane peeling. Ophthalmology. 2000, 107, s. 1939–1948
3. **Da Mata, A.P., Burk, S.E., Riemann, C.D. et al.:** Indocyanine green-assisted peeling of the retinal internal limiting membrane during vitrectomy surgery for macular hole repair. Ophthalmology. 2001, 108, s. 1187–1192
4. **Gass, J.D.M.:** Reappraisal of biomicroscopic classification of stage of development of macular hole. Am. J. Ophthalmol. 1995, 119, s. 752–759
5. **Haritoglou, C., Gass, C.A., Schaumberger, M. et al.:** Long-term follow-up after macular hole surgery with internal limiting membrane peeling. Am. J. Ophthalmol. 2002, 134, s. 661–666
6. **Haritoglou, C.H., Reiniger, I.W., Schaumberger, M. et al.:** Five-years follow-up of macular hole surgery with peeling of the internal limiting membrane. Retina. 2006, 26, s. 618–622
7. **Karkanová, M., Kolář, P., Vlková, E. et al.:** ERG před a po PPV s peelingem MLI a plynnou tamponádou pro makulární díru. 73, In: Sborník abstrakt XVI. výročního sjezdu České oftalmologické společnosti s mezinárodní účastí ve Špindlerově Mlýně. Ed. Nucleus HK, 2008, s. 123, ISBN 978-80-87009-53-6.
8. **Kimura, T., Takahashi, M., Takagi, H. et al.:** Is removal of internal limiting membrane always necessary during stage 3 idiopathic macular hole surgery? Retina. 2005, 25, s. 54–58

9. **Kolář, P., Vlková, E.:** Dlouhodobé výsledky chirurgického řešení idiopatické makulární díry s peelingem vnitřní limitující membrány. Čes. Slov. Oftalmol. 2006, 1, s. 34–41
10. **Korda, V., Dusová, D., Studnička, J. et al.:** Chirurgické řešení makulární díry. Čes. a Slov. Oftal. 2005, 61, 5, s. 316–320
11. **Kuchyňka, P. a kol.:** Oční lékařství. Praha. Grada Publishing. 2007, 768 s.
12. **Kumagai, K., Furukawa, M., Ogino, N. et al.:** Long-term outcomes of internal limiting membrane peeling with and without indocyanine green in macular hole surgery. Retina. 2006, 26, s. 613–617
13. **Kumagai, K., Furukawa, M., Ogino, N. et al.:** Vitreous surgery with and without internal limiting membrane peeling for macular hole repair. Retina. 2004, 24, s. 721–727
14. **Kumagai, K., Furukawa, M., Ogino, N.:** Long-term outcomes of macular hole surgery with triamcinolone acetonide-assisted internal limiting membrane peeling. Retina. 2007, 27, s. 1249–1254
15. **Margherio, R.R., Margherio, A.R., Wiliams, G.A. et al.:** Effect of perifoveal tissue dissection in the management of acute idiopathic full-thickness macular holes. Arch. Ophthalmol. 2000, 118, s. 495–498
16. **Marmor, M.F., Holder, G.E., Seeliger, M.W.:** Standard for clinical electroretinography (2004 update). Doc. Ophthalmol. 2004, 108, s. 107–114
17. **Marmor, M.F., Hood, D., Kratiny, D., Kondo, M. et al.:** Guidelines for basic multifocal electroretinography (mfERG). Doc. Ophthalmol. 2003, 106, s. 105–115.
18. **Mester, V., Kuhn, F.:** Internal limiting membrane removal in the management of full-thickness macular holes. Am. J. Ophthalmol. 2000, 129, s. 769–777
19. **Sheidow, T.G., Blinder, K.J., Holekamp, N. et al.:** Outcomes results in macular hole surgery: an evaluation of internal limiting membrane peeling with and without indocyanine green. Ophthalmology. 2003, 110, s. 1697–1701
20. **Si, Ying-Jie, Kishi, Shoji, Aoyagi, Koji:** Assessment of macular function by multifocal elektroretinogram before and after macular hole surgery. Br. J. Ophthalmol. 1999, 83, s. 420–424
21. **Smiddy, W.E., Feuer, W., Cordahi, G.:** Internal limiting membrane peeling in macular hole surgery. Ophthalmology. 2001, 108, s. 1471–1476
22. **Vote, B.J., Russel, M.K., Joondeph, B.C.:** Trypan blue-assisted vitrectomy. Retina. 2004, 24, s. 736–737

Do redakce doručeno dne 15. 3. 2010
Do tisku přijato dne 10. 5. 2010

MUDr. Michala Karkanová
Oční klinika MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: mkarkanova@fnbrno.cz



OPIOIDY V LÉČBĚ BOLESTI

MUDr. Jiří Kozák, Ph.D. a kolektiv

Edice Aeskulap
Divize Medical Services, Mladá fronta, a.s.

Předkládaná publikace našich předních specialistů v oboru algeziologie si nečiní nárok na vyčerpávající informace o celé problematice, poukazuje spíše na aktuální trendy a zásady v léčbě opioidy. Neopomíjí ani nejnovější preparáty z této lékové skupiny, které přicházejí na trh. Zdůrazněn je značný posun v chápání farmakoterapie opioidy oproti předchozímu období, kdy lékaři mohli předepsat pouze 2–3 druhy „depotních" opioidů, čímž byly jejich možnosti značně omezené. V současné době je k dispozici škála opioidních preparátů typu SR, na trhu se konečně objevují takřka ideální přípravky na průlomovou bolest typu fentanyl citrátu. Přicházejí i nové preparáty, které dokážou potlačit nejobávanější komplikaci u dlouhodobé léčby opioidy – zácpu. Samostatné kapitoly jsou věnovány léčbě chronické bolesti nádorového i nenádorového původu.

ISBN 978-80-204-2122-7, formát atypický A 5, 110 x 180 mm, 120 stran, barevně, vazba brožovaná, doporučená cena 170 Kč, kategorie – Medicína, specializace – Anesteziologie a resuscitace, Chirurgie, Farmakologie, Gerontologie a geriatrie, Gynekologie a porodnictví, Neurologie, Onkologie, ORL, Ortopedie, Revmatologie, Rehabilitace, Urgentní medicína, Urologie, Ostatní

Objednávky zasílejte e-mailem nebo poštou: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz. Na objednávce laskavě uveďte i jméno časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli

Příloha 20

KAZUISTIKA

Fluorescenční angiografie u Stargardtovy choroby

Kolář P.

Oční klinika Fakultní nemocnice Brno Bohunice, přednosta prof. MUDr. Eva Vlková, CSc.

Souhrn

V článku autor podává informace o Stargardtově chorobě a formou kazuistiky uvádí konkrétní kroky, které vedly ke stanovení diagnózy tohoto onemocnění.

Stargardtova choroba je jednou z forem juvenilní makulární degenerace, která postihuje retinální pigmentový epitel. Jedná se o relativně vzácné, dědičné, pomalu progredující, většinou bilaterální onemocnění, vedoucí k poklesu vizu. Dědičnost je ve většině případů autosomálně recesivní.

S onemocněním se většina oftalmologů během své praxe nesetká, je ovšem na jeho výskyt nutno myslet.

Klíčová slova: Stargardtova choroba, juvenilní makulární degenerace, autosomálně recesívní dědičnost

Summary

Fluorescent Angiography in Stargardt´s Disease

(Case-report)

The author submits information on Stargardt´s disease, and based on a case-report he mentions actual steps which led to the establishment of the diagnosis of the disease.

Stargardt´s disease is one of the forms of juvenile macular degeneration which affects the retinal pigmented epithelium. It is a relatively rare hereditary, slowly progressing, usually bilateral disease leading to deterioration of vision. In the majority the heredity is autosomal recessive.

The majority of ophthalmologists do not encounter the disease in their practice but it has to be taken into consideraction.

Key words: Stargardt´s disease, juvenile macular degeneration, autosomal recessive heredity

Čes. a slov. Oftal., 56, 2000, No. 1, p. 60 - 63 *O.*

Onemocnění bylo poprvé popsáno oftalmologem Karlem Stargardtem v r. 1909. Jedná se o juvenilní makulární degeneraci. Původní Stargardtova definice z r. 1913 zní: „Jde o bilaterální, pomalu progredující onemocnění postihující makulu, vyskytující se familiárně, začínající v mládí a vedoucí event. ke ztrátě centrálního vizu." [1].

Stargardtova choroba bývá často spojována s další nozeologickou jednotkou, kterou je fundus flavimaculatus. V současné době se zdá, že jde o 2 varianty jednoho onemocnění [3]. Stargardtovu chorobu diagnostikujeme při výskytu makulární dys-

Předneseno na II. angiografických dnech v Litomyšli 14. - 15. května 1999

trofie se skvrnami nebo bez nich. Jako fundus flavimaculatus je definována pouze čistá forma bez postižení makuly.

Hlavními symptomy, které pacienta k vyšetření přivedou, popsal už Stargardt v roce 1913: porucha vizu, porucha barevného vidění, denní slepota, fotofobie [1]. Z dnešního pohledu bychom doplnili ještě výskyt centrálních skotomů.

Oftalmoskopický nález v časných fázích je buď velmi diskrétní, nebo žádný. Později dochází ke ztrátě foveolárního reflexu, makula nabývá granulovaného vzhledu, v pozdních fázích vykazuje makula vzhled „tepaného bronzu". Od makuly směrem do střední periferie nacházíme obvykle žlutavé skvrny. Diferenciálně diagnosticky se tyto nenachází nikdy dále než za ekvátorem. V pozdních fázích může docházet k jejich pigmentaci. Papila zrakového nervu, retinální cévy a vzdálená periferie vykazují normální nález.

Patofyziologický podklad tohoto onemocnění tkví velmi pravděpodobně v destrukci buněk retinálního pigmentového epitelu (RPE), torza jader těchto buněk jsou zachována pouze v okolí Bruchovy membrány. Na tyto změny navazuje poté sekundárně destrukce fotoreceptorů z abnormity buněk RPE.

Histologické studie u Stargardtovy choroby byly vypracovány dle dostupné literatury pouze dvě (Blodi a Klien, Krill) [3]. Blodi popisuje vymizení fotoreceptorů z makuly při degeneraci buněk RPE. Klien a Krill popisují nahromadění patologické substance ve vnitřní polovině buněk RPE.

Už Stargardt poukazuje na to, že onemocnění se vyskytuje familiárně [1]. Mnozí autoři ve shodě uvádějí, že dědičnost je asi v 90 % autosomálně recesivní, ve zbylých případech jde o autosomálně dominantní přenos, či náhodnou mutaci [1].

DIFERENCIÁLNÍ DIAGNÓZA

Stargardtova choroba je jednou z forem juvenilní makulární degenerace, ostatní příčiny juvenilní makulární degenerace musíme proto vyloučit. Jsou to: fundus flavimaculatus, viteliformní dystrofie, juvenilní retinoschíza vázaná na X-chromosom, Spielmeyer-Vogtova choroba, familiární dominantní drúzy [3].

Obvyklé nálezy subjektivních a objektivních vyšetřovacích metod jsou následující:

Zraková ostrost postupně klesá, ustaluje se v rozmezí 5/50 - počítáním prstů.

Zorné pole vykazuje sníženou senzitivitu ve střední periferii a relativní, či absolutní centrální skotomy.

Barevné vidění vykazuje získanou lehkou červeno zelenou dyschromatopsii, v pozdních stadiích až získanou achromatopsii.

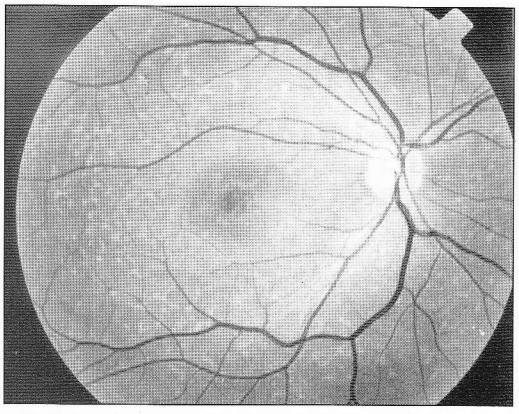
Adaptace na tmu je obvykle normální, či lehce subnormální, velké poruchy nenalézáme nikdy.

Na ERG pozorujeme ve většině případů normální nález, může se vyskytnout pouze delší latence v dosažení maxima vlny B. U pokročilých nálezů jsou diskrétně sníženy amplitudy. Nikdy se nevyskytne nevýbavné ERG.

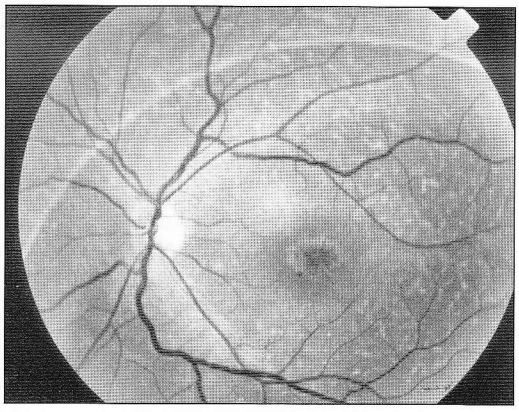
EOG vykazuje obvykle lehce subnormální nález, je indikátorem velikosti postižení RPE.

KAZUISTIKA

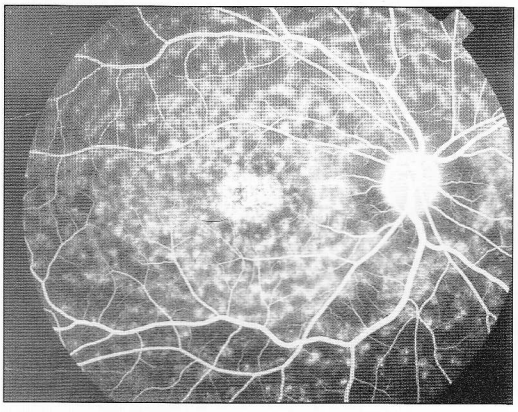
V minulém roce se na naši ambulanci dostavila 24letá pacientka s doporučením ze sektoru k vyšetření pro pokles vizu. Anamnesticky zjištěno, že rodinná anamnéza



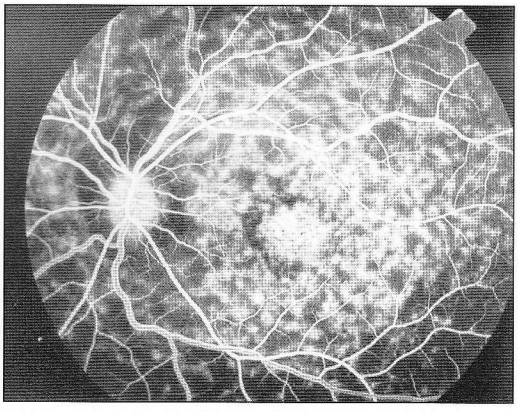
Obr. 1. Snímek fundu pravého oka v bezčerveném světle.



Obr. 2. Snímek fundu levého oka v bezčerveném světle.



Obr. 3. Fluorescenční angiogram pravého oka.



Obr. 4. Fluorescenční angiogram levého oka.

je bezvýznamná, v osobní anamnéze pouze běžná dětská onemocnění, v oční anamnéze lehká myopie od školních let, nynější onemocnění - postupný pokles vizu v posledním roce.

Hlavní subjektivní symptomy: pokles vizu, porucha barevného vidění, centrální skotomy, fotofobie.

Objektivní vyšetření: vizus ODS s kor -2,0 Dsf 5/30 d.k.n., Jaeger naturálně nečte, Jaeger č. 6 na OD či OS s dalekohledným zvětšovacím systémem 8x, přední segment a čočka bez patologického nálezu. Při vyšetření fundu v mydriáze patrna na ODS symetricky makulární atrofie charakteru „tepaného bronzu". Od makuly směrem do střední periferie byla nepravidelně rozeseta žlutavá chorioretinální ložiska (obr. 1, 2). NT zcela v normě. Dle vyšetření barvocitu prokázána získaná achromatopsie.

ERG: skotopické - normální nález, fotopické - normální nález.

EOG: subnormální nález.

Fluorescenční angiografie: už v časných fázích patrna chorioidální hyperfluorescence v oblasti makuly, později se objevují ložiska chorioidální hyperfluorescence od makuly až do střední periferie (korespondují se žlutavými choreioretinálními ložisky) (obr. 3, 4).

ZÁVĚR

Na základě výsledků všech vyšetření byla stanovena diagnóza M. Stargardt. Z hlediska typu dědičnosti se jedná z důvodu negativní RA o nahodilou mutaci. Z prognostického hlediska je stav nepříznivý, může docházet k další progresi choroby.

S tímto onemocněním se většina oftalmologů během své praxe nesetká, protože se jedná z hlediska četnosti výskytu o velmi vzácné onemocnění. Na jeho existenci je ovšem nutno myslet a správně jej diagnostikovat.

LITERATURA

1. **Duke-Elder, S.:** System of ophtalmology, Volume X - Diseases of the retina, St. Louis the C. V. Mosby Company, 1967, s. 634-638.
2. **Kanski, J. J.:** Lehrbuch der klinischen Ophtalmologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1996, s. 398-399.
3. **Ryan, S. J.:** Retina, Mosby Year Book, 1994, s. 1200-1204, 1211-1214.

MUDr. Petr Kolář
Oční klinika FN Brno Bohunice
Jihlavská 100
639 00 Brno

RECENZE

Hanuš Kraus a kolektiv: **Kompendium očního lékařství.** 1. vydání, 337 stran, 104 barevných ilustrací, Grada Publishing 1997.

Patnáct autorů pod vedením profesora Krause se podjalo nesnadného úkolu zmapovat současný stav očního lékařství tak, aby v něm našel oční lékař vše, co potřebuje pro svou praxi. Kniha je nesporně velkým pokrokem v oblasti oční literatury a neměla by chybět na pracovním stole žádného oftalmologa. Nesporným přínosem kompendia je rovněž doplňující seznam literatury u každé kapitoly. Myslím, že v seznamu učebnic by nemělo chybět Jirmanovo oční lékařství, ze kterého čerpala starší generace dosud žijících oftalmologů a Veselého choroby oka s výrazným zaměřením k praktické oftalmologii.

V příštím vydání kompendia, které nesporně bude následovat, bych doporučoval rozšířit více kapitoly u té problematiky, se kterou se setkává terénní oftalmolog každodenně: glaukom, strabismus, předpis brýlí a refrakční vady a další, na úkor těch kapitol, s jejichž problematikou se setkává terénní oftalmolog jen zřídka a pokud ano, odesílá je obratem na specializovaná pracoviště vyššího typu.

Některé barevné obrázky jsou hluboko pod úrovní textové části učebnice a snižují validitu knihy. Protože kniha representuje zároveň i českou oftalmologii, doporučoval bych při příštím vydání neomezovat se s obrazovou dokumentací pouze na autory jednotlivých kapitol, ale učinit barevnou dokumentaci záležitostí všech klinik. Na příklad profesor Svěrák informuje v Čs. oftalmologii o více než 10 000 diapozitivech očního pozadí, které jsou k dispozici na hradecké oční klinice.

Závěrem blahopřeji autorům k dílu, které výrazně obohacuje českou oftalmologickou literaturu a přeji brzké vydání dalšího vylepšeného kompendia.

Svatopluk Řehák

Příloha 21

Adultní forma Bestovy viteliformní dystrofie makuly – kazuistiky

Kolář P., Vlková E.

Oční klinika FN, Brno,
přednosta prof. MUDr. Eva Vlková, CSc.

Souhrn

Cílem práce je podat kazuistické sdělení 3 případů adultní Bestovy dystrofie makuly.

Soubor tvoří 3 pacienti, jedna žena a dva muži ve věkovém rozmezí 49-67 let. U všech pacientů souboru byla na postižených očích pozorována vždy pouze jediná léze lokalizovaná v makule. U dvou pacientů byly postiženy obě oči, u jednoho byl nález jednostranný. Všechna ložiska měla charakteristický klinický obraz, který odpovídal viteliformnímu stadiu Bestovy choroby.

Všichni pacienti podstoupili komplexní oftalmologické vyšetření, které zahrnovalo: pečlivé odebrání anamnézy, vyšetření zrakové ostrosti na dálku a do blízka, změření hodnoty nitroočního tlaku, perimetrické vyšetření, vyšetření sítnice v arteficiální mydriáze, OCT vyšetření a elektroretinografické vyšetření (ERG) vč. elektrookulogramu (EOG). U všech tří pacientů bylo provedeno i fluoroangiografické vyšetření.

U všech pacientů bylo onemocnění zaznamenáno ve viteliformním stadiu. Velikost poklesu zrakové ostrosti úzce souvisela se závažností a délkou trvání nálezu na sítnici.

U jednoho pacienta ze souboru byl nález jednostranný, u dalších dvou poté oboustranný. Viteliformní léze se nalézala vždy v makule v sub- či juxtafoveolární lokalizaci. U žádného z pacientů se autorům nepodařilo prokázat genetickou vazbu spojenou s přenosem onemocnění v příbuzenstvu.

Klíčová slova: Bestova viteliformní dystrofie makuly, adultní forma, autosomálně dominantní dědičnost, patologický elektrookulogram

Summary

Adult form of Best's Vitelliform Macular Dystrophy – Case Reports

The purpose of this study is to refer three case reports of adult Best's macular dystrophy. The group consists of three patients, one woman and two men, aged 49 – 67 years. In all patients of the group only one lesion localized in the macula of the affected eye was noticed. In two patients, both eyes were affected; in the last one the finding was unilateral. All lesions had typical clinical finding, which corresponded to the vitelliform stage of the Best's disease.

All patients underwent complex ophthalmologic examination including medical history taking, visual acuity for far and for near, intraocular pressure measurement, examination of the visual fields, retinal examination with dilated pupils, optical coherent tomography, and electroretinogram, and electro-oculogram as well. In all three patients, also the fundus fluorescein angiography was performed. The decrease of the visual acuity closely correlated to the seriousness and the duration of the retinal finding. The vitelliform lesion was located always in the macula, in sub- or juxtafoveolar localization. In none of those patients the authors could find the genetic linkage or the transmission of the disease to the relatives.

Key words: Best's vitelliform macular dystrophy, adult form, autosomal dominant inheritance, pathologic electro-oculogram

Čes. a slov. Oftal., 60, 2004, No. 4, p. 300 - 306

ÚVOD

Viteliformní dystrofie makuly byla poprvé popsána v roce 1905 oftalmologem Bestem [5] a je proto nazývána taktéž Bestovou chorobou.

U onemocnění byla prokázána autosomálně dominantní dědičnost s variabilní penetrancí a expresivitou [1-6, 9, 10-12, 14, 15, 17-19, 21, 22, 25, 26, 27, 29-31, 33, 35, 37]. Pomocí genové analýzy byl identifikován v rodokmenech ze Švédska a Iowy gen pro Bestovu chorobu na chromozomu 11q13 [16, 32, 36]. Snaha o nalezení společného genetického původu pro typické a atypické formy onemocnění nebyla úspěšná [38].

Velmi charakteristická je pro onemocnění redukce odpovědi v elektrookulogramu (EOG) jak u postižených pacientů, tak u přenašečů [1, 10, 17].

Onemocnění se většinou projeví u typických forem již v prvních dekádách života. Postižen je primárně pigmentový epitel sítnice makuly. Průběh onemocnění není stacionární a je možné jej rozdělit do 5 stadií [19]:

1. previteliformní stadium – je charakterizováno fyziologickým vzhledem sítnice v makule a předchází viteliformní stadium.
2. viteliformní stadium – je typické okrouhlým, ostře ohraničeným žlutavým ložiskem ve vrstvě pigmentového epitelu sítnice (PE), které má charakter vaječného žloutku. Velikost ložiska kolísá mezi 1-2 PD.
3. stadium pseudohypopya – vzniká v důsledku uvolnění žlutavého materiálu z buněk pigmentového epitelu sítnice do subretinálního prostoru, v horních částech ložiska se mohou objevit přesuny pigmentu.
4. stadium sraženého žloutku – v tomto stadiu se v makule objevují nepravidelná žlutavá subretinální depozita, která budí dojem sraženého žloutku. Zraková ostrost v tomto stadiu lehce klesá.
5. atrofické stadium – jde o konečné stadium, které vzniká po resorpci žlutavého materiálu v makule, toto stadium může být komplikováno choroidální neovaskulární membránou v kombinaci se subretinální hemoragií, která vyústí v tvorbu disciformní jizvy [18, 37, 39].

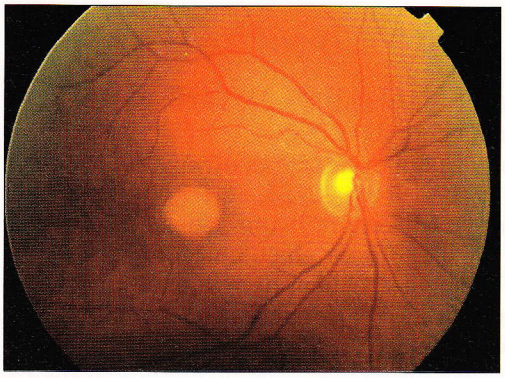
Adultní forma Bestovy choroby se projevuje v pozdějším věku, většinou v období 3.-4. decenia. Ložiska mají stejný charakter, tj. jsou uložena na úrovni pigmentového epitelu sítnice. Mohou být solitární, či mnohočetná a mohou se dokonce vyskytovat i mimo makulu [7, 8, 13, 20, 23, 24, 27, 34].

Ke stanovení diagnózy Bestovy choroby je však z diferenciálně diagnostického hlediska vyloučit ostatní makulární dystrofie jako jsou Stargardtova choroba, viteliformní léze bez známek Bestovy choroby, pattern dystrofie, cone dystrofie, centrální areolární chorioretinální dystrofie, North California dystrofie, familiární dominantní drúzy a na X-chromosom vázaná retinoschíza [19].

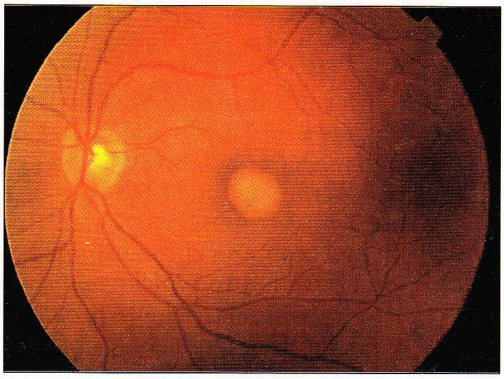
SOUBOR PACIENTŮ A METODIKA

Náš soubor tvoří 3 pacienti, jedna žena a dva muži ve věkovém rozmezí 49-67 let. U všech pacientů souboru byla na postižených očích pozorována vždy pouze jediná léze lokalizovaná v makule. U dvou pacientů byly postiženy obě oči, u jednoho byl nález jednostranný. Všechna ložiska měla charakteristický klinický obraz, který odpovídal viteliformnímu stadiu Bestovy choroby.

Všichni pacienti podstoupili komplexní oftalmologické vyšetření, které zahrnovalo: pečlivé odebrání anamnézy, vyšetření zrakové ostrosti na dálku a do blízka,



Obr. 1. Barevná fotografie sítnice pravého oka



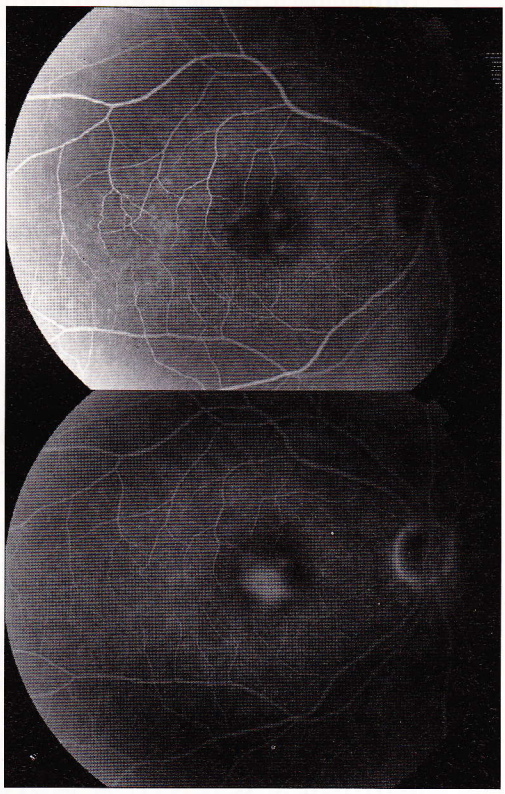
Obr. 2. Barevná fotografie sítnice levého oka

změření hodnoty nitroočního tlaku, perimetrické vyšetření, vyšetření sítnice v arteficiální mydriáze, OCT vyšetření a elektroretinografické vyšetření (ERG) vč. elektrookulogramu (EOG). U všech tří pacientů bylo provedeno i fluoroangiografické vyšetření.

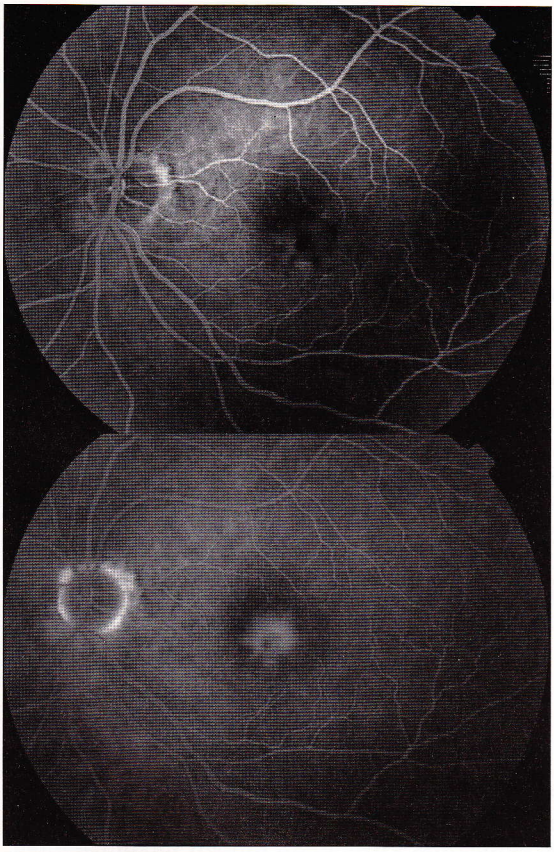
KAZUISTIKY

Kazuistika 1

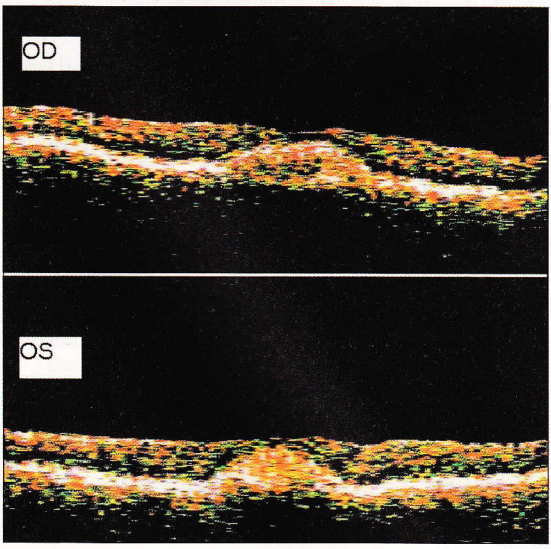
Žena, 50 let, s bezvýznamnou rodinnou a osobní anamnézou, i přes podrobný rozbor rodinné oční anamnézy se v užším příbuzenstvu nepodařilo najít příslušníka postiženého očním onemocněním. Oční anamnéze dominoval asi 1 měsíc trvající pokles vizu obou očí. Korigovaná zraková ostrost na obou očích do dálky byla 5/15, do blízka četla na obou očích Jäger č. 7. Hodnota nitroočního tlaku byla na pravém oku 18 a na levém 20 torrů. Perimetr obou očí vykazoval relativní centrální skotomy do 5 st. kolem centra zorného pole. Při vyšetření sítnice obou očí v arteficiální mydriáze byla zjištěna subfoveolárně lokalizovaná viteliformní léze žluté barvy velikosti 1 PD na úrovni pigmentového epitelu (obr. 1, 2). Na fluorescenčním angiogramu obou očí byl v časné fázi patrný blok fluorescence, který v pozdní fázi přecházel do lehké hyperfluorescence (obr. 3, 4). Nález na OCT obou očí byl symetrický a vykazoval subfoveolárně lokalizované ztluštění vrstvy pigmentového epitelu s lehkou atrofií neuroretiny na 100



Obr. 3. Fluorescenční angiogram sítnice pravého oka



Obr. 4. Fluorescenční angiogram sítnice levého oka



Obr. 5. OCT nález makuly pravého a levého oka

μm (obr. 5). EOG vyšetření obou očí vykazovalo patologické hodnoty při fyziologických hodnotách na ERG obou očí.

O faktu pomalé progrese onemocnění jsme se přesvědčili opakovaným vyšetřením za rok, kdy došlo k progresi velikosti viteliformní léze o 200 μm. Ve shodě s tímto nálezem u pacientky poklesla zraková ostrost na obou očích o 1 řádek Snellenových optotypů na hodnotu 5/20. Subjektivně pacientka udávala zvětšení velikosti centrálního skotomu.

Kazuistika 2

Muž, 67 let, rodinná anamnéza byla bezvýznamná, v osobní anamnéze se u pacienta vyskytovala dobře kompenzovaná arteriální hypertenze, v rodinné oční anamnéze se opět nepodařilo prokázat v užším příbuzenstvu jakékoliv onemocnění sítnice. V oční anamnéze dominoval 3 měsíce trvající pokles vizu obou očí s výraznými centrálními skotomy. Nejlepší korigovaná zraková ostrost na obou očích byla 5/50. S presbyoptickou korekcí bez využití zvětšovacích pomůcek pacient četl Jäger 13. Hodnota nitroočního tlaku byla na pravém oku 15 a na levém 14 torrů. Perimetr pravého oka vykazoval relativní centrální skotomy do 5 st. kolem centra zorného pole. Na perimetru levého oka byl zjištěn paracentrální skotom navazující shora na centrum zorného pole o velikosti asi 5 st. Vyšetření sítnice pravého oka v arteficiální mydriáze vykázalo subfoveolárně lokalizovanou viteliformní lézi žluté barvy velikosti 1 PD na úrovni pigmentového epitelu. Na sítnici levého oka byla taktéž prokázána viteliformní léze o velikosti 0,5 PD lokalizovaná juxtafoveolárně. Na fluorescenčním angiogramu obou očí byl v časné fázi patrný blok fluorescence, který v pozdní fázi přecházel do lehké hyperfluorescence. Nález OCT vykazoval na pravém oku subfoveolárně a na

levém oku juxtafoveolárně lokalizované ztluštění vrstvy pigmentového epitelu s lehkou atrofií neuroretiny. EOG vyšetření obou očí vykazovalo patologické hodnoty při fyziologických hodnotách na ERG obou očí.

Kazuistika 3

Muž, 49 let, rodinná a osobní anamnéza byly bezvýznamné, rodinná oční anamnéza neprokázala výskyt jakéhokoliv sítnicového onemocnění v příbuzenstvu. V oční anamnéze dominoval asi 2 měsíce trvající lehký pokles vizu levého oka. Zaková ostrost pravého oka byla 5/5 a levého oka 5/7,5. S patřičnou presbyopickou korekcí pacient četl Jäger 4. Hodnota nitroočního tlaku byla na pravém oku 19 a na levém 17 torrů. Perimetr pravého oka nevykazoval relativní ani absolutní skotomy. Na perimetru levého oka byl zjištěn centrální skotom o velikosti asi 5 st. Nález na sítnici u tohoto pacienta byl jednostranný. Vyšetření sítnice pravého oka v arteficiální mydriáze prokázalo fyziologický nález. Na sítnici levého oka byla patrna viteliformní léze o velikosti 1,0 PD lokalizovaná subfoveolárně. Na fluorescenčním angiogramu pravého oka byl fyziologický bez průkazu průsaku kontrastní látky. Na levém oku byl v časné fázi patrný blok fluorescence, který v pozdní fázi přecházel do lehké hyperfluorescence. Nález OCT pravého oka byl fyziologický včetně tloušťky neuroretiny. Na levém oku bylo prokázáno subfoveolárně lokalizované tluštění vrstvy pigmentového epitelu. EOG vyšetření pravého oka vykazovalo patologické hodnoty při fyziologických hodnotách na ERG obou očí. Hodnoty EOG na levém oku byly fyziologické.

DISKUSE

Autoři prezentovali kazuistická sdělení 3 pacientů s adultní formou Bestovy viteliformní dystrofie makuly. V souladu s údaji autorů [7, 8, 13, 19, 20, 23, 24, 27, 34] byla tato diagnóza stanovena na základě typického klinického nálezu pacientů zařazených do daného souboru, dále na základě patologického elektrookulogramu s normálním elektroretinogramem [17, 26] na postižených očích a typického nálezu na OCT [39]. Z diferenciálně diagnostického hlediska byly na základě výsledků těchto vyšetření v souladu s publikovanými sděleními [13, 19] vyloučeny ostatní makulární dystrofie jako jsou Stargardtova choroba, viteliformní léze bez známek Bestovy choroby, pattern dystrofie, cone dystrofie, centrální areolární chorioretinální dystrofie, North California dystrofie, familiární dominantní drúzy a na X-chromosom vázaná retinoschíza.

Základními charakteristickými rysy, které se projevily u všech pacientů, byly pokles zrakové ostrosti, výskyt centrálních skotomů, tak jako je referováno jinými autory [10, 17, 24].

U všech pacientů bylo onemocnění zaznamenáno ve viteliformním stadiu. Velikost poklesu zrakové ostrosti úzce souvisela se závažností a délkou trvání nálezu na sítnici. U první pacientky ze souboru bylo možno v průběhu jednoletého sledovacího období dokumentovat progresi velikosti viteliformní léze spojenou s poklesem zrakové ostrosti. U dalších pacientů zůstal nález bez známek progrese.

U jednoho pacienta ze souboru byl nález jednostranný, u dalších dvou poté oboustranný. Viteliformní léze se nalézala vždy v makule v sub- či juxtafoveolární lokalizaci. I tyto nálezy jsou v souladu s dříve publikovanými údaji [12, 13].

U žádného z pacientů se autorům nepodařilo prokázat genetickou vazbu spojenou s přenosem onemocnění v příbuzenstvu.

ZÁVĚR

V našem sdělení jsme chtěli poukázat na nepříliš častou klinickou jednotku, která může přinášet řadu diagnostických a terapeutických rozpaků.

Bestova choroba je vzácnou hereditární makulární dystrofií s primárním postižením RPE. Mimo typických forem se vyskytují i atypické adultní formy, které nemusí vykazovat vazbu na dědičnost. Vždy se jednalo o onemocnění s pomalou progresí, které nelze terapeuticky ovlivnit. Většina pacientů si zachová do pozdního věku zrakovou ostrost na hodnotě 5/50 [30].

LITERATURA

1. **Bard, L. A., Cross, H. E.:** Genetic counselting of families with Best macular dystrophy. Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol., 79, 1975: OP865-OP873.
2. **Barricks, M. E.:** Viteliform lesions developing in normal fundi. Am. J. Ophthalmol., 83, 1977: 324-327.
3. **Benson, W. E., Kolker, A. E., Enoch, J. M. et al.:** Nest's vitelliform macular dystrophy. Am. J. Ophthalmol., 79, 1975: 59-66.
4. **Berkley, W. L., Bussey, F. R.:** Heredodegeneration of the macula. Am. J. Ophthalmol., 32, 1949: 361-365.
5. **Best, F.:** Über eine hereditäre Maculaaffektion. Beitrag zur Vererbungslehre, Z. Augenheilk., 13, 1905: 199-212.
6. **Birndorf, L. A., Dawson, W. W.:** A normal electrooculogram in a patient with a typical vitelliform macular lesion. Invest. Ophthalmol., 12, 1973: 830-833.
7. **Brecher, R., Bird, A. C.:** Adult vitelliform macular dystrophy. Eye, 4, 1990: 210-215.
8. **Burgess, D. B., Olk, R. J., Uniat, L. M.:** Macular disease resembling adult foveomacular vitelliform dystrophy in older adults. Ophthalmology, 94, 1987: 362-366.
9. **Cavender, J. C.:** Best's macular dystrophy, 1982. Arch. Ophthalmol., 100, 1982: 1067.
10. **Cross, H. E., Bard, L.:** Elecro-oculography in Best's macular dystrophy. Am. J. Ophthalmol., 77, 1974: 46-50.
11. **Curry, H. F. Jr., Moorman, L. T.:** Fluorescein photography of vitelliform macular degeneration. Arch. Ophthalmol., 79, 1968: 705-709.
12. **Deutman, A. F.:** The hereditary dystrophies of the posterior pole of the eye. Assen, Van Gorcum, 1971.
13. **Epstein, G. A., Rabb, M. F.:** Adult vitelliform macular degeneration: diagnosis and natural history. Br. J. Ophthalmol., 64, 1980: 733-740.
14. **Fishman, G. A., Bacca, W., Alexander, K. R. et al.:** Visual acuity in patients with Best vitelliform macular dystrophy. Ophthalmology, 100, 1993: 1665-1670.
15. **Fishman, G. A., Ward, L. M., Russia, M. M.:** Vitreous fluorophotometry in patients with Best's macular dystrophy. Retina, 10, 1990: 102-104.
16. **Forsman, K., Graff, C., Nordstrom, S. et al.:** The gene for Best's macular dystrophy is located at 11q13 in Swedish family. Clin. Genet., 42, 1992: 156-159.
17. **Francois, J., De Rouck, A., Fernandez-Sasso, D.:** L'electrooculographie dans les dégénérescences vitelliformes da la macula. Bull. Soc. Belge Ophthalmol., 143, 1966: 547-552.
18. **Frangieh, G. T., Green, W. R., Fine, S. L.:** A histopathologic study of Best's macular dystrophy. Arch. Ophthalmol., 100, 1982: 1115-1121.
19. **Gass, J. D. M.:** Stereoscopic atlas of macular diseases, diagnosis and treatment, ed. 2, St. Louis the CV Mosby Company, 1977.
20. **Gross, J. G., Freeman, W. R.:** Posttraumatic yellow maculopathy, Retina, 10, 1990: 37-41.
21. **Kraushar, M. F., Margolis, S., Morse, P. H., et al.:** Pseudohypopyon in Best's vitelliform macular dystrophy. Am. J. Ophthalmol., 94, 1982: 30-37.
22. **Krill, A. E., Morse, P. A., Potts, A. M., et al.:** Hereditary vitelliruptive macular degeneration. Am. J. Ophthalmol., 61, 1966: 1405-1415.
23. **Lisch, W., Wedle, E. G., Richard, G., et al.:** Multiple vitelliform retinal cysts, case report and review of the literature. Klin. Monatsbl. Augenheilkd., 194, 1989: 120-128.
24. **Löwenstein, A., Godel, V., Godel, L., et al.:** Variable phenotypic expressivity of Best's vitelliform dystrophy. Ophthalmic Paediatr. Genet, 14, 1993: 131-136.

25. **Maloney, W. F., Robertson, D. M., Duboff, S. M.:** Hereditary vitelliform macular degeneration; variable fundus findings within a single pedigree. Arch. Ophthalmol., 95, 1977: 979-983.
26. **Massof, R. W., Fleischman, J. A., Fine, S. L., et al.:** Flicker fusion thresholds in Best macular dystrophy. Arch. Ophthalmol., 95, 1977: 991-994.
27. **Miller, S. A.:** Fluorescence in Best's vitelliform dystrophy, lipofuscin, and fundus flavimaculatus. Br. J. Ophthalmol., 62, 1978: 256-260.
28. **Miller, S. A.:** Multifocal Best's vitelliform dystrophy. Arch. Ophthalmol., 95, 1977: 984-990.
29. **Miller, S. A., Bresnick, G. H., Chandra, S. R.:** Choroidal neovascular membrane in Best's vitelliform macular dystrophy. Am. J. Opthalmol., 82, 1976: 252-255.
30. **Mohler, C. W., Fine, S. L.:** Long-term evaluation of patients with Best's vitteliform dystrophy. Ophthalmology, 88, 1981: 688-692.
31. **Morse, P. H., MacLean, A. L.:** Fluorescein fundus studies in hereditary vitelliruptive macular degeneration. Am. J. Ophtalmol., 66, 1968: 485-494.
32. **Nichols, B. E., Bascom, L., Litt, M. et al.:** Refining the locus for Best vitelliform macular dystrophy and mutation analysis of the candidate gene ROM1. Am. J. Hum. Genet., 54, 1994: 95-103.
33. **Noble, K. G., Scher, B. M., Carr, R. E.:** Polymorphous presentations and vitelliform macular dystrophy: Subretinal neovascularisation and central choroidal atrophy. Br. J. Ophthalmol., 62, 1978: 561-570.
34. **Park, D. W., Arbour, N. C., Brown, D. M., et al.:** Best's disease: Molecular and clinical findings. Retina – vitreous – macula. W. B. Saunders Comp. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 199: 989-1005.
35. **Pece, A., Gaspari, G., Avanza, P. et al.:** Best's multiple vitelliform degeneration. Int. Ophthalmol., 16, 1992: 22-25.
36. **Stone, E. M., Nichols, B. E., Streb, L. M. et al.:** Genetic linkage of vitelliform macular degeneration (Best's disease) to chromosome 11q13. Nat. Genet., 1, 1992: 246-250.
37. **Weingeist, T. A., Kobrin, J. L., Waltke, R. C.:** Histopathology of Best's macular dystrophy. Arch. Ophthalmol., 100, 1982: 1108-1114.
38. **Yoder, F. E., Cros, H. E., Chase, G. A. et al.:** Linkage studies of Best's macular dystrophy. Clin. Genet., 34, 1988: 26-30-
39. **Záhlava, J., Karel, I., Lešťák, J.:** Bestova viteliformní dystrofie komplikovaná neovaskulární membránou a krvácením. Čs. Oftal., 3, 2002: 158-164.

MUDr. Petr Kolář
Oční klinika FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno

MEDICÍNA A FARMACIE V 11 JAZYCÍCH

Mezinárodně úspěšný slovník „Medicína a farmacie v 11 jazycích" přináší 20 000 odborných hesel a 200 000 překladů těchto hesel do 11 evropských jazyků – kromě češtiny také do němčiny, angličtiny, francouzštiny, italštiny, španělštiny, portugalštiny, holandštiny, švédštiny, polštiny a maďarštiny.
Slovník je zpracován přehledným maticovým systémem, kdy podle abecedy pohodlně hledáte termíny ve kterémkoli z uvedených jazyků a během okamžiku máte po ruce jazykově správné ekvivalenty ve všech dalších deseti jazycích. Díky tomuto systému můžete překládat nejen z a do rodného jazyka, ale odborné termíny můžete převést mezi španělštinou a maďarštinou nebo němčinou a francouzštinou.

Vydala Grada Publishing, a.s. v roce 2003, ISBN 80-247-0753-5, 13,5x21,5 cm, pevná vazba, 1136 stran, cena 790 Kč .

Publikaci si můžete objednat na adrese: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@iol.cz

Příloha 22

Radiální neurotomie optiku u kmenové okluze vena centralis retinae (kazuistiky)

Kolář P., Vlková E., Vysloužilová D.

Oční klinika Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty
Masarykovy univerzity, Brno, přednosta prof. MUDr. Eva Vlková, CSc.

Souhrn

Základním cílem této práce je představit kazuistické sdělení 2 pacientů s prognosticky velmi nepříznivou ischemickou formou centrální venózní okluze s velmi nízkou předoperační nejlepší korigovanou zrakovou ostrostí, u kterých byla provedena radiální neurotomie optiku cestou pars plana vitrektomie.
Radiální neurotomie optiku (RNO) byla provedena u 2 pacientů s prognosticky velmi nepříznivou ischemickou formou centrální venózní okluze (CVO) cestou pars plana vitrektomie (PPV) v nazálním okraji terče mezi nazálními retinálními cévními arkádami speciálně designovaným nožem (Spaide CRVO knife) ve shodě s metodikou popsanou Opremcakem. Operace byla doplněna peelingem epiretinálních membrán a vnitřní limitující membrány za pomoci barvení trypanovou modří (Membrane blue). Obě oči byly vzhledem k nekomplikovanému průběhu operace ponechány bez vnitřní tamponády.
RNO představuje chirurgickou léčebnou metodu vyhrazenou pro prognosticky nepříznivé ischemické CVO. Klíčovou roli v patofyziologii vlastní RNO hraje nejen zrušení kompartmentového syndromu, ale i urychlení tvorby kolaterálního chorioretinálního oběhu, což jsme pozorovali i u našich dvou pacientů.
Nejlepší korigovaná zraková ostrost (NKZO) se u prvního pacienta zlepšila z hodnoty 1/50 na hodnotu 3/50, u druhé pacientky z hodnoty 1/50 na hodnotu 5/30. U obou pacientů se výrazně resorbovaly retinální hemoragie a edém, vymizela dilatace venózního řečiště a resorboval se edém zrakového nervu. Oblast jizvy po neurotomii zůstala klidná bez známek retinální a choroidální neovaskularizace.
Autoři prezentují na vlastním kazuistickém sdělení efektivitu RNO u 2 pacientů postižených prognosticky nepříznivou ischemickou formou CVO. RNO se zdá být nadějnou metodou vhodnou k léčbě prognosticky nepříznivých ischemických forem CVO.

Klíčová slova: centrální venózní okluze, radiální neurotomie optiku

Summary

Radial Neurotomy of the Optic Nerve Disc in Central Retinal Vein Occlusion (Case Reports)

The basic aim of this paper is to introduce the case reports of two patients with the ischaemic form of the central vein occlusion with very low preoperative best-corrected visual acuity (BCVA) and with very unfavorable prognosis, treated by means of radial neurotomy of the optic nerve disc (RNO) during the pars plana vitrectomy (PPV).
Radial neurotomy of the optic nerve disc (RNO) was performed in two patients with ischaemic form of the central vein occlusion with very unfavorable

prognosis during the pars plana vitrectomy in the nasal part of the rim of the optic nerve disc between nasal retinal vascular arcades with specially designed knife (Spaide CRVO knife), as described by Opremcak. The surgery was supplemented with the peeling of the epiretinal membranes and inner limiting membrane, using the Membrane blue. Both eyes were due to uncomplicated course of the operations left without the inner tamponade.
RNO represents surgical treating method reserved for ischaemic CRVO with unfavorable prognosis. The key role in the pathological physiology of the RNO plays not only the breaking of the compartment system, but also acceleration of the collateral chorioretinal circulation, as we observed in both of our patients.
The BCVA in the first patient improved from 1/50 (0.02 or 3/150) to 3/50 (0.06 or 20/333), and in the second one from 1/50 (0.02 or 3/150) to 5/30 (0,17 or 20/120). In both patients, the retinal hemorrhages and the edema markedly resorbed, the dilatation of the venous vessels disappeared as well as the edema of the optic nerve disc. The region of the scar after the neurotomy remained quiet without signs of retinal or choroidal neovascularizations.
The authors demonstrate on their own case reports the efficacy of the RNO in two patients with prognosticaly unfavorable ischaemic form of the BRVO. The RNO seems to be a promising method suitable for the treatment in prognosticaly unfavorable ischaemic forms of the BRVO.

Key words: central retinal venous occlusion, radial neurotomy of the optic nerve disc.

Čes. a Slov. Oftal., 61, 2005, No. 5, p. 321–329

ÚVOD

Retinální venózní okluzivní choroba je poměrně častým retinálním cévním onemocněním. Incidence onemocnění velmi kolísá, zejména ve vztahu k úrovni terapie celkových chorob, které mají úzký patofyziologický vztah ke vzniku venózních okluzí. Podle publikovaných údajů je incidence okluzí 2/1000 osob starších 40 let. U osob starších 65 let je to pak 5/1000 [6]. Z těchto údajů zcela jasně vyplývá význam věkového faktoru, tak jako je tomu u většiny vaskulárních onemocnění [5]. Centrální venózní okluze (CVO) je považována za jednu z častých příčin ztráty zraku u pacientů starších 50 let [5, 31, 32].

Základními rizikovými faktory, které vedou ke vzniku retinální venózní okluze, jsou především systémová hypertenze, diabetes mellitus, glaukom otevřeného úhlu, přídavnými faktory mohou být zvýšená hodnota hematokritu a viskozity krevní plazmy. Méně častými celkovými onemocněními, která bývají asociována s venózní okluzí, jsou srpkovitá anémie, homocystinémie, stenóza arterie carotis, karotidokavernózní píštěl, užívání orálních kontraceptiv, kokainu a amfetaminu [9, 33].

Podle charakteristického klinického obrazu se dají rozlišit dva základní typy venózních okluzí: 1. větvová, kdy je postižena jedna, nebo dvě větve retinálního cévního systému a za 2. kmenová (centrální) retinální venózní okluze, kdy je postižen přímo kmen centrální žíly.

Pro klinický obraz větvové venózní okluze (VVO) je charakteristický výskyt proměnlivého množství retinálních hemoragií a vatovitých ložisek podél postižené cévní arkády s doprovodným edémem neuroretiny. Pokud jsou postiženy nazální cévní arkády, onemocnění probíhá asymptomaticky a může se projevit až vznikem

sekundárního neovaskulárního glaukomu nebo hemoftalmu. Pokud jsou postiženy temporální cévní arkády, dochází podle lokalizace k většímu či menšímu snížení zrakové ostrosti na základě retinálního edému a hemoragií. Velmi důležitým faktem je rozlišení, zda se jedná o ischemickou, nebo non-ischemickou formu VVO. Rozlišení mezi nimi je možné za použití fluorescenční angiografie (FA). Pokud je zóna non-perfuze na FA menší než 5 papilárních diamentrů (PD), hovoříme o non-ischemické formě VVO [3].

Pro klinický obraz CVO je charakteristický výskyt povrchových a hlubokých retinálních hemoragií a vatovitých exsudátů, které vybíhají od zrakového nervu směrem do periferie. Zrakový nerv je neostře ohraničen s větším či menším prosáknutím a dilatací cévních kmenů na jeho povrchu. Dále je přítomen makulární edém různého stupně. Správná diagnóza této základní klinické jednotky nečiní zpravidla problémy.

Co se týká stupně závažnosti nálezu můžeme CVO rozdělit na 3 podjednotky [9]: 1. hrozící či počínající CVO. Pro tuto jednotku jsou charakteristické tranzientní poruchy vizu. Na retině můžeme diferencovat dilataci venózního cévního systému s málo četnými izolovanými retinálními hemoragiemi a mírným prodloužením retinálního cirkulačního času na FA. 2. Středně rozvinutá CVO je charakteristická větší poruchou zrakové ostrosti vetšinou na hodnotě 5/50, do periferie se vyskytujícími retinálními hemoragiemi, prodloužením retinálního cirkulačního času na FA. V makule bývá přítomen cystoidní makulární edém a je vyjádřen i edém zrakového nervu. Nitrooční tlak (NT) postiženého oka je většinou nižší než oka druhého na podkladě váznoucí perfuze řasnatého tělesa. 3. Těžká venózní okluze je charakteristická těžkou poruchou zrakové ostrosti většinou pod hodnotu 5/50. Bývá přítomen relativní aferentní pupilární defekt, splývající povrchové a hluboké retinální hemoragie, neostré ohraničení s prominencí okrajů terče zrakového nervu a vysoký cystoidní makulární edém (CME). Charakteristickým znakem je taktéž ztráta retinální transparence na podkladě splývajících hemoragií a retinálního edému. Je významně prodloužen retinální cirkulační čas a jsou přítomny obrovské zóny non-perfuze. Pokud jsou tyto oblasti podle FA větší než 5 PD, hovoříme o ischemické formě CVO [31, 32]. Na FA jsou přítomny známky průsaku barviva kolem velkých retinálních cévních svazků charakteristickým pro CME. Makulární krajina bývá na OCT řezech až několikanásobně ztluštělá s charakteristickými cystoidními prostory.

Přirozený vývoj CVO je variabilní, ale víceméně koreluje se stupněm okluze, který je patrný iniciálně [23, 24, 34]. Někteří z pacientů s lehkou, či středně těžkou CVO vykazují kompletní regresi zrakových funkcí s normalizací retinálního nálezu v průběhu několika měsíců [32,36]. Pacienti se závažnějším nálezem vykazují velmi pozvolný ústup retinálního postižení a nekompletní regresi ztracených zrakových funkcí [32, 36]. Prognosticky příznivější je z tohoto hlediska výskyt kolaterálních cév v oblasti hlavy zrakového nervu, který progresi všech forem CVO zlepšuje [28]. K progresi z non-ischemické do ischemické formy CVO dochází asi v 10–20 % případů [15]. Po kompletním vstřebání retinálních hemoragií bývá v makulární krajině u pacientů s CVO přítomen většinou zbytkový edém s dilatací kapilárního řečiště. Tento může mít až charakter chronického CME s formací lamelárních, nebo kompletních makulárních děr, případně epiretinálních membrán. Často bývá přítomen různý stupeň atrofie pigmentového epitelu sítnice (PE), která je další příčinou nekompletní zrakové restituce při CVO. Pouze asi 20 % nemocných dospěje ke vzniku duhovkových neovaskularizací a sekundárního neovaskulárního glaukomu. Tato komplikace se většinou vyvine do 3–4 měsíců od vzniku ischemické CVO [20, 26].

Riziko vzniku CVO na druhém oku je asi 10–15 % a je více pravděpodobná

u pacientů s diabetes mellitus, polycytémií, či makroglobulinémií. Prognóza výsledné zrakové ostrosti u pacientů mladších 50 let je lepší, než u starších pacientů [5, 34, 36].

Základními patofyziologickými mechanismy, které vedou obecně ke vzniku venózní okluze, jsou: 1. zpomalení krevního toku cévou, 2. porucha systému hemokoagulace ve smyslu zvýšené pohotovosti ke koagulaci a za 3. porušení cévní stěny.

Přestože se předpokládal při vzniku větvové okluze patofyziologický podíl atreriální insuficience, nebyl pokusy na zvířatech potvrzen [22]. VVO je možno vyvolat pouhým zúžením venózního segmentu v místě arterio-venózního (A-V) křížení [12, 25]. Na základě histologických vyšetření byl shledán jako kauzální příčna VVO venózní trombus v místě A-V křížení. Primárním postižením u VVO je tedy na základě těchto údajů tvorba venózního trombu se sekundární kapilární a arteriální manifestací. Je prokázána taktéž role společné adventicie v místě A-V křížení, která může vést k redukci venózního lumen až o 33 % [8].

Patofyziologie CVO není zcela objasněna. Za základní patofyziologický moment vzniku CVO byl považován vznik venózního trombu v oblasti lamina cribrosa [10, 11]. Podle novějších poznatků je z patofyziologického hlediska nejrizikovější oblast těsně přiléhající k lamina cribrosa. Tato oblast má charakter síta, které neposkytuje pouze oporu strukturám zrakového nervu, ale limituje taktéž pohyby a posuny optiku s cílem chránit struktury nervových svazků.

Základním rizikovým faktorem je zde především společná adventicie obou cév. Taktéž předozadní posuny lamina cribrosa společně s aterosklerotickými změnami ve stěně cév vedou k zúžení žilního lumen a vzniku trombu na podkladě výrazně turbulentního toku postihujícího endoteliální cévní výstelku.

U mladších pacientů se zdá být venózní okluze způsobena primárním postižením optického nervu a změny na venózní systému jsou proto sekundární. Pro toto postižení se vžil termím papiloflebitida. CVO může být v těchto případech spojena i s celkovými stavy jako jsou gravidita, užívání perorálních kotraceptiv, neuritida optiku a ulcerující kolitida [7, 16, 17, 18].

Pokud se týká medikamentózní terapie CVO, neexistují přesvědčivé publikace o její efektivitě ve smyslu ovlivnění přirozeného průběhu onemocnění. Pilotní studie s antiagregancii nebo hemodilucí neprokázaly statisticky významný efekt [13, 35]. Intravenózní aplikace streptokinázy vede ke zvýšení rizika intravitreálního krvácení, a proto není již dnes používána [25]. Role systémové aplikace steroidů u mladých pacientů je taktéž kontroverzní, protože mnoho z nich mělo dobrý výsledek i bez jejich aplikace. Někteří autoři doporučují panretinální fotokoagulaci zejména pro oči s ischemickou formou CVO, zatímco jiní neshledali pozitivní efekt ve smyslu prevence retinálních neovaskularizací a sekundárního neovaskulárního glaukomu [4, 14, 19, 29]. Výsledky Central Vein Occlusion Study (CVOS) přesvědčivě neprokázaly efekt ve smyslu zamezení vzniku duhovkových a retinálních neovaskularizací při použití časné panretinální laserové fotokoagulace (PLK). Tato studie identifikovala 4 základní rizikové faktory spojené s vyšším výskytem neovaskularizací: 1. velké zóny non-perfuze na FA, 2. velké množství retinálních hemoragií, 3. krátkou dobu trvání CVO, 4. mužské pohlaví sledovaného subjektu [29, 30]. Studie CVOS neprokázala příznivý efekt PLK před vznikem duhovkových a retinálních neovaskularizací. U 20 % časně léčených pacientů došlo po PLK ke vzniku neovaskularizací na duhovce a v úhlu. Dále studie CVOS neprokázala statisticky významný efekt mřížkové fotokoagulace pro CME ve smyslu zachování, nebo zlepšení ZO [1, 3, 4, 29, 30].

V roce 2001 byla Opremcakem a kol. publikována práce o chirurgické terapii

prognosticky nepříznivých ischemických CVO metodou radiální neurotomie optiku (RNO) [21]. RNO byla zpočátku přijímána se skepsí a rozpaky, ale během doby si na odborném fóru vydobyla své místo a nyní si s postupem času a dalšími příznivými publikovanými výsledky [27, 28] získává stále více zastánců.

Nervová vlákna a tepenné zásobení prochází v oblasti výstupu z očního bulbu velmi úzkým sklerálním kanálem. Tato oblast má charakter síta s pevnou vazivovou kostrou a funguje podle Opremcaka jako kompartment, který zabraňuje druhotné dilataci centrální sítnicové žíly při rozvoji CVO. Radiální incize sklerálního okraje zrakový nerv uvolňuje ze sevření a dekomprese centrální sítnicové vény poté umožňuje snazší uvolnění trombu doprovázené rekanalizací centrální žíly a zlepšuje a urychluje tím krevní průtok [21, 27, 28].

Alterace krevního toku ve zrakovém nervu jsou velmi obtížně vyšetřitelné. Spaide a kol. uvádějí, že pouze samotná FA nepřináší dostatek informací o krevním zásobení hlavy zrakového nervu a doporučují její kombinaci s indocyaninovou angiografií [28].

Základním patofyziologickým mechanismem, kterým RNO funguje, není pouze uvolnění výše uvedeného kompartmentu, ale i umožnění vzniku chorioretinálního kolaterálního oběhu. Zde spatřují výše jmenovaní autoři kardinální význam RNO [28].

Předmětem sdělení je kazuistika 2 pacientů s prognosticky velmi nepříznivou ischemickou formou CVO s velmi nízkou předoperační ZO, u kterých byla provedena RNO cestou PPV.

MATERIÁL A METODIKA

Po komplexním oftalmologickém vyšetření zahrnujícím stanovení nejlepší korigované zrakové ostrosti (NKZO), měření NT, vyšetření fundu v arteficiální mydriáze, OCT vyšetření makuly a FA podstoupili oba nemocní RNO.

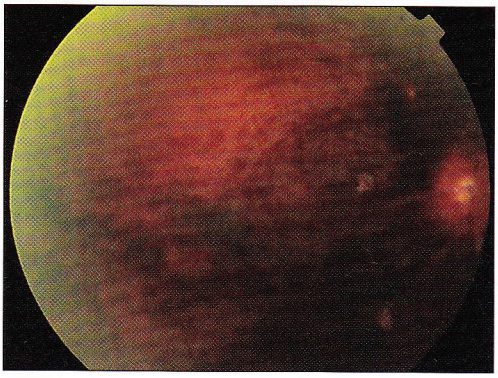
RNO byla provedena cestou PPV v nazálním okraji terče mezi nazálními retinálními cévními arkádami speciálně designovaným nožem (Spaide CRVO knife) ve shodě s metodikou popsanou Opremcakem [21]. Operace byla doplněna peelingem epiretinálních membrán (EM) a vnitřní limitující membrány (VLM) po předchozím obarvení trypanovou modří (Membrane blue). Obě oči byly vzhledem k nekomplikovanému průběhu operace ponechány bez vnitřní tamponády.

Na konci sledovacího období byl každý z pacientů vyšetřen stejnou metodikou jako při vstupním vyšetření (hodnota NKZO, NT, vyšetření fundu v arteficiální mydriáze, OCT makuly a FA).

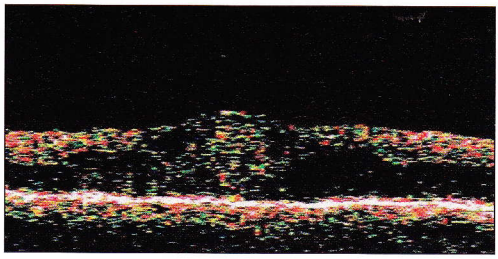
KAZUISTIKY

Prvním pacientem byl 61letý muž, léčený hypertonik, udávající asi 2 měsíce trvající výrazný pokles vizu pravého oka. Osobní anamnéza byla kromě esenciální arteriální hypertenze bezvýznamná. V oční anamnéze dominovala pouze lehká hypermetropie.

Při iniciálním vyšetření na našem pracovišti byla NKZO pravého oka 1/50, levého oka 5/5. NT byl v normě. Na fundu pravého oka byla patrna ischemická CVO s množstvím splývajících retinálních hemoragií, výrazným retinálním edémem a ojedinělými měkkými vatovitými exsudáty. Předoperační nález pravého oka dokumentuje obr. 1. OCT nález z makuly pravého oka dokumentoval vysoký edém neuroretiny (800 mm) s mnohočetnými intraretinálními hemoragiemi, jak je patrno z obr. 2. Na FA jsme prokazovali rozsáhlé zóny non-perfuze zasahující téměř celou plochu fundu s výrazným průsakem barviva v pozdních fázích. Na fundu levého oka byl fyziologický nález, vyjma hypertenzního postižení cév s výrazně pozitivními fenomény křížení a aterosklerotickými změnami ve stěně tepen.

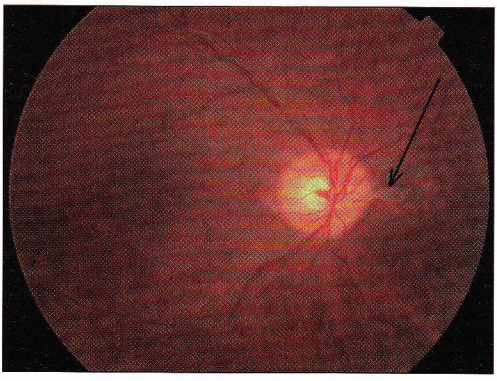


Obr. 1. Předoperační nález prvního pacienta

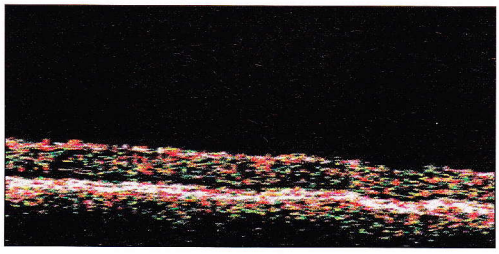


Obr. 2. Předoperační OCT nález prvního pacienta

Pacient podstoupil na pravém oku nekomplikovanou RNO za pomoci Spaideho nože při nazálním okraji disku doplněnou peelingem EM a VLM. Již v prvních pooperačních dnech byl pozorován ústup retinálního edému a hemoragií v makule. Za 6 měsíců byla hodnota NKZO pravého oka 3/50, retina byla pouze s ojedinělými hemoragiemi, makula bez edému a retina kompletně přiložena. Pooperační nález pravého oka 6 měsíců po RNO dokumentuje obr. 3. Pacient subjektivně velmi kladně hodnotil zlepšení NKZO na pravém oku. NT byl korigován pomocí lokálně aplikovaného B-blokátoru. Makulární tloušťka na OCT vyšetření byla 300 μm, jak je vidět na obr. 4. FA již neprokazovala zóny non-perfuze a nebyl již patrný průsak barviva stěnami retinálních cév.



Obr. 3. Pooperační nález prvního pacienta, šipka znázorňuje místo neurotomie



Obr. 4. Pooperační OCT nález prvního pacienta

Druhou pacientkou byla 65letá žena, léčená hypertonička, udávající pokles vizu levého oka v délce trvání asi 6 měsíců. V osobní anamnéze byl kromě esenciální arteriální hypertenze zjištěn i diabetes mellitus 2. typu kompenzovaný pouze dietou. Oční anamnéza byla kromě lehké hypermetropie bezvýznamná.

Při iniciálním vyšetření na našem pracovišti byla NKZO pravého oka 5/5, levého oka 1/50. NT byl v normě. Na fundu levého oka byla patrna ischemická CVO s množstvím splývajících retinálních hemoragií, výrazným retinálním edémem a ojedinělými měkkými vatovitými exsudáty. OCT nález z makuly levého oka dokumentoval vysoký edém neuroretiny (650 μm) s mnohočetnými intraretinálními hemoragiemi. Na FA jsme prokazovali rozsáhlé zóny non-perfuze zasahující oblast přesahující svou velikostí daleko 5 PD s výrazným průsakem barviva v pozdních fázích. Na fundu pravého oka byl fyziologický nález, vyjma hypertenzního postižení cév.

Pacientka podstoupila na levém oku nekomplikovanou RNO za pomoci Spaideho nože s peelingem EM a VLM. Již v průběhu prvního pooperačního týdne byl pozorován ústup retinálního edému a hemoragií v makule. Za 6 měsíců byla hodnota NKZO levého oka 5/30, na retině byly přítomny pouze málo četné retinální hemoragie a makula byla prosta edému. Pacientka subjektivně velmi kladně hodnotila zlepšení NKZO a vymizení rušivých skotomů v zorném poli. NT byl v normě. Makulární tloušťka na OCT vyšetření byla 240 μm. FA již neprokazovala zóny non-perfuze a byl patrný zbytkový průsak barviva stěnami retinálních cév.

DISKUSE

RNO představuje chirurgickou léčebnou metodu vyhrazenou pro prognosticky nepříznivé ischemické CVO. Velmi důležitou roli v patofyziologii RNO nehraje pouze uvolnění sklerálního tunelu, kterým prochází zrakový nerv (zrušení kompartmentového efektu) [21], ale podle posledních sdělení v odborné literatuře i vznik chorioretinálních kolaterál v oblasti neurotomie optiku [27, 28]. Tyto mají poté zásadní podíl na vytvoření kolaterálního venózního oběhu v oblasti výstupu zrakového nervu.

Ve shodě s těmito sděleními jsme u našich pacientů pozorovali již během prvních pooperačních dnů a týdnů výrazné zlepšení klinického nálezu doprovázené taktéž zlepšením NKZO. Tento průběh by se při ponechání stavu přirozené reparaci nedal předpokládat.

Klíčovou roli v patofyziologii vlastní RNO hraje jednak zrušení kompartmentového syndromu, ale i urychlení tvorby kolaterálního chorioretinálního oběhu, což jsme pozorovali i u našich dvou pacientů.

Základní pooperační komplikací, která je v odborné literatuře u RNO popisována, je tvorba subretinální choroidální neovaskulární membrány (SNM) v místě RNO popisovaná Bakrim a kol. [2]. Výskyt SNM byl popsán u jednoho pacienta 8 měsíců po RNO nazálně v oblasti neurotomie. Membrána byla úspěšně léčena argonovým laserem klasickou splývavou laserovou fotokoagulací [2]. Další popisovanou komplikací je časné či pozdní sklivcové krvácení. Má obvykle dobrou prognózu a spontánně se během několika týdnů resorbuje [2]. U našich dvou pacientů jsme žádnou z výše jmenovaných komplikací v průběhu jejich sledovacího období nezaznamenali.

ZÁVĚR

Autoři prezentují na vlastním kazuistickém sdělení efektivitu RNO u 2 svých pacientů postižených prognosticky nepříznivou ischemickou formou CVO.

RNO se zdá být nadějnou metodou vhodnou k léčbě prognosticky nepříznivých ischemických forem CVO, u kterých nelze očekávat při přirozeném průběhu uspokojivý klinický nález. RNO umožňuje pacientům stabilizaci či lehké zlepšení NKZO a brání vzniku pozdních komplikací jako jsou sekundární neovaskulární glaukom a neresorbující se sklivcové krvácení doprovázené v mnoha případech trakční amocí sítnice.

Podpořeno grantem IGA NK 7730-3

LITERATURA

1. **Akiba, J., Kado, M., Kakehashi, A., et al.:** Role of the vitreous in posterior segment neovascularization in central retinal vein occlusion. Ophthalmic Surg., 22, 1991: 498–502.
2. **Bakri, S. J., Beer, P. M.:** Choroidal neovascularization after radial optic neurotomy for central retinal vein occlusion. Retina, 24, 2004: 610–611.
3. Branch Vein Occlusion Study Group: Argon laser scatter photocoagulation for prevention of neovascularization and vitreous hemorrhage in branch vein occlusion. A randomized clinical trial. Arch. Ophthalmol., 104, 1986: 34–41.
4. **Clarkson, J. G.:** Photocoagulation for ischemic central retinal vein occlusion; Central Vein Occlusion Study. Arch. Ophthalmol., 109, 1991: 1218–1219.
5. **D'Amato, R. J., Miller, N. R., Fine, S. L. et al.:** The effect of age and innitial visual acuity on the systemic and visual prognosis of central retinal vein occlusion. Aust. NZ. J. Ophthalmol., 19, 1991: 119–122.
6. **David, R., Zangwill, L., Badarna, M. et al.:** Epidemiology of retinal vein occlusion and its association with glaucoma and increased intraocular pressure. Ophthalmologica, 197, 1988: 69–74
7. **Duker, J. S., Sergot, R. C., Savino, P. J., et al.:** Optic neuritis with secondary retinal venous stasis. Ophthalmology, 96, 1989: 475–480
8. **Frangieh, G. T., Green W. R., Barraquer-Sommers, E. et al.:** Histopathologic study of nine branch retinal vein occlusions. Arch. Ophthalmol., 100, 1982: 1132–1140.
9. **Gass, J. D. M.:** Stereoscopic atlas of macular diseases: diagnosis and treatment. 4th edition. St. Louis, CV Mosby, 1997, 1061 s.
10. **Green, W. R.:** Retina, s. 589. In Spencer W. H.: Ophthalmic Pathology, an Atlas and Texbook, 3rd edition, Philadelphia, Saunders, 1985.
11. **Green, W. R., Chan, C. C., Hutchins, G. M. et al.:** Central retinal vein occlusion: a prospective histopathological study of 29 eyes in 28 cases. Retina, 1, 1981: 27–55.
12. **Hamilton, A. M., Kohner, E. M., Rosen, D. et al.:** Experimental retinal branch vein occlusion in rhesus monkeys. I. Clinical appearances. Br. J. Ophthalmol., 63, 1979: 377–387.
13. **Hansen, L. L., Wiek, J., Wiederhold, M.:** A randomised prospective study of treatment of non-ischemic central retinal vein occlusion by isovolemic haemodilution. Br. J. Ophthalmol., 73, 1989: 895–899.
14. **Hayreh, S. S., Klugman, M. R., Podhajsky, P. et al.:** Argon laser panretinal photocoagulation in ischemic central retinal vein occlusion; a 10-year prospective study. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 228, 1990: 281–296.
15. **Hayreh, S. S., Zimmerman, M. B., Podhajsky, P.:** Incidence of various types of retinal vein occlusion and their recurence and demographic characteristics. Am. J. Ophthalmol., 117, 1994: 429–441.
16. **Hill, D. W., Griffiths, J. D.:** The prognosis in retinal vein trombosis. Trans. Ophthalmol. Soc. UK., 90, 1970: 309–322.

17. **Humayun, M., Kattah, J., Cupps, T. R. et al.:** Papilophlebitis and arteriolar occlusion in a pregnant woman. J. Clin. Neuro-Ophthalmol.,;12, 1992: 226–229.
18. **Keyser, B. J., Hass, A. N.:** Retinal vascular disease in ulcerative colitis. Am. J. Ophthalmol., 118, 1994: 395–396.
19. **Krill, A. E., Archer, D., Newell, F. W.:** Photocoagulation in complication secondary to branch vein occlusion. Arch. Ophthalmol., 85, 1971: 48–60.
20. **Magargal, L. E., Brown, G.C., Augsburger, J. J. et al.:** Neovascular glaucoma following central retinal vein ostruction. Ophthalmology, 88, 1981: 1095–1101.
21. **Opremcak, E. M., Bruce, R. A., Lomeo, M. D. et al.:** Radial optic neurotomy for central retinal vein occlusion: A retrospective pilot study of 11 consecutive cases. Retina, 21, 2001: 408–415.
22. **Patton, A., Rubenstein, K., Smith, V. H.:** Arterial inssuficiency in retinal venous occlusion. Trans. Ophthalmol. Soc. U. K., 84, 1964: 559–595.
23. **Priluck, I. A., Robertson, D. M., Hollenhorst, R. W.:** Long-term follow-up of occlusion of the centtral retinal vein in young adults. Am. J. Ophthalmol., 90, 1980: 190–202.
24. **Quinlan, P. M., Elman, M. J., Bhatt, A. K. et al.:** The natural course of central retina vein occlusion. Am. J. Ophthalmol., 110, 1990: 118–123.
25. **Rosen, D. A., Marshall, J., Kohner, E. M. et al.:** Experimental retinal branch vein occlusion in rhesus monkeys. II. Retinal blood flow studies. Br. J. Ophthalmol., 63, 1979: 388–392.
26. **Sinclair, S. H., Gragoudas, E. S.:** Prognosis for rubeosis iridis following central vein occlusion. Br. J. Ophthalmol., 63, 1979: 735–743.
27. **Singh, H. S., Opremcak, E. M., Bruce, R. A. et al:** Radial optic neurotomy for central vein occlusion. Retina, 22, 2002: 374–377.
28. **Spaide, R. F., Klancnik, Jr., J. M., Gross, N. E.:** Retinal choroidal collateral circulation after radial optic neurotomy correlated with the lessening of macular edema. Retina, 24, 2004: 356–359.
29. The Central Vein Occlusion Study Group: Baseline and early natural history report. The Central Retinal Vein Occlusion Study. Arch. Ophthalmol., 111, 1993: 1087–1095.
30. The Central Vein Occlusion Study Group: Evaluation of grid pattern photocoagulation for macular edema in central vein occlusion. The Central Retinal Vein Occlusion Study Group M Report. Ophthalmology, 102, 1995: 1425–1433.
31. The Central Vein Occlusion Study Group: A randomized clinical trial of early panretinal photocoagulation for ischemic central vein occlusion. The Central Retinal Vein Occlusion Study Group N report. Ophthalmology, 102, 1995: 1434–1444.
32. The Central Vein Occlusion Study Group: Natural history and clinical management of central vein occlusion. Arch. Ophthalmol., 115, 1997: 486–491.
33. The Eye Disease Case-Control Study Group: Risk factors for central retinal vein occlusion. Arch. Ophthalmol., 114, 1996: 545–554.
34. **Walters, R.F., Spalton, D. J.:** Central retinal vein occlusion in people aged 40 years or less: a review of 17 patients. Br. J. Ophthalmol., 74, 1990: 30–35.
35. **Wolf, S., Arend, O., Bertram, B. et al.:** Hemodilution therapy in central vein occlusion; one year results of a prospective randonized study. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 232 1994: 33–39.
36. **Zegarra, H., Gutman, F. A., Zakov, N., et al.:** The natural course of central retinal vein occlusion. Ophthalmology, 86, 1979: 1931–1939.

MUDr. Petr Kolář, Ph.D.
Oční klinika FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
tel. +4205 4719 3362, fax +4205 4719 2378
e-mail: pekolar@quick.cz

Příloha 23

Leberova miliární aneuryzmata – kazuistika

Kolář P., Vlková E.

Oční klinika FN, Brno, přednosta prof. MUDr. E. Vlková, CSc.

Souhrn

Onemocnění je zařazováno spolu s idiopatickými juxtapapilárními retinálními teleangiektaziemi a Coatsovou chorobou do skupiny retinálních teleangiektazií.

Choroba byla poprvé popsána Leberem v roce 1912. Někdy je onemocnění považováno za časnou formu Coatsovy choroby.

Onemocnění je většinou unilaterální, jen vzácně bilaterální. Aneuryzmata jsou lokalizována nejčastěji temporálně ve střední až vzdálené periferii retiny. Při vyšetření fluorescenční angiografií vykazují průsak. Onemocnění má velmi pomalou progresi a bývá diagnostikováno většinou v pokročilém věku.

Leberova miliární aneuryzmata velmi často obklopují tvrdé bělavé exsudáty. Mohou být komplikována cévními dilatacemi, neovaskularizacemi, trombózami, retrovitreálními hemoragiemi a makulárními změnami. Jejich velikost je větší než u diabetické retinopatie. Některá z aneuryzmat mohou být trombotizována. V některých případech bylo popisováno exsudativní odchlípení sítnice.

Léčba je založena na laserové fotokoagulaci. Laserové jizvy by neměly být příliš intenzivní, aby nedošlo ke zničení Bruchovy membrány a tvorbě neovaskularizací a proliferací. Kryoterapie bývá indikována tehdy, pokud jsou aneuryzmata příliš v periferii.

Naše kazuistika referuje případ pacienta s oboustrannou formou Leberových miliárních aneuryzmat. Toto onemocnění bylo na jednom z očí komplikováno vývojem neovaskularizací s opakovaným krvácením do sklivce.

Ve svém sdělení prezentujeme postupnou progresi onemocnění, včetně nálezu fluorescenční angiografie, a zvolený způsob terapie, který přispěl ke stabilizaci dobrých zrakových funkcí.

Klíčová slova: Leberova miliární aneuryzmata, Coatsova choroba, unilaterální výskyt, pomalá progrese, laserová fotokoagulace, kryoterapie, neovaskularizace, hemoftalmus, pars plana vitrektomie

Summary

Leber´s Miliary Aneurysms - Case-report

The disease is classified along with idiopathic iuxtapapillary retinal teleangiectasis and Coat´s disease in the group of retinal teleangiectases.

The disease was first described by Leber in 1912. Sometimes the disease is considered an early form of Coat´s disease.

The condition is usually unilateral, only rarely bilateral. Aneurysms are most frequently in a temporal position, in the medium to remote periphery of the retina. On examination by fluorescein angiography they reveal leakage. The disease has a very slow progression and is usually diagnosed in advanced age.

Leber´s miliary aneurysms are very frequently surrounded by hard whitish exsudates. They can be complicated by vascular dilatations, neovascularizations, thromboses, retrovitreal haemorrhages and macular changes. Their size is greater

Předneseno na III. Vejdovského olomouckém vědeckém dnu v Olomouci dne 23. 3. 2002

than in diabetic retinopathy. Some aneurysms may be thrombotized. In some instances exsudative detachment of the retina was described.

Treatment is based on laser photocoagulation. Laser scars should not be very intense to avoid damage of Bruch´s membrane and development of neovascularizations and proliferations. Cryotherapy is indicated when the aneurysms are in the periphery.

The submitted case-report describes a patient with the bilateral form of Leber´s miliary aneurysms. On one eye the disease was complicated by the development of neovascularizations with repeated haemorrhage into the vitreous body.

In the submitted paper the authors describe the gradual progression of the disease incl. the finding of fluorescein angiography and the selected therapeutic method which contributed to stabilization of satisfactory visual functions.

Key words: Leber´s miliary aneurysms, Coat´s disease, unilateral incidence, small progression, laser photocoagulation, cryotherapy, neovascularization, haemophthalmus, pars plana vitrectomy

Čes. a slov. Oftal., 59, 2003, No. 2, p. 127 - 133 **O.**

ÚVOD

Onemocnění je zařazováno spolu s idiopatickými juxtapapilárními retinálními teleangiektaziemi a Coatsovou chorobou do skupiny retinálních teleangiektazií [13].

V roce 1908 Coats popisuje poprvé sítnicové onemocnění s masivní exsudací [5]. V roce 1912 Coats onemocnění charakterizuje jako retinitis exsudativa externa [6]. Podle dalších autorů onemocnění postihuje převážně jedince mladého věku a častěji chlapce, vyskytuje se většinou unilaterálně a často bez familiárních, či hereditárních vztahů [4, 16]. Tentýž typ Coatsovy choroby, který se vyskytuje u mladých pacientů, byl popsán i u pacientů pokročilého věku [8].

V roce 1912 Leber vyčleňuje z Coatsovy choroby samostatnou klinickou jednotku, kterou nazývá retinální miliární aneuryzmata [14]. Onemocnění charakterizuje jako většinou jednostranné, pouze vzácně oboustranné [3], nebo familiární či hereditární [19]. Aneuryzmata jsou nejčastěji lokalizována v jednom retinálním okrsku, převážně temporálně ve střední až vzdálené periferii [18]. Mají kulovitý tvar, jsou červené barvy. Obvykle jsou v průměru 4krát širší než je cévní diametr [3] a jsou obklopena edematózní sítnicí, která vzniká jako následek prosakování aneuryzmat.

Od Coatsovy choroby se onemocnění odlišuje výrazně nižší exsudací a co do možnosti ztráty zrakových funkcí daleko benignějším průběhem, dále tím, že je detekováno pro svůj dlouhodobý asymptomatický průběh v pozdějším věku [20]. V literatuře jsou ale popisovány případy, kdy po dlouhých letech trvání typických symptomů Leberových miliárních aneuryzmat dojde k jejich transformaci do klasické Coatsovy choroby [12, 17, 22].

Onemocnění je někdy lokalizováno do extrémní retinální periferie a je diagnostikovatelné pouze při použití sklerální imprese. Typická aneuryzmata jsou poté nalézána v blízkosti pars plana a jsou obkružována žlutošedými depozity. Tento nález může imitovat periferní uveitidu [21]. Aneuryzmata mohou být doprovázena vaskulární dilatací a trombotizací, retrovitreálními hemoragiemi a makulárními změnami, zejména hvězdicovou figurou tvrdých exsudátů [2]. Po provedení úspěšného terapeutického zásahu tato figura tvrdých exsudátů z makuly většinou vymizí. Někdy se v oblasti makuly nachází dilatace kapilární sítě a arteriovenózní shunty [7].

Každé aneuryzma se objevuje obecně jako výchlipka na stěně arterioly nebo venuly. Co do velikosti jsou aneuryzmata větší než ta, která se vyskytují u diabetické

retinopatie [17]. Pokud se aneuryzma zhojí spontánně, často zanechá pigmentovanou jizvu [1, 17]. Výsledkem vaskulární obstrukce bývá v některých případech tvorba neovaskularizací. Tyto progredují pomalu a jsou nejlépe prokazatelné fluorescenční angiografií [2]. Na angiogramu jsou patrna aneuryzmata prosakující v pozdní fázi. Některá z aneuryzmat jsou trombotizována a v arteriovenózní fázi angiogramu je v jejich blízkosti patrna jemná síť retinálních a preretinálních neovaskularizací, které vykazují průsak barviva v pozdní fázi angiogramu [1, 2]. Tato jemná síť neovaskularizací většinou ještě nebývá viditelná při biomikroskopii.

Někteří z autorů předpokládají, že onemocnění má kongenitální původ [15]. Podle jiných autorů lze onemocnění pokládat za fakomatózu [18].Onemocnění většinou progreduje skrytě po mnoho let [15].

K potvrzení diagnózy Leberových miliárních aneuryzmat je nutno vyloučit jiná retinální onemocnění s kapilárními abnormalitami. Dále musí být vyloučeny příznaky systémového onemocnění a změny krevních proteinů, či lipidů [24]. Přesto někteří autoři referují o souvislosti onemocnění se systémovými chorobami [10, 17].

Léčba spočívá ve fotokoagulaci aneuryzmat, která způsobují exsudaci [7, 15, 24]. Laserová ložiska by neměla být příliš intenzívní, aby nedošlo k destrukci Bruchovy membrány, což vede ke stimulaci subretinální choroidální fibrotizace [9]. Kryoterapie je indikována tehdy, pokud jsou aneuryzmata lokalizována ve vzdálené periferii sítnice a nejsou proto dosažitelná k ošetření laserem. Byly referovány i případy spontánního zhojení [17, 18] a v některých případech i výskyt non-rhegmatogenního odchlípení sítnice [15, 17].

KAZUISTIKA

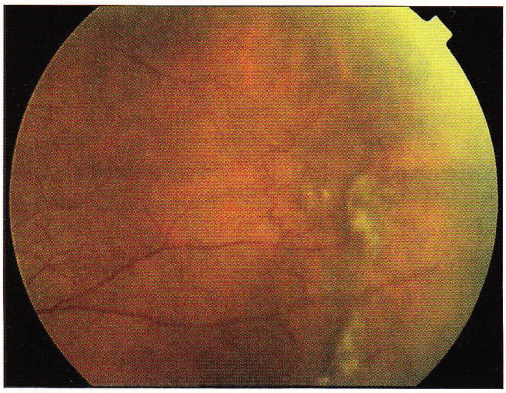
Naše kazuistika pojednává o několikaletém sledování pacienta s nálezem Leberových miliárních aneuryzmat na obou očích.

58letý muž byl odeslán v roce 1994 do naší ambulance pro akutní ataku krvácení do sklivce na levém oku. Pokles vidění pacient pozoroval asi 2 týdny. V anamnéze byly zjištěny následující údaje: rodinná anamnéza byla bezvýznamná, osobní anamnéza zahrnovala pouze několik let léčenou hypertenzi. V oční anamnéze byla zjištěna pouze lehká hypermetropie a presbyopie.

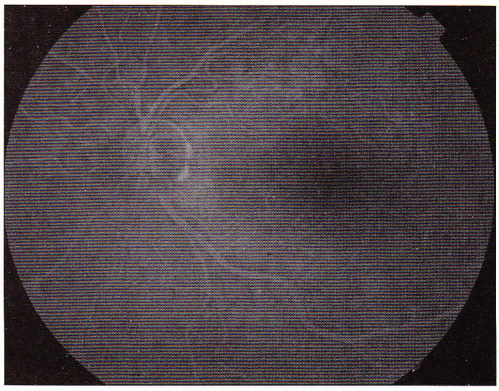
Při prvním vyšetření byly zrakové funkce následující. Vizus pravého oka byl s korekcí 5/5. Vizus levého oka byl 5/50. Fundus pravého oka nevykazoval pozoruhodnosti, na fundu levého oka nešlo pro hemoftalmus diferencovat. Nitrooční tenze pravého oka byla 19 mmHg, levého 18 mmHg. Ultrazvukové vyšetření levého oka prokazovalo sklivcové krvácení. Retina byla přiložena a nebyly patrny sklivcové trakce.

Po 1 měsíci dochází k resorpci hemoftalmu a zlepšení vizu levého oka s korekcí na 5/5. Na fundu levého oka je nad horní temporální arkádou patrno několik retinálních hemoragií. Stav je uzavřen jako parciální venózní okluze. Je provedena fluorescenční angiografie s cílem objasnit etiologii hemoftalmu na levém oku. Na zadním pólu a v dostupné periferii pravého okraje nález na angiogramu bez známek průsaku. Na angiogramu levého oka se zobrazuje okrsek ischemické retiny korespondující s místem parciální okluze. S odstupem 1 měsíce je v daném místě provedena fokální laserová koagulace. Nitrooční tenze obou očí 18 mmHg. Perimetrické vyšetření obou očí bylo bez prokazatelných defektů v zorném poli.

Do konce roku 2000 je pacient sledován v rámci dispenzarizace. Nález na obou očích je zcela klidný a bez progrese.

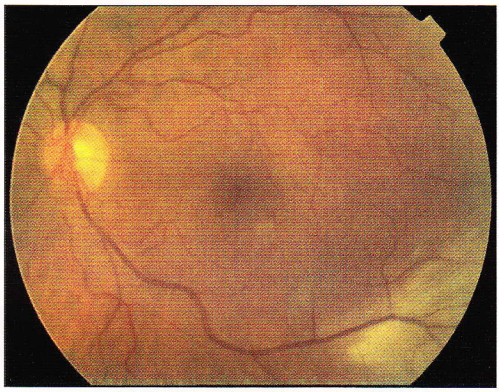


Obr. 1. Leberova aneuryzmata v temporální periferii levého oka



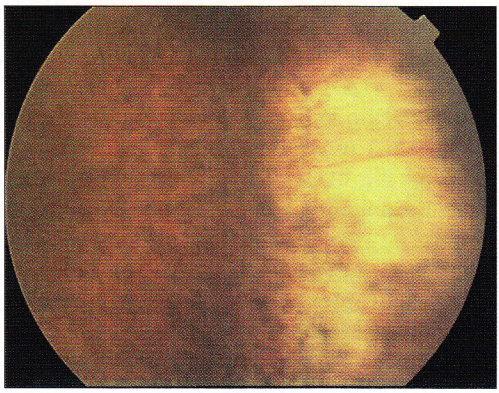
Obr. 2. Fluorescenční angiogram levého oka – zadní pól

Obr. 3. Fluorescenční angiogram levého oka – temporální periferie



Obr. 4. Zadní pól levého oka – pooperační nález

Počátkem roku 2001 dochází k další atace v tomto případě ale pouze parciálního hemoftalmu na levém oku. Zraková ostrost obou očí s korekcí je 5/5. Nitrooční tenze je fyziologická na obou očích. Na fundu levého oka lze temporálně ve vzdálené periferii pozorovat aneuryzmata a síť AV zkratů, která je doprovázena počínající fibrózní proliferací (obr. 1). V dolních kvadrantech jsou patrna ve sklivci krevní koagula. Na fundu pravého oka ve vzdálené periferii temporálně se objevuje nález identický levému oku, ale menší co do stupně vyjádření. Je indikována další fluorescenční angiografie s cílem zobrazit cirkulaci právě temporálně ve vzdálené periferii.



Obr. 5. Temporální periferie levého oka – pooperační nález

Angiogram na zadním pólu nevykazuje patologický průsak (obr. 2). V temporální periferii jsou v časné fázi patrny AV zkraty, v pozdní fázi je poté zřejmý průsak barviva ze sítě drobných neovaskularizací (obr. 3). Nález je opět daleko více vyjádřen na angiogramu levého oka.

Na základě klinického nálezu a nálezu fluorescenční angiografie byla stanovena diferenciálně diagnostická rozvaha obsahující následující klinické jednotky: Leberova miliární aneuryzmata, Coatsovu chorobu, retinální vaskulitidu, diabetickou retinopatii, retinální angiomatózu. Na základě klinického nálezu, nálezu na angiogramu, věku pacienta a výsledku interního vyšetření jsme se přiklonili k diagnóze Leberových miliárních aneuryzmat.

Pacient byl objednán v březnu 2001 k provedení laserové fotokoagulace v temporální periferii na levém oku. Ještě před jejím provedením ale došlo k nové atace hutného hemoftalmu, který nejevil ochotu k resorpci. Pacient byl proto objednán k provedení pars plana vitrektomie na levém oku. Vizus pravého oka zůstává 5/5. Vizus levého oka poklesl na správnou světelnou projekci. Nitrooční tenze byla na obou očích v normě.

V dubnu 2001 byla provedena pars plana vitrektomie (PPV) s endolaserem a bez použití vnitřní tamponády. Peroperačně i pooperačně byl stav zcela bez komplikací. Retina v temporální periferii byla již bez fibrózní epiretinální membrány a aneuryzmata nebyla patrna. Vizus levého oka se ustálil na hodnotě 5/7,5. Nitrooční tenze obou očí byla 18 mmHg a perimetr nevykazoval na obou očích výpadky v zorném poli. Pacient zůstal i nadále v dispenzarizaci.

V únoru 2002 při poslední kontrole byl nález na retině levého oka stabilizován (obr. 4, 5). Byl zjištěn lehký pokles vizu levého oka na hodnotu 5/15 vlivem progrese komplikované katarakty. Nález na pravém oku je zcela klidný, bez progrese. Do budoucna je zvažována operace komplikované katarakty, která zatím nečiní pacientovi výraznější obtíže.

DISKUSE

Na základě diferenciálně diagnostické rozvahy a výsledků klinického vyšetření a fluorescenční angiografie byla stanovena diagnóza Leberových miliárních aneuryzmat. Většinou se onemocnění vyskytuje unilaterálně a u mladých mužů. U našeho pacienta je nález oboustranný, což je podle dostupné literatury poměrně vzácné [3], a projevil se v pokročilém věku. I tato eventualita je v dostupné literatuře autory zmiňována [11].

Proti stanovení diagnózy Coatsovy choroby svědčí pokročilý věk pacienta, poměrně velmi pozvolný průběh onemocnění a charakter klinického nálezu na očním pozadí. Proti diagnóze retinální vaskulitidy svědčí průběh a klinický obraz onemocnění, včetně negativního výsledku imunologického vyšetření (autoprotilátky, CIK, komplement), nízké hodnoty sedimentace (FW), negativní výsledek interního vyšetření. Pro diagnózu retinální angiomatózy nesvědčí klinický obraz onemocnění, věk a absence celkových projevů angiomatózy. Taktéž diagnóza diabetické retinopatie byla na základě výsledků interního vyšetření vyloučena.

Pro ataku neresorbujícího se hemoftalmu, která prakticky znemožnila provedení laserové fotokoagulace aneuryzmat bylo přistoupeno k provedení pars plana vitrektomie na levém oku. Samotný zákrok proběhl bez komplikací, organizovaná epiretinální membrána v temporální periferii byla bez komplikací odstraněna a zóna aneuryzmat byla ošetřena laserovou fotokoagulací. V pooperačním průběhu došlo k vymizení ane-

uryzmat a vytvoření zóny klidných laserových jizev. Vizus pacienta se ustálil 1 měsíc po zákroku na hodnotě 5/7,5, což odpovídalo zhoršení o 1 řádek Snellenových optotypů ve srovnání s nálezem před poslední atakou hemoftalmu.

Při posledním vyšetření u února 2002 byla zjištěna komplikovaná nukleární katarakta. Zraková ostrost se snížila na hodnotu 5/15. Literární údaje uvádějí komplikovanou kataraktu jako jednu s nejčastějších komplikací PPV. Do 13 měsíců po provedení PPV je komplikovanou kataraktou postiženo 16–83 % pacientů [23].

ZÁVĚR

V naší kazuistice jsme chtěli poukázat na nepříliš častou klinickou jednotku, která může přinášet řadu diagnostických a terapeutických rozpaků. Pokud je onemocnění provázeno progresí, je indikováno provedení přímé laserové fotokoagulace aneuryzmat. Pokud ale, jako v našem případě, pro krvácivé komplikace v prostoru sklivce její provedení není možné, je indikována PPV s peroperačním ošetřením oblasti aneuryzmat laserem.

Závěrem lze říci, že včas indikovaný a provedený terapeutický zákrok vede ke stabilizaci tohoto onemocnění se zachováním dobrých zrakových funkcí.

LITERATURA

1. **Alezzandrini, A. A.:** L'angiomatose miliaire retinienne de Leber et la retinite de Coats, Ann Odulost, 1969, vol. 202, 33–37.
2. **Andre, J. M., Valres, G., Perdriel, G.:** Retinite miliaire de Leber. Aspect fluorographique, Bull. Soc. Ophthalmol. Fr, 1971, vol. 71, 25–28.
3. **Brunelle, J. C., Duval, R.:** Les angiopathies de Leber et de Coats. Reflexions á propos d'un ca d'angiomatose miliaire, Bull. Soc. Ophthalmol. Fr., 1971, vol. 71, 834–840.
4. **Burch, J. V., Leveille, A. S., Morse, P. H.:** Ichthyosis hystrix (epidermal naevus syndrome) and Coats'disease, Am. J. Ophthalmol., 1980, vol. 89, 25–30.
5. **Coats G.:** Forms of retinal disease with massive exsudation, R. London Ophthalmic Hospital Rep., 1908, vol. 17, 440–525.
6. **Coats G.:** Über retinitis exudativa (Retinitis haemorrhagica externa), Arch. Ophthalmol., 1912, vol. 81, 275–327.
7. **Dufour, D., François, P., Corbel, M., et al.:** La microangiopathie de Leber, Bull. Soc. Ophthalmol. Fr., 1972, vol. 72, 277–279.
8. **Duke-Elder, S.:** System of Ophthalmology, St. Louis, Mosby 1967, vol. 10, 172.
9. **Galinos, S. O., McMeel, J. W., Trempe, C. L., et al.:** Chorioretinal anastomoses after laser photocoagulation, Am. J. Ophhtalmol., 1976, vol. 82, 241–245.
10. **Gartner, J., Draf, W.:** Leber's miliary aneurysm associated with teleangiectasia of the nasal mucosa, Am. J. Ophthalmol., 1975, vol. 79, 56–58.
11. **Hayasaka, S., Katsube, T., Yamamoto, Y., et al.:** Leber's miliary aneurysm in a 63-years-old woman. Concurrence of regresion and active lesion, Ophthalmologica, 1988, vol. 196, 188–191.
12. **Hiller, H.:** Morbus Coats-Miliaraneurysmenretinitis Leber, Klein. Monatsbl. Augenheilkunde, 1971, vol. 158, 225–234.
13. **Kanski, J. J.:** Lehrbuch der klinischen Ophtalmologie, Thieme Verlag, Stutgart, 1996, 361–362.
14. **Leber T.:** Über eine durch vorkommen multipler Miliaraneuryzmen charakteristische Form von retinaler Degeneration, Gräfes Arch. Optalmol., 1912, vol. 81, 1–14.
15. **McDonald, P. R., Sarin, L. K.:** Treatment of intraretinal angiomas, Am. J. Ophthalmol., 1971, vol. 71, 298–302.
16. **McGettrick, P. M., Loeffler, K. U.:** Bilateral Coats'disease in an infant (a clinical, angiografic, light and electron microscopic study), Eye, 1987, vol. 1, 136–145.

17. **Mondon, H., Lecoq, P., Hamard, H., et al.:** Á propos de quelques cas de maladie de Leber ou angiomatose retinienne miliaire, Bull. Soc. Ophthalmol. Fr., 1971, vol. 71, 22–25.
18. **Offret, H., Nou, B., Morax, B., et al.:** L'angiomatose retinienne miliairede Leber. Á propos d'un cas gueri spontanement, Bull. Soc. Ophthalmol. Fr., 1974, vol. 74, 1 169–1174.
19. **Renard, G., Bernard, J. A., Pouliquen, Y. M. et al.:** Forme familiale de l'angiomatose retinienne milliaire de Leber, Bull. Soc. Ophthalmol. Fr., 1974, vol. 74, 1163–1167.
20. **Schepens, C. L., Harnett, M. E., Hirose, T.:** Schepens'retinal detachment and allied diseases, Butterworth-Heineman, Boston, 2000, 627–634.
21. **Slezak, H.:** Zur Biomikroskopie der Leberschen Miliaraneurysmenretinopathie, Bereitschaft der Deutschen Ophtalmologischen Geselschaft, 1969, vol. 69, 516–522.
22. **Theodossiadis, G. P., Bairaktaris-Kouris, E., Kouris, T.:** Evolution of Leber miliary aneuryzms, A clinicopathological study, J. Pediatr. Ophthalmol. Strab., 1979, vol. 16, 364–370.
23. **Thompson, J. T., Glaser, B. M., Sjaarda, R. N., et al.:** Progression of nuclear sclerosis and long-term visual results of vitrectomy with transforming growth factor beta-2 for macular holes, Am. J. Ophthalmol., 1995, vol. 119, 48–54.
24. **Wegener, J. K.:** Leber's retinal degeneration with miliary aneurysm, Acta Ophthalmol., 1967, vol. 49, 108–114.

MUDr. Petr Kolář
Oční klinika FN Brno-Bohunice
Jihlavská 20
625 00 Brno

KATALOG KONGRESŮ, KONFERENCÍ, SYMPOZIÍ A PŘEDNÁŠEK

PRO ROK 2003

připravuje Česká lékařská společnost J. Ev. Purkyně

Začátkem nového roku vydává ČLS JEP tradičně Katalog kongresů, konferencí, sympozií a přednášek. Akce jsou opět rozděleny podle oborů a časové posloupnosti na akce domácí a s mezinárodní účastí, a to tak, jak je nahlásily odborné společnosti a spolky. Nadále zůstávají zařazeny kapitoly vybraných kongresů, konferencí a veletrhů v zahraničí, seznam lékařských knihoven a informačních středisek v ČR a vybraná nakladatelství medicínské literatury.

Katalog si můžete objednat nebo koupit v Nakladatelském a tiskovém středisku ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 2242 66 226, e-mail: nts@iol.cz. Cena: 100,-Kč /bez poštovného/.

Příloha 24

Makulopatie při jamce terče zrakového nervu – kazuistika

Kolář P.

Oční klinika Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, přednosta prof. MUDr. Eva Vlková, CSc.

Souhrn

Jamka terče zrakového nervu je kongenitální anomálií terče zrakového nervu. Vyskytuje se s četností 1/11 000 pacientů. Optický disk je na postižené straně v 85 % větší, než disk zdravého oka. Jamka terče bývá velmi často asociována s výskytem cilioretinální arterie.

Makulopatie při kongenitální jamce terče zrakového nervu je popisována již na počátku 30. let minulého století Calhounem. Průměrný věk nemocných se pohybuje kolem 30 let (20–40 let). Pomocným vyšetřením, které pomůže v objasnění anatomických poměrů makulární oblasti, je optická koherentní tomografie. Zde prokazujeme různě hluboký defekt terče na podkladě formované jamky a makulopatii charakteru retinoschízy navazující na temporální okraj terče.

Předmětem kazuistického sdělení je 29letý muž s obtěžujícím relativním centrálním skotomem a 1 měsíc trvajícím poklesem vizu na pravém oku, který podstoupil klasickou 3portovou pars plana vitrektomii s tamponádou expanzivním plynem.

Na základě diferenciálně diagnostické rozvahy byla u našeho pacienta diagnostikována temporálně lokalizovaná jamka terče doprovázená makulopatií charakteru retinoschízy. Operační řešení cestou 3portové pars plana vitrektomie s peelingem vnitřní limitující membrány doplněné tamponádou expanzivním plynem vedlo u našeho pacienta k obnovení fyziologické makulární struktury doprovázené zlepšením nejlepší korigované zrakové ostrosti. Peroperační a pooperační komplikace nebyly pozorovány.

Diferenciálně diagnosticky je nutné vyloučit ostatní možné příčiny makulopatie postihující mladé pacienty, dále je nutno vyloučit další kongenitální anomálie disku, které mohou být s makulopatií spojeny.

Makulopatie doprovázející jamku terče zrakového nervu představuje poměrně vzácnou nozologickou jednotku. Podle publikovaných odborných sdělení vede přirozený průběh tohoto onemocnění k velmi nízké výsledné nejlepší korigované zrakové ostrosti často pod hodnotou 5/50. Terapeutickou možností pro pacienty postižené tímto onemocněním je operační řešení cestou pars plana vitrektomie s peelingem vnitřní limitující membrány doplněné tamponádou expanzivním plynem jak bylo uvedeno v našem kazuistickém sdělení.

Klíčová slova: jamka terče zrakového nervu, makulopatie při jamce terče zrakového nervu

Summary

Maculopathy in Case of the Pit of the Disc

The pit of the disc is a congenital anomaly of the optic nerve disc. The prevalence is 1/11 000 patients. On the affected side, the optic disc is in 85 % of

cases larger than the disc of the other healthy eye. The pit of the disc is very often associated with the presence of the cilioretinal artery.
Maculopathy in congenital pit of the optic nerve disc was described in the early 30's of the last century by Calhoun. The average age of the patients is roughly 30 years of age (20-40 years). The complementary examination method, which may help to clarify anatomical conditions of the macular region, is the optical coherence tomography. The defect of the optic disc of different depth caused by the pit and maculopathy caused by retinoschisis communicating with the temporal rim of the disc are found.
This case report refers to a 29 years old man with disturbing relative central scotoma and decreased vision for one month in his right eye, who underwent classical three-ports pars plana vitrectomy with expansive gas tamponade.
On the basis of differential diagnosis discretion, the temporally localized pit of the disc accompanied by maculopathy due to retonoschisis was detemined. The surgical treatment by means of three-ports pars plana vitrectomy and peeling of the inner limiting membrane with expansive gas tamponade restored in our patient the physiological macular structure followed by improvement of the best-corrected visual acuity. No complications were noticed during the surgery or after it as well.
Among the differential diagnoses, it is necessary to eliminate other possible causes of maculopathy in young patients as well as other congenital anomalies of the optic disc, which may be related to the maculopathy.
Maculopathy following the pit of the optic nerve disc represents relatively rare diagnostic entity. According to the literature, the natural course of this disease results in very low final best-corrected visual acuity, often worse than 5/50 (0,1 or 20/200). The therapeutic possibility for patients with this disease is operative approach by means of pars plana vitrectomy with peeling of the inner limiting membrane and accompanied by expansive gas tamponade as already mentioned in our case report.

Key words: pit of the optic nerve disc, maculopathy accompanying the pit of the optic nerve disc

Čes. a Slov. Oftal., 61, 2005, No. 5, p. 330–336

ÚVOD

Jamka terče zrakového nervu je kongenitální anomálií, která se vyskytuje s četností 1/11 000 pacientů [13]. Má charakteristický vzhled, její barva je většinou žluto-bílá, šedá, či černá. Defekt optického disku má většinou průměr od 0,25 do 0,40 papilárního diametru (PD). Jamka bývá většinou lokalizována při okraji zrakového nervu, a to ve více než polovině případů temporálně, v 1/3 případů bývá jamka lokalizována centrálně v místě exkavace zrakového nervu. V těchto případech nebývá jamka asociována s výskytem makulopatie [16].

Pro tuto abnormalitu jsou typické změny pigmentového epitelu při okraji disku v místech sousedících s jamkou. Vyskytují se až v 95 % případů [5]. Onemocnění se většinou nachází unilaterálně. U 10–15 % případů se může objevit bilaterálně. V těchto případech se často jedná o autosomálně dominantně dědičnou abnormalitu [9, 17, 19]. Optický disk je na postižené straně v 85 % větší, než disk zdravého oka. U 5 % postižených očí se vyskytuje více než jedna jamka. Často bývá asociována s výskytem cilioretinální arterie. Povrch jamky může být pokryt membránou šedé barvy v jejímž povrchu se může nacházet několik drobných fenestrací. Většina autorů se shoduje na faktu nepřítomnosti ablace zadní sklivcové membrány u těchto pacientů

[2, 9, 10]. V některých případech bývají pozorovány kondenzované sklivcové pruhy vycházející z oblasti jamky ke sklivcové bázi [16].

Makulopatie při kongenitální jamce terče zrakového nervu je popisována již v roce 1930 Calhounem [7]. Vyskytuje se u více než 40% očí, u nichž je disk postižen jamkou terče zrakového nervu [4, 5, 6].

Makulopatie se typicky vyskytuje u očí s jamkou lokalizovanou temporálně a má podle OCT obrazu většinou charakter retinoschízy. Nicméně byly popsány případy, při nichž byla jamka terče zrakového nervu asociována s amocí [14]. V některých případech bývají pozorovány subretinální precipitáty, které lézi na první dojem mohou dávat charakter solidnosti, což může vyústit ve stanovení prvotně mylné diagnózy [8].

Na rozdíl od pacientů s klasickou periferní retinoschízou nedochází u pacientů s makulopatií při jamce terče ke kompletní ztrátě funkce tolik typické pro periferní retinoschízu. Tento fakt nemá anatomicky a patofyziologicky uspokojivé vysvětlení [9]. Pokud trvá makulopatie delší dobu, bývají popisovány změny ve vrstvě pigmentového epitelu sítnice charakteru depigmentace [2, 9]. Subretinální tekutina se velmi zřídka rozšiřuje za oblast zadního pólu [2, 9]. Cystické změny v kombinaci se ztenčením sítnice v makulární oblasti jsou pozorovány asi u 2/3 pacientů. Makulopatie u jamky terče zrakového nervu může být asociována i s výskytem makulární díry, která se vyvíjí asi u 25 % pacientů [1, 21, 22]. Na rozdíl od většiny lamelárních makulárních děr, u kterých je pozorován defekt vnitřních retinálních vrstev, makulární díry asociované s jamkou terče postihují zevní retinální vrstvy se zachovanou intaktní vnitřní limitující membránou [14].

Průměrný věk výskytu makulopatie se pohybuje kolem 30 let (20–40 let) [5]. Popisován je však i výskyt v dětském věku v průběhu první dekády života [5].

Provedená histologická vyšetření prokazují, že je jamka terče tvořena herniací dysplastické retinální tkáně do hloubky terče přes lamina cribrosa až do subarachnoidálního prostoru [9]. Patogeneze makulopatie se zdá být vysvětlitelná prouděním tekutiny z oblasti jamky do subretinálního prostoru. Fakt, že do subretinální tekutiny neproniká fluorescein v průběhu fluorescenční angiografie (FA), potvrzuje její cerebrospinální [8, 15], nebo sklivcový původ [9]. Cerebrospinální původ subretinální tekutiny byl opakovaně potvrzen cisternografickými kontrastními vyšetřeními mozku, při kterých došlo k přesunu kontrastní látky i do subretinálního prostoru [11, 17]. Přímá komunikace mezi sklivcovým a subretinálním prostorem byla prokázána pouze u experimentálních psů [4]. U člověka tato komunikace nikdy prokázána nebyla [12].

DIAGNOSTIKA

Diagnóza jamky terče s případnou makulopatií může být stanovena již na základě charakteristického klinického obrazu, zahrnujícího typický nález na terči zrakového nervu a v makule.

Pomocným vyšetřením, které informuje o anatomických poměrech v dané oblasti je OCT. Zde prokazujeme různě hluboký defekt terče na podkladě formované jamky a makulopatii charakteru retinoschízy navazující na temporální okraj terče.

Důležitou roli hraje perimetrické vyšetření, které prokazuje zvětšení velikosti slepé skvrny s relativními centrálními skotomy.

TERAPIE

Jednou z možných metod léčby makulopatie při jamce terče je laserová koagulace místa komunikace při temporálním okraji disku. Laserová terapie je v této indikaci úspěšná u 50 % případů. Někteří autoři referují o latenci až několika měsíců mezi laserovou terapií a přiložením oblasti retinoschízy [1, 3]. Recidiva se ovšem může opět objevit za několik týdnů, či měsíců [18]. U očí, u nichž selhala laserová terapie, je referována možnost použití tamponády expanzivním plynem [18, 20]. Některé práce považují za metodu první volby PPV s odstraněním zadní sklivcové membrány a tamponádou expanzivním plynem [9, 14, 18, 20]. Žádná z výše uvedených metod nemá ovšem podle citovaných publikací favorizující efekt. Na základě dat získaných sledováním přirozeného vývoje tohoto onemocnění doporučuje Gass sledovat makulu alespoň 1 měsíc od doby vzniku makulopatie, pokud nedojde ke spontánnímu přiložení, provést fotokoagulaci při okraji zrakového nervu. Pokud není odezva po 6–8 týdnech, provést opakovanou fotokoagulaci a teprve po jejím selhání indikovat tamponádu expanzivním plynem doplněnou PPV.

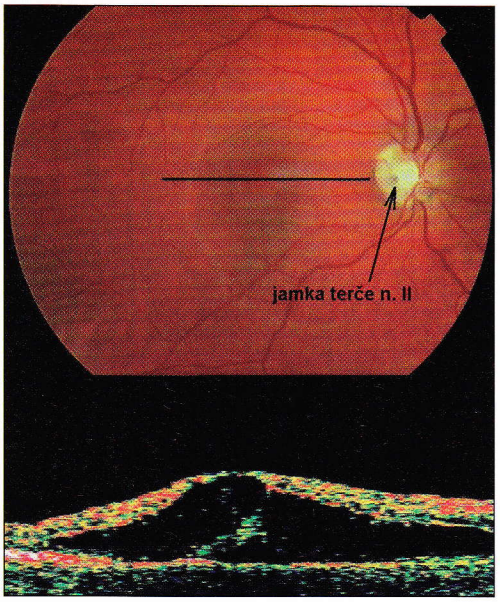
KAZUISTIKA

Předmětem kazuistického sdělení je 29letý muž, který se dostavil k vyšetření pro 1 měsíc trvající pokles vizu s obtěžujícím relativním centrálním skotomem na pravém oku. Rodinná a osobní anamnéza byla bezvýznamná. V oční anamnéze byla zjištěna lehká myopie trvající asi 3 roky, jinak byla bezvýznamná.

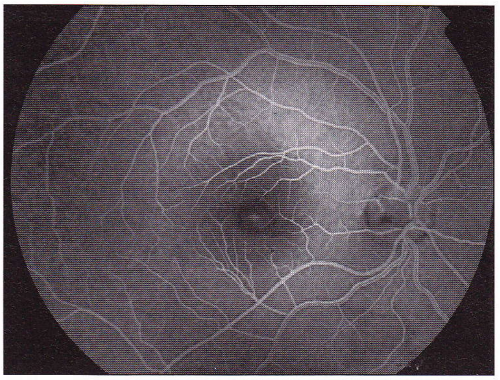
Při iniciálním vyšetření na našem pracovišti byla nejlepší korigovaná zraková ostrost (NKZO) pravého oka na hodnotě 5/20. NKZO levého oka byla 5/5. Při vyšetření v arteficiální mydriáze (AM) byla na pravém oku diagnostikována v temporální polovině zrakového nervu hluboká jamka šedavé barvy. Od ní temporálním směrem pod foveu zasahovalo ložisko retinoschízy elipsovitého tvaru. Na retině byly patrny v subretinálním prostoru precipitáty. Neuroretina fovey vykazovala známky výrazného protenčení s cystoidními změnami, periferní retina byla bez patologie. Retinální nález a nález na zrakovém nervu levého oka byl zcela fyziologický. Pro potvrzení diagnózy makulopatie při jamce terče zrakového nervu bylo provedeno na pravém oku OCT vyšetření. To prokazovalo retinoschízu navazující na temporální okraj disku, zasahující subfoveolárně s cystoidními změnami neuroretiny ve foveolární oblasti. Hodnota NT na obou očích byla fyziologická. Na perimetru pravého oka bylo zjištěno rozšíření oblasti slepé skvrny s relativními skotomy a sníženou senzitivitou v centrální oblasti, perimetr levého oka byl bez pozoruhodností.

Nález v oblasti zadního pólu pravého oka společně s korespondujícím OCT nálezem je na obr. 1.

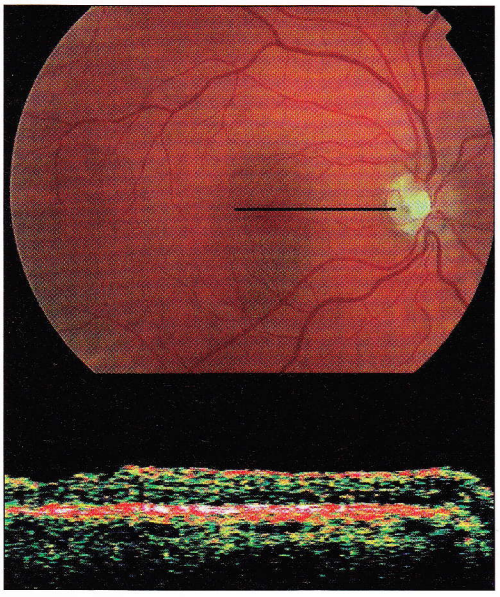
Po vyloučení dalších možných příčin makulopatie bylo provedeno fluoroangiografické vyšetření. V průběhu celého vyšetření byla patrna charakteristická hypofluorescence oblasti jamky terče. V pozdní fázi byla ve foveolární oblasti patrna lehká hyperfluorescence daná výrazným prořídnutím neuroretiny. Pozdní venózní fáze FA je znázorněna na obr. 2.



Obr. 1. Předoperační nález spolu s korespondujícím OCT nálezem centrálně lokalizované retinoschízy, šipka znázorňuje jamku terče zrakového nervu



Obr 2: Pozdní venózní fáze fluorescenčního angiogramu



Obr. 3. Pooperační nález spolu s korespondujícím OCT nálezem

Na základě charakteristického klinického nálezu a výsledků všech dalších vyšetření byla na pravém oku stanovena diagnóza makulopatie doprovázející jamku terče zrakového nervu.

Vzhledem k nízké předoperační NKZO a velikosti rozsahu retinoschízy v oblasti makuly bylo u pacienta indikováno operační řešení cestou PPV s tamponádou expanzivním plynem. Byla provedena klasická 3portová PPV s odstraněním sklivce. Do sklivcové dutiny byla na dobu 1 minuty aplikována membránová modř (Trypane blue DORC). Po jejím odstranění bylo zjištěno, že zadní sklivcová membrána stále velmi pevně lpí v oblasti zadního pólu. Za pomoci aktivního sání byla provedena její elevace a odstranění do periferie pomocí vitrektomu. Dále byla odstraněna vnitřní limitující membrána (VLM) v oblasti makuly v rozsahu mezi temporálními arkádami. Její odstranění proběhlo zcela bez komplikací i v místě centrální retinoschízy, kde retina vykazovala známky cystoidní přestavby. Na závěr byla operace ukončena tamponádou expanzivním plynem (15% perflouropropan – C_3F_8). V pooperačním období byl pacient poučen o nutnosti zachování pronačního postavení hlavy (polohování hlavy obličejem dolů) po dobu 2 týdnů.

Za 3 týdny po vstřebání plynné tamponády nebyla biomikroskopicky retino-

schíza v makule patrna. Výsledek biomikroskopického vyšetření byl potvrzen OCT vyšetřením, které prokázalo fyziologickou foveolární depresi bez známek retinoschízy a edému. NKZO pravého oka se zlepšila na hodnotu 5/10.

Pacient je v pravidelném sledování našeho pracoviště nyní již 1 rok. Poslední vyšetření prokázalo fyziologickou makulární konfiguraci. NKZO pravého oka byla 5/5, NT byl v normě. Perimetrické vyšetření pravého oka prokazovalo jen nepatrné snížení centrální senzitivity. Retina byla do periferie kompletně přiložena a čočka byla čirá.

Klinický nález spolu s korespondujícím OCT nálezem je na obr. 3.

DISKUSE

Jamka terče zrakového nervu je kongenitální anomálií terče zrakového nervu. Bývá většinou lokalizována při okraji zrakového nervu, a to ve více než polovině případů temporálně. U více než 40 % případů může být jamka asociována s výskytem makulopatie [4, 5, 6], která má podle OCT nálezů charakter retinoschízy. Většina autorů se shoduje na faktu nepřítomnosti ablace zadní sklivcové membrány u těchto pacientů [2, 5, 9, 10].

Diferenciálně diagnosticky je třeba vyloučit ostatní možné příčiny makulopatie postihující mladé pacienty jako jsou: na X-chromosom vázaná juvenilní retinoschíza, centrální serózní chorioretinopatie, makulární trakční syndrom, amoce sítnice způsobená makulární fenestrací. Dále je nutno vyloučit kongenitální anomálie disku jako jsou: syndrom šikmého disku, peripapilární stafylom, anomálii disku charakteru Morning glory syndrom a vrozené kolobomy disku [9, 16].

Na základě diferenciálně diagnostické rozvahy jsme u našeho pacienta diagnostikovali temporálně lokalizovanou jamku terče doprovázenou makulopatií charakteru retinoschízy. Nález byl potvrzen i OCT vyšetřením (obr. 1). Pro výrazný pokles NKZO s výraznými cystoidními změnami neuroretiny v oblasti fovey jsme se rozhodli k provedení PPV s tamponádou expanzivním plynem. Pacient poté po dobu 2 týdnů zachovával pronační postavení hlavy [9, 14, 18, 20].

Již za 3 týdny po operaci byl nález v makule fyziologický bez známek retinoschízy a cystoidních změn. Došlo ke zlepšení NKZO o 2 řádky Snellenových optotypů. V průběhu dalšího jednoletého sledování zůstál nález v makule nezměněn a NKZO se zlepšila o 4 řádky Snellenových optotypů na hodnotu 5/5. Retina je do periferie kompletně přiložená a OCT nález prokazuje fyziologickou makulární konfiguraci (obr. 3).

ZÁVĚR

Makulopatie při jamce terče zrakového nervu představuje poměrně vzácnou nozologickou jednotku. Stanovení správné diagnózy může činit určité obtíže. Velmi cennou pomocí je nám v tomto případě kromě biomikroskopického hlavně OCT vyšetření.

Podle publikovaných sdělení vede přirozený průběh tohoto onemocnění k velmi nízké výsledné NKZO často pod hodnotou 5/50.

PPV s tamponádou expanzivním plynem představuje možnost léčby tohoto nepříznivého onemocnění u pacientů s nízkou NKZO.

LITERATURA

1. **Annesley, W., Brown, G., Bolling, J. et al.:** Tretment of retinal detachment with congenital optic pit by krypton laser photocoagulation. Graefes Arch. clin. Exp. Ophthalmol., 225, 1987: 311–314.
2. **Bonett, M.:** Serous macular detachment associated with optic nerve pits. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 229 1991: 526–532.
3. **Brockhurst, R. J.:** Optic pits and posterior retinal detachment. Trans. Am. Ophthalmol. Soc., 73, 1975: 264–291.
4. **Brown, G. C., Schield, J.A., Patty, B. E., et al.:** Congenital pit of the optic nerve head. I. Experimental studies in collie dogs. Arch. Ophthalmol., 97, 1979: 1341–1344.
5. **Brown, G. C., Schield, J.A., Goldberg, R. E.:** Congenital pits of the optic nerve head. II. Clinical studies in humans. Ophthalmology, 87, 1980: 51–65.
6. **Brown, G. C., Tasman, W. S.:** Congenital anomalies of the optic disc. New York, Grune & Stratton, 1983.
7. **Calhoun, F. P.:** Bilateral coloboma of the optic nerve associated with holes in the disk and a cyst of the optic sheath. Arch. Ophthtalmol., 3, 1930: 71–79.
8. **Gass, J. D. M.:** Serous detachment of the macula secondary to congenital pit of the optic nerve head. Am. J. Ophthalmol., 67, 1969: 821–841.
9. **Gass, J. D. M.:** Stereoscopic atlas of macular diseases: diagnosis and treatment. 4th edition. St. Louis, CV Mosby, 1997, 1061 s.
10. **Gordon, R., Chatfield, R. K.:** Pits in the optic disc associated with macular degeneration. Br. J. Ophthalmol., 53, 1969: 481–489.
11. **Kalina, R. E., Konrad, W. C.:** Intrathecal fluorescein for serous macular detachment. Arch. Ophthalmol., 94, 1976: 1421.
12. **Kirchhof, B., Arnold, G., Kirchhof, E.:** Zur Genese der Grubenpapille. Mikroskopische Untersuchungen bei einen Neugeborenen. Klin. Monatsbl. Augeheilkd., 188, 1986: 310–312.
13. **Kranenbur, E. W.:** Crater-like holes in the optic disc and central serous retinopathy. Arch. Ophthalmol., 64, 1960: 912–924.
14. **Lincoff, H., Lopez, R., Kreissig, I., et al.:** Retinoschisis asociated with optic pits. Arch. Ophthalmol., 106, 1988: 61–67.
15. **Regenbogen, L., Stein, R., Lazar, M.:** Macular and juxtapapillary serous retinal detachment associated with pit of optic disc. Ophthalmologica, 148, 1964: 247–251.
16. **Regillo, C. D., Brown, G. C., Flynn jr, H. W.:** Vitreoretinal disease: the essentials. New York, Thieme, 1999, 691 s.
17. **Savell, J., Cook, J. R.:** optic nerve colobomas of autosomal dominant heredity. Arch. Ophthalmol., 94, 1976: 395–400.
18. **Schatz, H., McDonald, H. R.:** Treatment of sensory retinal detachment associated with optic nerve pit or coloboma. Ophthalmology, 95, 1988: 178–186.
19. **Slusher, M. M., Weaver, R. G. Jr., Greven, C. M. et al.:** The spectrum of cavitary optic disc anomalies in a family. Ophthalmology, 96, 1989: 342–347.
20. **Snead, M. P., James, N., Jacobs, P. M.:** Vitrectomy, argon laser, and gass tamponade for serous retina detachment associated with an optic disc pit: a case report. Br. J. Ophthalmol., 75, 1991: 381–382.
21. **Sobol, W: M., Blodi, C. F., Folk, J. C., et al.:** Long-term visual outcome in patients with optic nerve pit and serous retinal detachment of the macula. Ophthalmology, 97, 1990: 1539–1542.
22. **Theodossiadis, G. P., Koutsandrea, C., Theodossiadis, P. G.:** Optic nerve pit with serous macular detachment resuting in rhegmatogenous retinal detachment. Br. J. Ophthalmol., 77, 1993: 385–386.

MUDr. Petr Kolář
Oční klinika FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
tel. +4205 4719 3362, fax +4205 4719 2378
e-mail: pekolar@quick.cz