

Inleiding

Het werk in dit proefschrift beschreven is een poging om de lichtapplicatie te ontwikkelen en de lichtverdeling te meten en berekenen tijdens Fotodynamische Therapie van de bovenste luchtwegen. De fluentie tempo verdeling als gevolg van de belichting van een van de lumina van de bovenste luchtwegen werd onderzocht. De invloed van de volgende parameters werd bestudeerd:

- o emissie profielen van de lineaire diffuse lichtbron (diffuser)
- o de positionering van de diffuser in het lumen (gecentreerd of excentrisch)
- o de lengte van de gebruikte diffuser
- o de diameter van het behandelde lumen
- o de golflengte van het licht waarmee behandeld wordt
- o optische eigenschappen van het longslijmvlies

Voor *in situ* licht applicatie en dosimetrie is een applicator ontwikkeld, en deze is gebruikt om de eerste fluentie tempo metingen uit te voeren in de mens. De applicator is vervolgens gebruikt om een fluentie('licht-dosis')-schade relatie te bepalen in het gezonde longslijmvlies van het varken.

Tenslotte zijn de technieken voor *in vivo* fluentie tempo metingen toegepast bij het integraal belichten van de thorax na resectie van het longslijmvlies en/of de long.

Ex vivo fluentie tempo metingen en Monte Carlo simulaties

In hoofdstuk 2 wordt de licht verdeling tijdens Fotodynamische Therapie van de bronchi bestudeerd door middel van meting van het *ex vivo* fluentie tempo in de trachea van een varken. De trachea wordt belicht (rood licht, 630 nm) met een lineaire diffuser en het fluentie tempo wordt gemeten met een isotrope detector. De resultaten van de metingen komen binnen de meetfout ($\pm 15\%$) overeen met die van een Monte Carlo simulatie van het experiment. Dit geeft aan dat de Monte Carlo techniek gebruikt kan worden om een schatting te doen van de lichtverdeling voor verschillende geometrieën en optische eigenschappen.

De resultaten laten zien dat het fluentie tempo in het slijmvlies van de *ex vivo* trachea een factor 6 meer kan zijn dan het fluentie tempo op die plaats

in lucht. Dit wordt veroorzaakt door meervoudige (diffuse) terugstrooiing uit het weefsel en meervoudige spiegelende reflecties in de trachea.

Verdere experimenten tonen aan dat het positioneren van de lineaire diffuser bepalend is voor het fluentie tempo in de te behandelen laesie. Bij een verplaatsing van de diffuser van de centrale as tot dichtbij de laesie stijgt het fluentie tempo enkele orden van grootte vergeleken met de begintoestand. De inter- en intra- trachea variaties in deze toename waren groot ($\pm 35\%$) door variaties in respectievelijk de optische eigenschappen en geometrie en de positionering van de lineaire diffuser. Deze variaties kunnen over- en onderdosering tot gevolg hebben met als consequentie onvoldoende tumor-necrose of te veel schade aan het normale weefsel. De resultaten geven aan dat het verstandiger lijkt om de belichting altijd uit te voeren met de lineaire diffuser op de centrale as.

Licht applicatie met lineaire diffusers

De verdeling van het licht uitgezonden door lineaire diffusers die gebruikt worden voor Fotodynamische Therapie werd onderzocht in **hoofdstuk 3**, waarin een apparaat wordt gepresenteerd dat de hoekverdeling meet van het uitgezonden licht op ieder punt van het diffuseroppervlak. Met deze gegevens kan het fluentie tempo in lucht of in een holte op zekere afstand van de diffuser voorspeld worden. De resultaten laten zien dat het licht van de diffuser voornamelijk in de voorwaartse richting uitgezonden wordt. Experimenten en berekeningen tonen aan dat het fluentie tempo in lucht en in een holte in verstrooiend weefsel op enige afstand van de diffuser een maximum heeft nabij de voorkant van de diffuser, in plaats van tegenover het midden. Een meting van het fluentie tempo met de diffuser interstitieel in een puur verstrooiend weefselfantoom laat zien dat het maximum ligt tegenover het midden van de diffuser, hetgeen te verwachten is indien ieder element van het diffuseroppervlak het licht isotroop uit zou zenden. De verstrooiing van het weefsel zelf zal er voor zorgen dat de anisotropie van het uitgezonden licht teniet wordt gedaan.

In **hoofdstuk 4** werd de radiantie-hoekverdeling gemeten van enkele lineaire diffusers die voor Fotodynamische Therapie gebruikt worden. De voorwaartse verstrooiing die voorheen gevonden werd (hoofdstuk 3) was afwezig in deze diffusers. De verbeterde isotropie leidt tot een beter overeenstemming tussen de bedoelde en de werkelijke plaats van behandeling in het geval van een belichting van een hol, cilindervormig orgaan.

Applicator voor endobronchiale licht applicatie en licht dosimetrie

In hoofdstuk 5 wordt een applicator gepresenteerd voor het toedienen en het *in situ* meten van licht tijdens EndoBronchiale Fotodynamische therapie. Dit ontwerp bevat een lineaire diffuser die middels een mandje van stalen veren gecentreerd wordt in het te behandelen lumen, zonder dat de luchttoevoer geblokkeerd wordt. De centrale positionering van de diffuser zorgt voor een optimale lichtverdeling (hoofdstuk 2). Een isotrope detector is onderdeel van de applicator. Deze meet het fluentie tempo dat daadwerkelijk toegediend wordt aan het longslijmvlies. De applicator is ontworpen voor gebruik met gangbare bronchoscopen, en kan gebruikt worden met bronchoscopen met een groot (≈ 3 mm) werkkanaal. De eerste klinische metingen werden uitgevoerd en veroorzaakten geen extra ongemakken bij de standaard bronchoscope van niet-lichtgevoelige gemaakte vrijwilligers.

De gegevens laten een aanzienlijke variatie tussen de patiënten zien van het gemeten fluentie tempo voor een vast uitgangsvermogen van de lineaire diffuser. Dit gegeven gecombineerd met de te verwachten afhankelijkheid van het fluentie tempo van de lumen diameter benadrukken het belang van *in situ* fluentie tempo metingen voor een verantwoorde evaluatie van de relatie tussen licht fluentie en biologisch effect bij Endobronchiale Fotodynamische Therapie.

Monte Carlo berekeningen voor variaties in geometrie, optische eigenschappen en diffuser emissie karakteristieken

In hoofdstuk 6 wordt een Monte Carlo model gepresenteerd voor de belichting van een cilindrische holte in weefsel door een lineaire diffuser. Het model wordt gebruikt om de fluentie tempo verdeling te berekenen tijdens Endo-Bronchiale Fotodynamische Therapie. De invloed van geometrische parameters zoals de diameter van het behandelde lumen en de lengte van de lineaire diffuser en de mogelijke excentrische positionering van de diffuser worden onderzocht. Ook wordt er gekeken naar de invloed van variaties in de emissie karakteristieken van de lineaire diffusers. Voor een centraal geplaatst diffuser worden enkele vuistregels afgeleid om de fluentie tempo verdeling op de wand van de trachea te schatten bij verschillende diffuser lengtes en lumen diameters.

Voor lineaire diffusers die gemodelleerd kunnen worden als een reeks van isotrope puntbronnen kan een constant fluentie tempo opbouwfactor gebruikt worden voor verschillende diffuser lengtes en lumen diameters. Extreme excentrische plaatsing van de diffuser veroorzaakt een aanzienlijke en zeer variabele toename in het maximum van het fluentie tempo evenals een

zeer asymmetrische fluentie tempo verdeling langs de omtrek van het lumen (zoals reeds gezien tijdens metingen in hoofdstuk 2). De gemeten emissie karakteristieken van lineaire diffusers kunnen worden ingebouwd in het model zodat de fluentie tempo verdelingen bij belichting met een niet-ideale lineaire diffuser onderzocht kunnen worden.

De invloed van de optische eigenschappen van het longslijmvlies op de fluentie tempo opbouwfactor werd ook onderzocht. De variaties in het fluentie tempo konden verklaard worden met behulp van diffusie theorie.

Fluentie-respons experiment voor normaal weefsel schade aan het longslijmvlies in varkens

In hoofdstuk 7 wordt onderzocht welke schade er ontstaat aan het longslijmvlies van varkens na Fotodynamische Therapie met mTHPC en Photofrin als lichtgevoelige stof. De applicator uit hoofdstuk 5 werd gebruikt om het licht toe te dienen in de trachea en om een *in situ* meting van de fluentie uit te voeren. De fluenties die toegediend werden waren afgeleid van bestaande protocollen.

Een fluentie-bepalings experiment met korte-termijn schade (1-2 dagen) als eindpunt liet zien dat er aanzienlijke schade ontstaat wanneer Photofrin gebruikt wordt als lichtgevoelige stof (fluenties 50-275 J/cm², Photofrin dosis 2 mg/kg). Hierbij waren schade aan de bloedvaten en oedeem de belangrijkste verschijnselen. In het korte-termijn mTHPC experiment was de gevonden schade slechts gering (fluenties 12.5-50 J/cm², mTHPC dosis 0.15 mg/kg). Voor beide lichtgevoelige stoffen werd atrofie en acute ontsteking van zowel het epitheel als de kliertjes in de submucosa gevonden. De schade bleef beperkt tot het slijmvlies, waarbij het kraakbeen intact bleef. Een lange-termijn experiment liet zien dat fluenties van 50 J/cm² voor de mTHPC en 65 J/cm² voor de Photofrin behandelde dieren schades veroorzaakten die binnen 14 dagen hersteld was, met sporadisch lichte fibrose en af en toe ontsteking van de kliertjes.

Een beperkte set metingen van de farmaco-kinetiek van mTHPC laat zien dat de niveaus van de lichtgevoelige stof in de trachea vergelijkbaar zijn op 6 en 20 dagen na injectie. Het belang van *in situ* licht dosimetrie werd onderstreept door grote variaties in gemeten fluentie tempo tussen de dieren in vergelijkbare belichtingsomstandigheden.

Intra-operatieve adjuvante Fotodynamische Therapie voor Maligne Mesotheliomen

Hoofdstuk 8 beschrijft de behandeling van vijf patiënten met kanker aan het longslijmvlies met maximale chirurgische resectie van de tumor gevolgd door intra-operatieve adjuvante Fotodynamische Therapie. De Fotodynamische Therapie werd uitgevoerd met mTHPC als lichtgevoelige stof. De licht applicatie in de thorax werd gecontroleerd met *in situ* isotrope licht detectors. De positie van de spherische diffuser werd handmatig gevarieerd om een optimale lichtverdeling te verkrijgen, waarbij ook alle bijdragen van verstrooid licht in de thorax holte gemeten worden.

Er was geen postoperatieve mortaliteit na 30 dagen en slechts een patiënt ondervond een ernstige complicatie (scheuring van het middenrif en bloeding in het hartzakje). De operatietijd werd verlengd met maximaal een uur om de hele thoraxwand te belichten met een gemiddelde fluentie van 10 J/cm^2 . Het effect van de adjuvante therapie werd onderzocht door het nemen van bipten 24 uur na de operatie middels een thoracoscopie. Significante schade (waaronder necrose) werd waargenomen in resterende tumor, terwijl bij normaal weefsel alleen acute ontstekingsinfiltraten en oedeem van het dwarsgestreepte spierweefsel gevonden werden.

Van de vijf behandelde patiënten zijn er nog 4 in leven zonder tekenen van terugkerende tumorgroei, met een opvolgtijd van 9-11 maanden. Een patiënt ontwikkelde tumor rond het litteken van de thoracoscopie, en overleed aan tumorgroei in de buikholte.

Afsluitende Opmerkingen

De fluentie tempo verdeling tijdens Endobronchiale Fotodynamische therapie (en alle andere toepassingen van PDT) wordt beïnvloed door vele factoren, waarvan sommige moeilijk *in situ* en routinematig te bepalen zijn (bijvoorbeeld de optische eigenschappen van het weefsel). Daarom is het essentieel dat er een *in situ* meting wordt gedaan tijdens de behandeling om er zeker van te zijn dat er een reproduceerbare licht fluentie aan het weefsel wordt toegediend. Alleen op deze manier zal het mogelijk zijn om een goede correlatie te verkrijgen tussen de hoeveelheid toegediend licht en het waargenomen therapeutische effect.

In dit proefschrift worden twee methodes voor *in situ* licht dosimetrie gepresenteerd, een voor de bovenste luchtwegen en een voor de belichting van de thorax. De fluentie tempo metingen kunnen gebruikt worden om een schatting te maken van de hele fluentie tempo verdeling, zij het met behulp van een beperkt aantal meetpunten (met name in het geval van de endo-

bronchiale applicator). Monte Carlo modellen kunnen helpen om met de enkele meetpunten toch een schatting van de hele lichtverdeling op en *in* het weefsel te maken. Het laatste is belangrijk omdat invasieve metingen niet goed mogelijk zijn en er van metingen aan het oppervlak uitgegaan moet worden.

De afmetingen van de isotrope detectors zijn zodanig dat ze gebruikt kunnen worden voor licht dosimetrie in vrijwel elk gebied. Voor ieder doelorgaan voor Fotodynamische Therapie is er een op dat orgaan toegesneden instrumentatie voor licht applicatie en licht dosimetrie nodig. De kennis van de farmaco-kinetiek van de lichtgevoelige stof is ook belangrijk voor het uiteindelijke therapeutische effect. De combinatie van *in situ* licht dosimetrie en meting van de fluorescentie van de lichtgevoelige stof voor en tijdens de behandeling zal een betere voorspelling geven van het te verwachten effect.