

Selektive Retina-Therapie

Methodik, Technik und Online-Dosimetrie

Motivation

Die Photokoagulation der Netzhaut des Auges gilt als die erfolgreichste Anwendung des Lasers in der gesamten Medizin. Sie wird seit Anfang der 70er Jahre des vorigen Jahrhunderts nahezu unverändert durchgeführt und ist als Standardtherapie für verschiedenste Erkrankungen am Augenhintergrund etabliert. Hierzu zählen u. a. die proliferative diabetische und andere proliferative Retinopathien, verschieden bedingte Makulaödeme, Gefäßneubildungen bei altersbedingter Makuladegeneration, Netzhautablösungen und periphere Netzhautlöcher.

Die thermisch induzierten Veränderungen an der Netzhaut als direkte Wirkung der Laserstrahlung bei Photokoagulation sind ausführlich erforscht. Gleiches gilt für die therapeutisch erzielbaren Erfolge, die in zahlreichen klinischen Studien für die unterschiedlichen Krankheitsbilder gut untersucht und statistisch dokumentiert sind. Die physiologischen Prozesse, die sich im Anschluss an die Bestrahlung im Gewebe abspielen und letztlich für die therapeutische Wirkung verantwortlich sind, liegen hingegen noch weitgehend im Dunkeln und unterscheiden sich vermutlich auch bei den einzelnen Erkrankungen. Gut bekannt ist lediglich die Narbenbildung als Folge der laserinduzierten thermischen Denaturierung. Diesen Prozess nutzt man zur Behandlung von Netzhautablösungen und Abriegelung von Netzhaut-

foramen aus. Die Reduktion eines diabetisch bedingten Makulaödems nach Laserbehandlung wird der Verbesserung der Pumpfunktion des sich regenerierenden retinalen Pigmentepithels (RPE) zugeschrieben [1]. Gleiches trifft vermutlich auch bei der Retinopathia centralis serosa (RCS) und verschiedenen anders bedingten Makulaödemem zu. Als Wirkmechanismus nach der Behandlung von Drusen wird der gesteigerte Gesamtmetabolismus als Folge der RPE-Regeneration diskutiert [2].

Das RPE ist als multifunktionale, monozelluläre Zellschicht am chorioretinalen Übergang wesentlich für die Steuerung des retinalen Metabolismus verantwortlich. Unter anderem phagozytieren RPE-Zellen die durch den Sehvorgang in den Photorezeptoren anfallenden Membranscheibchen der Photorezeptoraußensegmente. Hierbei akkumulieren Stoffwechselendprodukte im RPE, wie elektronenmikroskopische Aufnahmen von jungen RPE-Zellen (■ **Abb. 1a**; [3]) im Vergleich zu gealtertem RPE deutlich zeigen (■ **Abb. 1b**; [4]). Die mit dem Alter sich akkumulierenden Lipofuszinlagerungen im RPE führen dabei höchstwahrscheinlich zu einem stetig abnehmenden Metabolismus am chorioretinalen Übergang. Lipideinlagerungen in der Bruch'schen-Membran [5], die mit einer reduzierten Wasserdurchlässigkeit einhergehen [6], sind experimentell manifestiert. Zusammenfassend ist nahe liegend, dass das RPE für viele Netzhauterkrankungen eine zentrale Rolle spielt, da

es u. a. für die Steuerung des retinalen Metabolismus sowie die Regulierung des Wassergehalts der Netzhaut verantwortlich ist.

Falls diese Hypothesen zutreffend sind, ist die Zerstörung der Photorezeptoren und der neuronalen Netzhaut mit der damit einhergehenden Entstehung von Gesichtsfelddefekten ein ungewollter und unnötiger Nebeneffekt für viele mit konventioneller Photokoagulation behandelte Netzhauterkrankungen. Basierend auf diesen Überlegungen wurde ein neues Laserverfahren vorgeschlagen, die selektive Retinatherapie (SRT) [7, 8].

Ziel der SRT ist es, nach der selektiven Desintegration des bestrahlten RPE die um den Bestrahlungsort liegenden RPE-Zellen zur Regeneration anzuregen. Durch den natürlichen Heilungsverlauf wird der gesetzte Defekt durch Migration und Proliferation der umliegenden RPE-Zellen gedeckt. In-vivo-Untersuchungen konnten die nach selektiver Laserbestrahlung einsetzende RPE-Restaurierung innerhalb von 1–2 Wochen zeigen [7]. Hypothetisch soll durch die SRT der gesamte Stoffwechsel im bestrahlten und umliegenden Areal stimuliert und längerfristig verbessert werden. Im vorliegenden Artikel wird die Wirkungsweise der selektiven Desintegration der RPE-Zellen erläutert; hierzu geeignete Laserparameter werden diskutiert. Ferner wird auf das „therapeutische Fenster“ eingegangen, in dem selektive Effekte erzielbar sind, und es wird eine geeignete Dosimetriekontrolle vorgestellt.

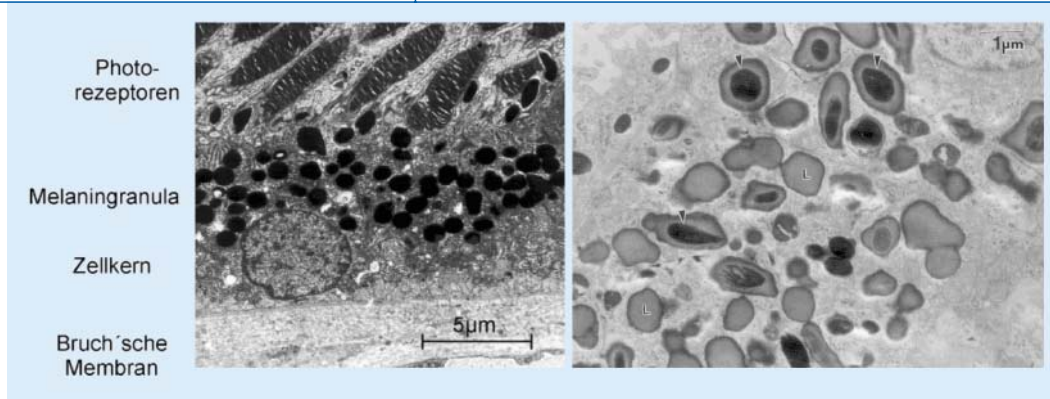


Abb. 1 ◀ Transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahmen von RPE-Zellen im Querschnitt. **a links:** RPE-Zelle eines jungen Menschen (nach Gabel [3]). **b rechts** RPE-Zelle einer 70-jährigen Frau (nach Schrämeyer [4]). Die Melaningranula erscheinen in beiden Bildern schwarz, die grauen Granula (rechts) zeigen Lipofuszin und andere Stoffwechselprodukte

Selektive RPE-Erhitzung

Das Konzept der selektiven Schädigung von stark absorbierenden Medien, welche in schwächer absorbierendes Gewebe eingebettet sind, wurde als „selektive Photothermolyse“ erstmals von Anderson und Parrish vorgestellt [9]. Die zur selektiven Photothermolyse verwendete Laserwellenlänge wird dabei in idealer Weise so gewählt, dass die Absorptionsunterschiede zwischen der Zielstruktur und ihrer Umgebung maximal werden. Wählt man dann die Laserpulsdauer für die Bestrahlung derart, dass während des Pulses kaum Wärme aus dem Absorber in die Umgebung diffundiert, können in und am Absorber lokal beschränkt sehr hohe Temperaturen und Temperaturgradienten erreicht werden (Bestrahlung unter thermischem Einschluss). Die Präzision der laserinduzierten Effekte ist bei der selektiven Photothermolyse also nicht durch die Fokussierung der Laserstrahlung auf ein Zielgebiet, sondern durch die Größe der absorbierenden Struktur vorgegeben. Das Verfahren der selektiven Photothermolyse wird klinisch u. a. zur Entfernung von Haaren [10] und vaskulärer Strukturen wie Feuermalen und Besenreisern [11] sowie Tätowierungen [12] eingesetzt. Während bei der Verödung vaskulärer Strukturen die erforderliche Präzision im Bereich von 50 µm bis 1 mm liegt [11, 13] und eine partielle Schädigung der benachbarten Strukturen tolerabel ist, setzen die hier benötigten selektiven RPE-Effekte eine Präzision auf zellulärer Ebene voraus.

Aufgrund der intrinsisch extrem hohen Absorption der intrazellulären Melanosomen mit Absorptionskoeffizienten

von ca. $1 \mu\text{m}^{-1}$ [14, 15, 16] eignet sich das RPE besonders gut, um exklusiv innerhalb der RPE-Zellen hohe Temperaturspitzen zu erzeugen. Im grünen Spektralbereich werden ca. 50% des einfallenden Lichts von den etwa 100, im Durchmesser ca. 0,5–1,5 µm großen Melanosomen einer RPE-Zelle absorbiert [3]. Bei der Photokoagulation mit Pulsdauern im 100-ms-Bereich kommt es aufgrund der Wärmediffusion vom RPE zu einer ausgedehnten, sich über die gesamte Netz- und Aderhaut erstreckenden Temperaturerhöhung und damit zur Gewebedenaturierung [17]. Reduziert man jedoch die Pulsdauer in den Bereich der thermischen Relaxationszeit des Gewebes, so erhöht sich der räumliche und zeitliche Temperaturgradient und es bilden sich deutliche Temperaturspitzen an den Absorbern aus [8, 9]. Die thermische Relaxationszeit, definiert als die Zeit, bis die zentrale Temperatur eines gleichmäßig instantan erhitzten Volumens auf $1/e$ (entspricht 36%) abgefallen ist, ergibt für ein 1 µm großes Melanosom eine Zeit von 420 ns (radiale Wärmeleitung). Betrachtet man das RPE als eine ca. 4 µm dicke, lateral ausgedehnte, homogene Absorberschicht, so ergibt sich eine thermische Relaxationszeit von ca. 64 µs (axiale Wärmeleitung).

Zur Abschätzung der Temperaturgradienten im RPE wurden detaillierte Berechnungen zum Temperaturverlauf an der Netzhaut mit einem granulären Modell der pigmentierten Schicht des RPE durchgeführt, das auf einer analytischen Lösung der Wärmeleitungsgleichung basiert [8, 18]. Dem Modell liegen 3 Lagen kugelförmiger Melaningranula mit einem Durchmesser von 1 µm im Abstand von 0,5 µm, angeordnet auf einem regelmäßigem Gitter, zugrunde. Bei einem Ab-

sorptionskoeffizient der Granula von $0,8 \mu\text{m}^{-1}$ [15] wird damit 56% der einfallenden Laserstrahlung innerhalb der gesamten Schicht absorbiert [19]. Damit liegt die Gesamtadsorption im Bereich der von Gabel et. al. [3, 20] experimentell gefundenen Absorption. Die Temperaturverläufe wurden an verschiedenen Stellen an der Oberfläche, zwischen den Melaninpartikeln und außerhalb der Zelle für verschiedene auch experimentell verwendete Pulsdauern berechnet [19].

Pulsdauern $< 5 \mu\text{s}$ führen dabei direkt an der Oberfläche der Melanosomen zu ausgeprägten Temperaturerhöhungen ΔT_{max} zum Ende des Laserpulses. Bei gleicher Bestrahlung (Pulsenergie/Fläche) sinken die Temperaturspitzen mit steigender Pulsdauer [10 ns : $\Delta T_{\text{max}} \approx 0,9 \text{ K}/(\text{m}^2/\text{cm}^2)$; $5 \mu\text{s}$: ($\Delta T_{\text{max}} \approx 0,35 \text{ K}/(\text{m}^2/\text{cm}^2)$). In 2 µm Abstand zur Granulaschicht sind die Temperaturverläufe für beide Pulsdauern jedoch quasi identisch [$\Delta T_{\text{max}} \approx 0,08 \text{ K}/(\text{m}^2/\text{cm}^2)$] und die Spitzentemperaturen bereits deutlich abgefallen. Bei Pulsdauern $> 50 \mu\text{s}$ spielt die granuläre Struktur der Absorber kaum noch eine Rolle und es kommt zu einer relativ lang abfallenden Temperaturerhöhung vom Absorber RPE in Richtung der Netzhaut, wie aus der thermischen Relaxationszeit einer ausgedehnten Absorberschicht auch zu erwarten ist [19].

Zusammenfassend lässt sich aus den Temperatursimulationen folgern: Ist es Ziel, das komplette RPE relativ gleichmäßig zellselektiv zu erwärmen, so bieten sich Pulsdauern von ca. 20–30 µs an. Sollen hingegen ausgeprägte Spitzentemperaturen an den RPE-Melanosomen erzeugt werden, so sollten Pulsdauern $< 5 \mu\text{s}$ verwendet werden. Bei Pulsdauern $> 50 \mu\text{s}$ ist der räumliche Temperaturgradient bereits

soweit gesunken, dass keine RPE-selektive Erwärmung mehr stattfindet.

Mechanismus der selektiven RPE-Schädigung

Zum grundlegenden Verständnis der Wirkungsweise der SRT und damit letztlich zur Optimierung der Bestrahlungsparameter stellt sich die Frage, welche Effekte die hohen im RPE erzielbaren Temperaturspitzen auslösen und *ob* und *wie* diese zu einer selektiven RPE-Schädigung führen. Eine rein thermisch induzierte Denaturierung von Proteinen und Gewebe ist prinzipiell abhängig von der absoluten Temperatur und der Zeitdauer der Temperaturerhöhung. Sie lässt sich u. a. mit dem Schädigungsintegral nach Arrhenius beschreiben [21].

Zur effektiven thermischen Denaturierung ist es sinnvoll, hohe Spitzentemperaturen zu erzeugen, da diese die Schädigung exponentiell beschleunigen, während die Dauer der Temperaturerhöhung nur näherungsweise linear in den Prozess eingeht. Soll eine Maximaltemperatur (z. B. die Verdampfungsschwelle) nicht überschritten werden, ist es zur Denaturierung sinnvoll, die Expositionsdauer bei erhöhter Temperatur zu verlängern. Da dieses aufgrund der Anforderungen an die Selektivität nur eingeschränkt möglich ist (s. o.), kann man sich der Additivität thermischer Schäden bedienen und Pulse repetitiv applizieren, solange die mittlere Temperatur dabei nicht nennenswert ansteigt. Entsprechend dieser Überlegungen wurden erste experimentelle Untersuchungen zu einer selektiven RPE-Schädigung von Roeder et al. mit repetitiv applizierten Pulsen eines Ar⁺-Lasers am Kaninchen vorgenommen. Aus Ermangelung geeignet gepulster Lasersysteme wurden Pulse mit 5 µs Dauer aus einem kontinuierlichen (cw) Strahl ausgekoppelt [7, 8]. Histologisch konnte eine auf das RPE beschränkte Zellschädigung und ferner die komplette RPE-Restaurierung im Heilverlauf nachgewiesen werden.

Detaillierte Berechnungen mit dem Arrheniusformalismus unter Verwendung bekannter Parameter zur thermischen Schädigung der Netzhaut [22] ergaben jedoch, dass mit den zur SRT be-

Zusammenfassung · Abstract

Ophthalmologie 2006 · 103:839–849 DOI 10.1007/s00347-006-1416-6
© Springer Medizin Verlag 2006

R. Brinkmann · G. Schüle · J. Neumann · C. Framme · E. Pörksen · H. Elsner · D. Theisen-Kunde
J. Roeder · R. Birngruber

Selektive Retina-Therapie. Methodik, Technik und Online-Dosimetrie

Zusammenfassung

Die selektive Retina-Therapie (SRT) wird zurzeit als neue, schonende Laserbehandlungsmethode für verschiedene Erkrankungen des Augenhintergrunds evaluiert, die mit einer reduzierten Funktion des retinalen Pigmentepithels (RPE) assoziiert werden. Mit der SRT wird im bestrahlten Areal lediglich das RPE behandelt, ohne die angrenzende neurosensorische Netzhaut mit den Photorezeptoren und die unter dem RPE liegende Aderhaut zu schädigen. Die Therapie führt idealerweise zu einer Regeneration des RPE und einem gesteigerten Metabolismus am chorioretinalen Übergang. Im Gegensatz zur etablierten Laserphotokoagulation, bei der die bestrahlten und umgebenden Areale der Netzhaut kom-

plett verödet werden, bleiben bei der SRT Skotome vollständig aus. Der Artikel gibt eine Übersicht über die Methodik und die Mechanismen zu selektiven RPE-Effekten und re-sumiert In-vitro- und vorklinische Ergebnisse zur Bandbreite der Selektivität für verschiedene Bestrahlungsparameter. Die Beschreibung einer optoakustischen Methode zur Online-Visualisierung der optisch nicht sichtbaren Effekte und damit zur Dosimetrie ohne angiographische Kontrolle runden die Übersicht ab.

Schlüsselwörter

Selektive Zelleffekte · Optoakustik · Mikroblassen · Online-Dosimetrie · Makulaödeme

Selective retina therapy. Methods, technique, and online dosimetry

Abstract

Selective retina therapy (SRT) is currently under evaluation, as a new and very subtle laser method, for the treatment of retinal disorders associated with a degradation of the retinal pigmentary epithelium (RPE). SRT makes it possible to selectively effect the RPE, sparing the adjacent neural retina with the photoreceptors and also the choroid below the RPE. In the best case, the therapy leads to regeneration of the RPE and a long-term metabolic increase at the chorio-retinal junction. In contrast to conventional laser photocoagulation, which is associated with complete thermal necrosis of and around the treated site, absolutely no scotoma occurs in SRT. This

paper reviews the methods and mechanisms behind the selective effects of the RPE. In vitro and preclinical results are used to describe the bandwidth of selective effects with respect to different irradiation settings. An optoacoustic technique is introduced to visualize effects that cannot be seen by ophthalmoscopy and to facilitate dosimetry control without recourse to angiography completes the report.

Keywords

Selective cell effects · Optoacoustic technique · Microbubbles · Online dosimetry · Macular edema

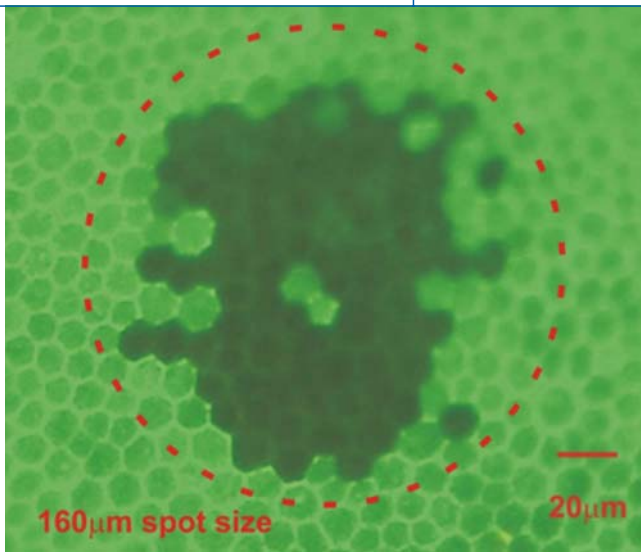


Abb. 2 ◀ Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme eines Schweine-RPE-Explantats unter Verwendung des Vitalitätsmarkers Calcein-AM. Einzelpulsbestrahlung nahe der ED₅₀-Schwelle: 135 mJ/cm², Pulsdauer 250 ns. Die hell fluoreszierenden, hexagonalen RPE-Zellen sind vital, die dunkel erscheinenden, nichtfluoreszierenden Zellen im Bestrahlungsareal geschädigt

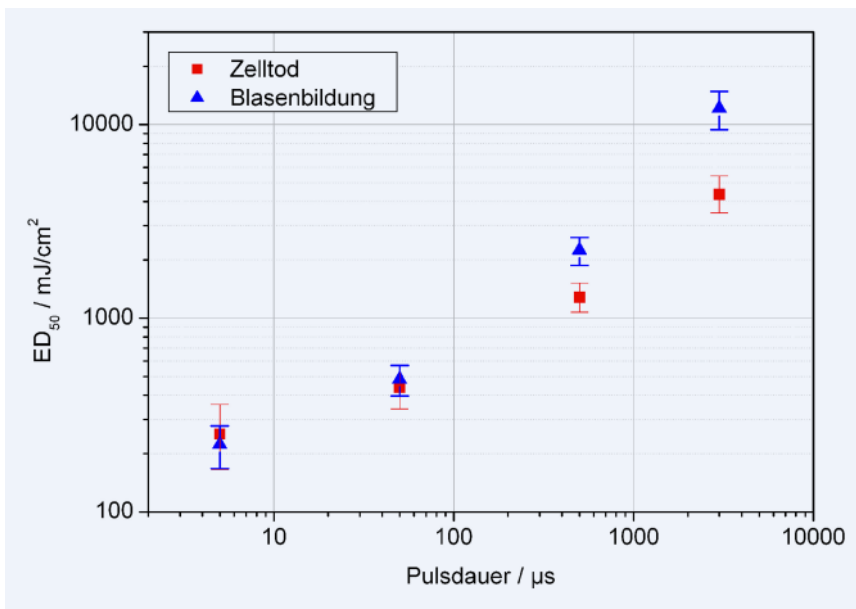


Abb. 3 ▲ ED₅₀-Bestrahlungsschwellen für detektierte Blasenbildung und Zellschädigung bei verschiedenen Pulsdauern. Die Fehlerbalken zeigen jeweils die ED₁₅- und ED₈₅-Werte der logarithmischen Normalverteilung. Bei 5 µs liegt die Blasenbildungsschwelle unterhalb der Schwelle für Zellschädigung; hier kommt es wahrscheinlich aufgrund der intrazellulären Blasenbildung zur Disruption der Zellmembran. Bei 500 µs und 5 ms werden die Zellen rein thermisch geschädigt. Der Bereich von ca. 10–100 µs muss als Übergangsbereich von thermomechanischen zu thermischen Schäden angesehen werden

nutzen Parametern ein rein thermisch bedingter RPE-Zellschaden unwahrscheinlich ist. Lediglich direkt an der Oberfläche der Melanosomen (höchste Temperaturspitzen) wäre eine einsetzende thermische Denaturierung möglich [19]. Experimentelle Untersuchungen zur Zellschädigung ergeben ferner nur eine geringe Abnahme des Bestrahlungsschwellenwerts mit steigender Pulsanzahl sowie eine fast konstante Schwelle bei höheren Expositionszahlen [15]. Alle Befunde sind

mit der Theorie der rein thermischen Denaturierung wenig vereinbar.

Motiviert durch diese Erkenntnisse wurden andere Möglichkeiten der Zellschädigung in Betracht gezogen. Bei sehr hohen Bestrahlungen (10-fach oberhalb der angiographischen Schwelle und 4-fach über der Schwelle zur Sichtbarkeit) mit 200-ns-Pulsdauern wurden am Kaninchen bereits permanente Blasen optisch an der Spaltlampe beobachtet [23]. Offensichtlich war bei diesen Behand-

lungparametern die Verdampfungstemperatur weit überschritten. Bei gepulster Bestrahlung entstehen die höchsten Temperaturen an den Melanosomen, so dass die Verdampfungsschwelle primär zunächst hier überschritten wird und es zur Mikroblasenbildung (Nukleation) an und um die Melaningranula kommt [15]. Dicht oberhalb der Schwellbestrahlung beträgt die Lebensdauer dieser transienten Mikroblasen jedoch nur Mikrosekunden (s. u.). Durch kurzzeitige zellinterne Volumenvergrößerung durch eine oder viele Mikroblasen könnte die Zelle so thermomechanisch desintegriert werden [24]. Berechnungen zur notwendigen Bestrahlung für eine bestimmte Verdampfungstemperatur an der Oberfläche eines Melanosoms postulieren eine fast lineare Zunahme der Bestrahlung mit zunehmender Pulsdauer vom ns- in den µs-Bereich [15]. Eine solche Abhängigkeit konnte auch experimentell in Untersuchungen zur Blasenbildungsschwelle an Melanosomen gezeigt werden [15, 16]. Eine Auswertung der Ergebnisse ergibt dabei eine Verdampfungsschwelltemperatur von ca. 140 °C [15].

Zur näheren Bestimmung des Schadensmechanismus in Abhängigkeit der Pulsdauer wurden experimentell Zellschädigung und Mikrovaporisation zusammen an den selben RPE-Präparaten untersucht [25]: Zur Messung der Zellschädigung wurde das Vitalitätsassay Calcein-AM nach Bestrahlung auf die Proben gegeben. Die Zellmembran ist für Calcein-AM permeabel. Dieses wird innerhalb der Zellen von Esterasen in Calcein umgewandelt, das im grünen Spektralbereich fluoresziert, wenn es mit blauem Licht angeregt wird. Denaturierte oder an der Zellmembran geschädigte Zellen zeigen keine Fluoreszenz mehr. In **Abb. 2** wird dies am Beispiel von frisch explantiertem Schweine-RPE gezeigt, das innerhalb weniger Stunden post mortem bestrahlt wurde. Zur Detektion möglicherweise auftretender Mikrodampfblasen wurden zwei unabhängige Verfahren gewählt: Zum einen wurden mit einem Ultraschallmikrophon (Nadelhydrophon) Druckwellen detektiert, die bei der Nukleation entstehen. Zum anderen wurde optisch die erhöhte Reflexion der Strahlung des Laserpulses an entstehenden Grenz-

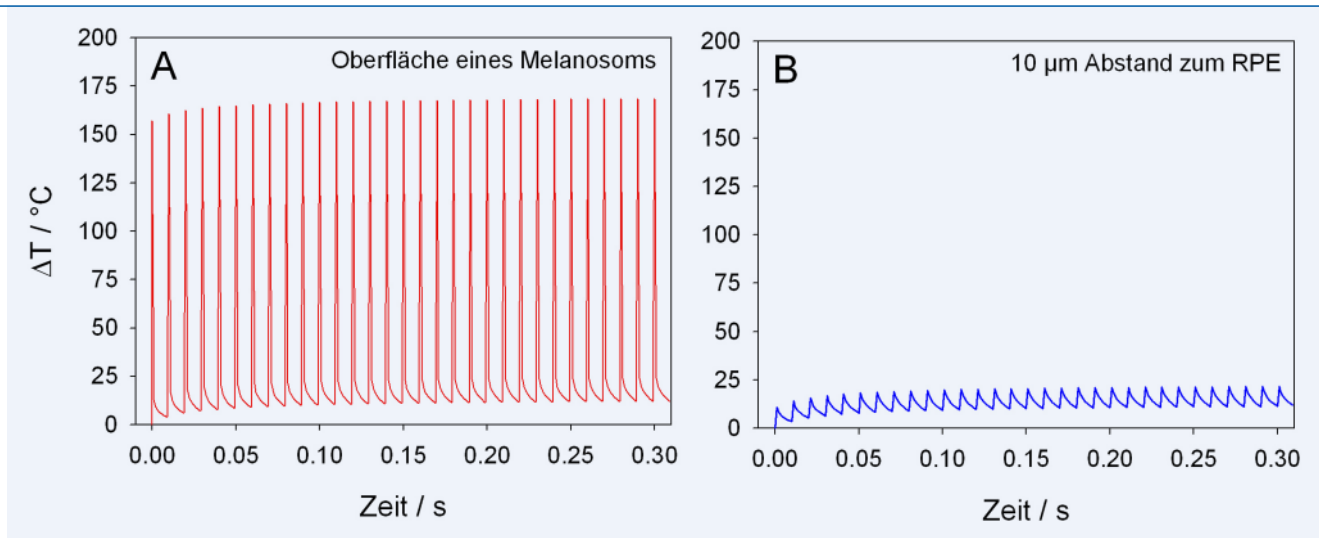


Abb. 4 ▲ Berechnete Temperaturverläufe bei repetierender Bestrahlung mit: 100 Hz, Einzelpulsenergie 120 µJ, Pulsdauer 1,7 µs, Spotdurchmesser 200 µm. Bestrahlung: 382 µJ/cm² **A:** an der Oberfläche eines Melanosoms **B:** in 10 µm Abstand vom RPE auf der Höhe der Photorezeptor-Außensegmente

flächen zwischen flüssigem Zellplasma und Wasserdampf im Blaseninneren in konfokaler Anordnung mit einem Photomultiplier zeitaufgelöst gemessen [25].

Bei Durchführung der Bestrahlung mit Einzelpulsen konnte optisch und akustisch deutlich Blasenbildung bei allen untersuchten Pulsdauern detektiert werden. Aus zahlreichen Vitalitätsmessungen nahe der Zellschädigungsgrenze wurde die äquivalente Bestrahlungs-Dosis ED₅₀, die 50%ige Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Zellschadens, extrahiert. Entsprechend wurde die Mikroblasenbildung über das Auftreten akustischer und optischer Transienten ausgewertet und in **Abb. 3** dargestellt [25].

Es zeigt sich, dass bei 5-µs-Pulsdauer ein RPE-Schaden bei allen Proben immer mit Bildung von Mikroblasen einhergeht. Bei 12 der 480 applizierten 5-µs-Laserpulse konnte sogar Mikroblasenbildung ohne RPE-Schädigung nachgewiesen werden. Die Schwelle für RPE-Zellschädigung liegt um den Faktor 1,1 oberhalb der Schwelle für Mikroblasenbildung. Es ist sehr wahrscheinlich, dass hier die Blasenbildung an den ca. 100 Melanosomen pro Zelle zu einer kurzzeitigen Volumenvergrößerung führt, infolge derer die Zellmembran desintegriert wird. Es ist bekannt, dass Zellmembranen kleine Überdehnungen bis zu wenigen Prozent ausgleichen können [26], was das Überleben weniger Zellen auch bei Blasenbildung erklärt. Ein einfaches Modell zur Volu-

menvergrößerung als Funktion von Blasendurchmesser und -anzahl zeigt, dass viele kleine Blasen mit nur 1,5 µm Durchmesser schon zur Zelldisintegration führen, eine einzelne Blase mit 4 µm Durchmesser jedoch noch nicht [24].

Bei 50-µs-Pulsdauer wird an der ED₅₀-Bestrahlungsschwelle zur Zellschädigung nur noch in 16% der Fälle Nukleation nachgewiesen, sodass es bei dieser Pulslänge vorherrschend (84%) zu einer Zellschädigung ohne Mikroblasenbildung kommt. Bei 500 µs und 3 ms liegt die Schwelle für Blasenbildung mit dem Faktor 1,8 (500 µs) und 2,8 (3 ms) deutlich oberhalb der RPE-Schadensschwelle. Bei diesen „langen“ Bestrahlungen ist damit primär von einem rein thermischen Schaden auszugehen, wie er für ähnliche Bestrahlungsdauern auch anderweitig nachgewiesen wurde [21].

Zusammengefasst zeigen die experimentellen Ergebnisse, dass an der Schwelle zur Zellschädigung bei Einzelpulsen von 5 µs oder geringerer Dauer intrazelluläre Mikroblasenbildung höchstwahrscheinlich den Zellschaden initiiert, während bei Pulsdauern >50 µs rein thermische Schäden dominieren.

Bei der SRT wird zurzeit mit einem Pulszug repetitiv bestrahlt. Die verwendeten Laserparameter sind ± 30 Pulse einer Pulsdauer von je 1,7 µs, Repetitionsrate 100 Hz, Spotdurchmesser 200 µm. Mit diesen Werten liegt man im Bereich der thermomechanisch induzierten Zellschä-

digung durch Mikrovaporisation. Zu diesen SRT-Bestrahlungsparametern zeigt **Abb. 4** den berechneten Temperaturverlauf an der Oberfläche eines Melanosoms und in 10 µm Abstand zur Pigmentschicht. Es wurde eine typische bei SRT verwendete Pulsenergie von 120 µJ angenommen, von der 56% im RPE absorbiert wird. Appliziert auf einen Spotdurchmesser von 200 µm zeigen sich ausgeprägte Temperaturerhöhungen von 160 °C an der Oberfläche eines Melanosoms über einer sich langsam aufbauenden Untergrundtemperatur. In 10 µm Abstand ist diese nicht nennenswert abgeklungen, die Temperaturspitzen sind jedoch auf ca. 10 °C gefallen. Über die Applikationszeit von 300 ms ist damit selbst an den Außensegmenten der Photorezeptoren weder eine thermische noch eine thermomechanische Schädigung zu erwarten.

Optimale Pulsdauer für selektive RPE-Effekte

Es stellt sich die Frage, welche Pulsdauer für die SRT optimal ist. Benutzt man die Mikrovaporisation zur Zellschädigung, so sollten ns-Pulse gegenüber µs-Pulsen besser geeignet sein. Bei ns-Pulsdauern ist die Pulsenergie zum Erreichen der Nukleationstemperatur durch den vernachlässigbaren Wäremeabfluss am geringsten [15]. Bei der Vaporisation darf jedoch die Dynamik der schnellen, explosiven Verdampfung nicht außer Acht gelassen wer-

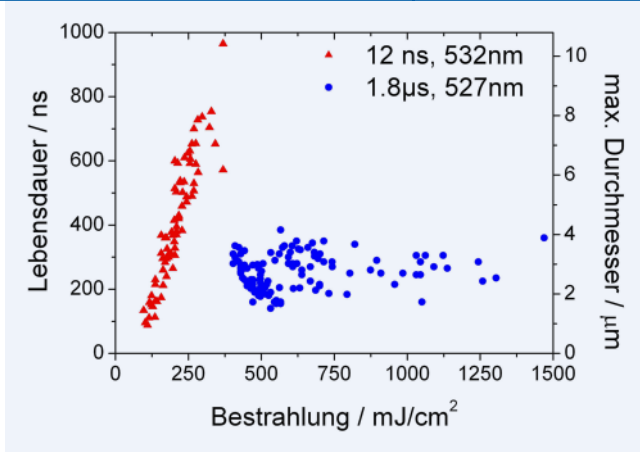


Abb. 5 ▲ Maximale Durchmesser und Lebensdauern von transienten Mikroblasen um einzelne Melanin granula in Suspension in Abhängigkeit von der Bestrahlung für Pulsdauern von 12 ns und 1,8 µs. Bei ns-Pulsdauern steigt die Blasengröße linear mit der Bestrahlung an. Bei µs Pulsdauern bleibt der maximale Durchmesser auf 4 µm beschränkt und es kommt zu Blasenoszillationen

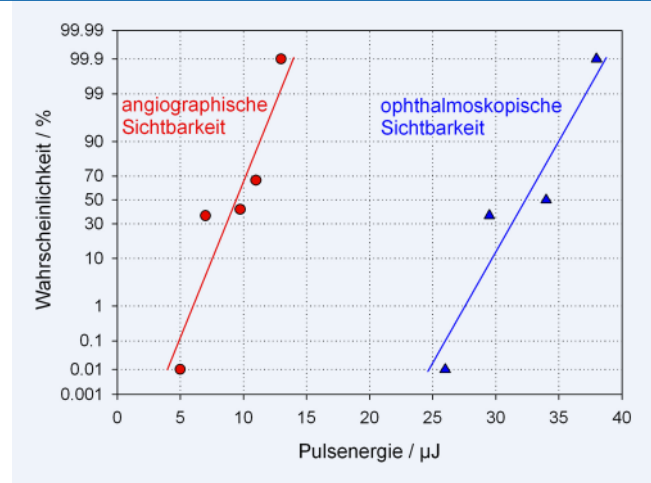


Abb. 6 ▲ Wahrscheinlichkeiten für das Auftreten eines angiographischen und sichtbaren (ophthalmoskopischen) Defekts am Fundus eines Kaninchens für 100 applizierte 1,7-µs-Pulse mit einer Repetitionsrate von 500 Hz

den, die potenziell zu einer mechanischen Schädigung der angrenzenden Photorezeptoren und Gefäße führen kann. Die mechanische Disruption von Photorezeptoren sowie Kapillaren und Gefäßen mit auftretenden Blutungen an der Netzhaut ist unbedingt zu vermeiden. Ferner muss berücksichtigt werden, dass die Pigmentierung und damit Absorption der Strahlung intra- und interindividuell z. T. deutlich unterschiedlich ist. Da die Pigmentierung nicht quantifizierbar ist, kann auch die nötige Pulsenergie nicht vor Behandlung abgeschätzt werden. Zudem ändert sich die Transmission des Auges mit Alter, Pathologie und eventueller Linsentrübung. Insgesamt muss daher die Bestrahlung innerhalb eines sog. „therapeutischen Fensters“ sicher sein. Selbst bei einer Bestrahlung deutlich oberhalb der ED₅₀-RPE-Schadensschwelle sollten noch keine Schäden anliegender Gewebe auftreten.

Zur Untersuchung der Schadensreichweite von Mikroblasen um Melanosome wurden diese mit Hilfe von Kurzzeitmikrophotographie sichtbar gemacht [27]. Hierzu wurde eine wässrige Melanosomensuspension verwendet, die aus frisch enukleiertem Schweine-RPE gewonnen wurde.

Messungen zur Blasendynamik zeigen dabei deutliche Unterschiede zwischen ns- und µs-Bestrahlungsdauer [27]. Bei Pulsen mit wenigen ns-Pulsdauern nimmt die Blasengröße und -lebensdauer

er mit steigender Pulsenergie aufgrund der steigenden Überhitzung von Wasser proportional zu (■ **Abb. 5**). Werden Melanosomen jedoch mit Mikrosekundenpulsen bestrahlt, so ist die maximale Blasengröße beschränkt auf 4 µm und unabhängig von der Pulsenergie (■ **Abb. 5**). Dieses erklärt sich wie folgt: Bei Schwellbestrahlung wird die Nukleationstemperatur, die bei etwa 140 °C liegt [16], am Ende des Laserpulses erreicht. Erhöht man die Pulsenergie, beginnt die Nukleation vor Ende des Pulses. Da nach Nukleation das Melanosom vom Wasser isoliert ist, wird es durch den Laserpuls zwar weiter erhitzt, was jedoch die Blasenexpansion nicht beeinträchtigt. Während die Blase wächst, kondensiert der in der Blase enthaltene Wasserdampf an ihrer Grenzfläche, und der Dampfdruck im Blaseninneren nimmt ab; dies führt letztlich zum Blasen kollaps. Ist der Laserpuls nun deutlich länger als die Blasenlebensdauer, startet der Nukleationsprozess nach Kollaps erneut, es kommt zu Blasenoszillationen. ■ **Abb. 5** zeigt, dass die Einzelblasen bei µs-Pulsdauer dabei nicht größer als 4 µm im Durchmesser werden, selbst 3-fach über der Nukleationsschwelle [27, 28].

Im Hinblick auf die SRT mit einem adäquaten therapeutischen Fenster und damit medizinisch sicherer Applikation scheinen die hier vorgestellten Ergebnisse zur Blasendynamik Mikrosekundenpulse gegenüber Pulsdauern weniger Nanosekunden zu favorisieren: Bei Mi-

krosekundenpulsen ist die maximale Blasengröße um ein Melanosom und damit der Schadensradius weitgehend unabhängig von der deponierten Energie, sodass die Wahrscheinlichkeit für eine ungewollte Schädigung der an das RPE angrenzenden Photorezeptoren durch Überdosierung der Laserstrahlung klein ist. Allerdings wird in diesen Experimenten das Zusammenwachsen von eng benachbarten Blasen, wie es in den dicht pigmentierten RPE-Zellen vorkommt, noch nicht berücksichtigt. Weiterführende interferometrische Messungen an RPE-Präparaten zeigen das Zusammenwachsen vieler Blasen ab etwa einem Faktor 2 oberhalb der Schwellwertbestrahlung zur Zellschädigung [28, 29]. Das Zusammenwachsen der Blasen tritt wahrscheinlich je eher auf, desto kürzer die applizierte Pulsdauer ist, da die Nukleationszeitpunkte an den verschiedenen Melanosomen mit abnehmender Pulsdauer zeitlich enger zusammenrücken. Untersuchungen an RPE-Präparaten zeigten bezüglich der Gesamtlebensdauer aller Mikroblasen pro Laserexposition jedoch keine gravierenden Unterschiede zwischen 350 ns und 1,7 µs Pulsdauer [28]. Abschließend lässt sich jedoch zurzeit die Frage der idealen Pulsdauer zur SRT noch nicht beantworten.

Studie zur Selektivität

Ein wichtiges Kriterium ist die Selektivität der SRT, d. h. die sichere Beschrän-

kung der Zellschädigung auf das RPE. In vivo lässt sich ein RPE-Defekt durch Fluoreszenzangiographie darstellen, da bei geschädigtem RPE die Blut-Retina-Schranke lokal geschädigt ist und Fluoreszenzmarker (Fluoreszein oder Indozyanin-Grün, ICG) von der Choriocapillaris in die Retina diffundieren können. Als sichtbare Netzhautschädigung wird die leichte Graufärbung des bestrahlten Areals gewertet, die sich optisch durch zunehmende Lichtstreuung aufgrund der Koagulation demarkiert. Zur detaillierten Untersuchung der jeweiligen Schädigungsschwellen wurde eine tierexperimentelle Studie an Chinchilla-Bastard-Kaninchen durchgeführt. Bei diesen ist die Dichte und Lokalisation der lichtabsorbierenden Pigmente im RPE denen des Menschen ähnlich. Ziel war die Bestimmung der Schwellenbestrahlung, bei der die angiographische und ophthalmoskopische Sichtbarkeit mit Wahrscheinlichkeiten von 14, 50 und 86% auftreten. Das Verhältnis der 86%igen Wahrscheinlichkeit einer angiographisch sichtbaren RPE-Leckage zu der 14%igen Wahrscheinlichkeit einer optischen Sichtbarkeit wurde als sog. therapeutisches Fenster für selektive RPE-Effekte definiert. Mit einem gütegeschalteten, frequenzverdoppelten Nd:YLF-Laser einer Wellenlänge von 527 nm, dessen Pulsdauer, Pulsenergie und Repetitionsrate variiert werden kann [15], wurde für verschiedene Parameter und Expositionszahlen das therapeutische Fenster bestimmt [30]. In **Abb. 6** wird exemplarisch ein Probit-Plot [31] für 100 Pulse gezeigt, die mit einer Pulsfolgerate von 500 Hz bei einer Pulsdauer von 1,7 μ s auf einen Spotdurchmesser von rechnerisch 102 μ m auf der Retina appliziert wurden. Aus dem Plot lassen sich die entsprechenden Schwellen extrahieren.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse für Pulsdauern von 200 ns und 1,7 μ s bei einer Repetitionsrate von 100 Hz zeigt **Tab. 1** [32]. Bei allen untersuchten Parametern mit einer Frequenz von 100 Hz ergab sich ein deutlicher Unterschied zwischen angiographischer und ophthalmoskopischer Schwelle. Es wurde eine Abnahme der ED₅₀-Werte mit geringerer Pulsdauer (bis auf die Applikation von 100 Pulsen mit 1,7 μ s-Pulsdauer, die statistisch

Tab. 1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Pulsdauer	Pulszahl	ED ₅₀ ophth [mJ/cm ²])	ED ₅₀ ang [mJ/cm ²]	ED ₅₀ ophth/ ED ₅₀ ang	Therapie- fenster ED ₁₄₀ ophth/ ED ₈₆ ang
200 ns	1	354	123	2,9	1,1
200 ns	10	335	89	3,7	1,6
200 ns	100	249	42	5,9	2,9
1,7 μ s	1	461	282	1,6	0,6
1,7 μ s	10	312	123	2,5	1,0
1,7 μ s	100	356	131	2,7	1,7

Pulsdauern von 200 ns und 1,7 μ s bei einer Repetitionsrate von 100 Hz

nicht signifikant ist) sowie mit einer Erhöhung der Pulsanzahl gefunden.

Blutungen oder Rupturen an der Netzhaut wurden im gesamten untersuchten Bereich dabei nicht gefunden. Das therapeutische Fenster steigt mit zunehmender Pulsanzahl, die höchsten Werte wurden dabei für 100 applizierte Pulse bei 200 ns Pulsdauer gefunden, gefolgt von 1,7 μ s (**Tab. 1**).

Unter der Hypothese der Übertragbarkeit der Daten auf den Menschen lässt sich damit für die SRT feststellen, dass mit einer Pulszahl von 100 Pulsen sicher bestrahlt werden kann. Nach diesen Ergebnissen kommen als Pulsdauer 200 ns bis zu 1,7 μ s in Frage. Weitere Untersuchungen haben gezeigt, dass das therapeutische Fenster bei 5- μ s-Pulsen bereits deutlich kleiner ist [30]. Ferner ergaben Messungen bereits einen deutlichen Anstieg der Hintergrundtemperatur und damit des Risikos thermischer Schädigung bei einer Applikationsrate von 500 Hz gegenüber 100 Hz auch bei Pulsdauern von 1,7 μ s [33].

Die hier vorgestellten Ergebnisse geben allerdings keine Auskunft über mögliche mechanisch induzierte Schäden an den Photorezeptoren oder der neuralen Netzhaut, die sich nicht zwingend über zunehmende Lichtstreuung (Graufärbung) optisch demarkieren. Ferner können Untersuchungen an jungen, gesunden Kaninchenaugen wohl nur sehr begrenzt auf pathologische altersveränderte humane Augen übertragen werden.

Klinische Bestrahlung

Für die klinische Erprobung in einer ersten Multizenterstudie wurde ein spezielles SRT-Lasersystem entwickelt (Medi-

zisches Laserzentrum Lübeck GmbH, SRT-Laser). Die Basis bildet ein über Laserdioden angeregter, gütegeschalteter Nd:YLF-Laser. Durch resonatorinterne Frequenzverdopplung in Überkopplung werden Pulse einer Wellenlänge von 527 nm mit einer Pulsdauer von 1,7 μ s generiert [34], wobei diese Pulsdauer aus den oben diskutierten Sicherheitsaspekten heraus gewählt wurde. Auf jeden Expositionsherd der Netzhaut werden 30 Pulse mit einer Repetitionsrate von 100 Hz auf einen retinalen Spotdurchmesser von 210 μ m appliziert. Die Bestrahlungsdauer pro Areal liegt damit bei 300 ms und somit im Fenster der normalen Photokoagulation.

Die Bestrahlungen am Patienten bestätigen die Ergebnisse am Kaninchen: Bei richtiger Dosierung im therapeutischen Fenster sind bei der SRT im Gegensatz zur konventionellen Photokoagulation optisch keine Laserläsionen zu erkennen. Fluoreszenzangiographisch können jedoch an den Applikationsorten deutlich Leckagen (in **Abb. 7** exemplarisch gezeigt) nachgewiesen werden. Die abgeschätzten Schwellwerte zur RPE-Leckage am Menschen liegen mit ca. 250–500 mJ/cm² (30 Pulse je 1,7 μ s appliziert mit 100 Hz), je nach Auge und Pathologie, jedoch deutlich über denen am Kaninchen (in vivo) und an Schweine-RPE (ex vivo mit Vitalitätsassay) bestimmten Werten [15, 16]. Ursächlich hierfür sind vermutlich die deutlich höhere Absorption des RPE von Schwein und Kaninchen sowie die im Durchmesser kleineren humanen Melanosomen mit $0,71 \pm 0,26 \mu$ m [35], die damit eine schnellere Wärmediffusion und eine höhere Nukleationstemperatur aufweisen. Bei Bestrahlung zweifach oberhalb der angiographischen

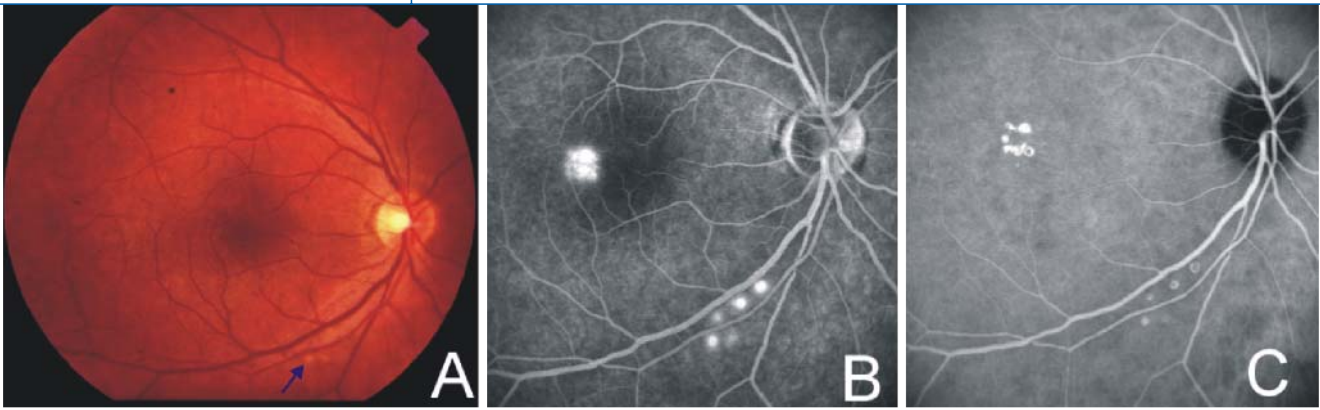


Abb. 7 ▲ **a** Fundusfotografie einer RCS nach SRT. **b** Fluoreszeinangiographie nach SRT. **c** ICG-Angiographie nach SRT. Die hellen Punkte der Angiographien im Gefäßbogen markieren die SRT-Testläsionen, die zur Dosimetrie mit unterschiedlichen Pulsenergien vor der Behandlung gesetzt werden. Die Punkte im Zentrum zeigen die Laserherde der Behandlung. Die zarte Verfärbung (Pfeil in **a**, höchste Pulsenergie der Testläsionsreihe) bezeichnet die Grenze zur Sichtbarkeit

Schwelle werden bei Testläsionen im Gefäßbogen erste sichtbare, leichte Graufärbungen beobachtet, sodass ein therapeutisches Fenster bei obigen Parametern von einem Faktor 2 ähnlich der am Kaninchen gefundenen Werte bestätigt wurde. Niedrigste, ophthalmoskopisch sichtbare Herde werden bei Pulsenergien von ca. 200 μJ (550 mJ/cm²) registriert. Die mittlere Laserleistung bei der SRT liegt unter 20 mW und ist somit etwa eine Größenordnung geringer als bei konventioneller Photokoagulation.

Die ersten klinischen Ergebnisse zur Pilotstudie sind bereits veröffentlicht [36, 37, 38], die Publikationen zur SRT-Multicenter-Studie sind in Vorbereitung. Insbesondere sind bisher die Ergebnisse bei persistierender Retinopathia centralis serosa sehr ermutigend [39]. Bei diabetisch bedingten Makulaödemern verbesserte oder stabilisierte sich der Visus nach 6 Monaten bei 84,5% aller Patienten [40]. Weitere, bereits begonnene Studien werden zeigen, ob kürzere Pulsdauern und/oder geänderte Applikationsparameter möglicherweise sicherheitstechnisch und therapeutisch noch besser für die SRT geeignet sind.

Online-Dosimetrie

Aufgrund der optischen Unsichtbarkeit der Läsionen und der individuellen Variation der Bestrahlungsschwellwerte sowie des therapeutischen Fensters ist eine richtige Dosierung der Strahlung sehr kritisch. Aus diesem Grund wurde für die klinischen Studien folgende Handlungs-

strategie festgelegt: Ein aktuelles Angiogramm dient zur Diagnose und zur Lokalisation der Erkrankung, die mit SRT behandelt werden soll. Zur Festlegung der Dosierung werden zunächst mit aufsteigender Energie Läsionen am Gefäßbogen erzeugt. Hierauf wird eine zweite Angiographie durchgeführt, um festzustellen, bei welcher Pulsenergie erstmals eine Leckage eintritt. Mit dieser Pulsenergie wird anschließend die eigentliche SRT-Behandlung durchgeführt. Eine Stunde im Anschluss an die SRT erfolgt eine erneute Angiographie, um den selektiven RPE-Effekt im Behandlungsareal zu dokumentieren. Wird mittels SRT eine RPE-Läsion erzeugt, ist dies an einer punktförmigen Hyperfluoreszenz mit zarter Leckage in der Spätphase der FL- und ICG-Angiographie zu erkennen. Wird keine Leckage oder werden deutlich weniger Herde als per Laser appliziert gefunden, so wird mit höherer Pulsenergie nachbehandelt.

Aufgrund der Notwendigkeit und Aufwändigkeit mehrerer Angiographien besteht daher Bedarf an einem nichtinvasiven Online-Detektionsverfahren zum Monitoring der RPE-selektiven Effekte. Idealerweise sollte dieses dem behandelnden Ophthalmologen direkt während der Behandlung eine Dosimetrieontrolle ermöglichen. Ein automatisches Monitoringssystem ist für die Reproduzierbarkeit der Behandlung und die potenzielle Verbreitung der SRT insbesondere außerhalb von Universitätskliniken unerlässlich.

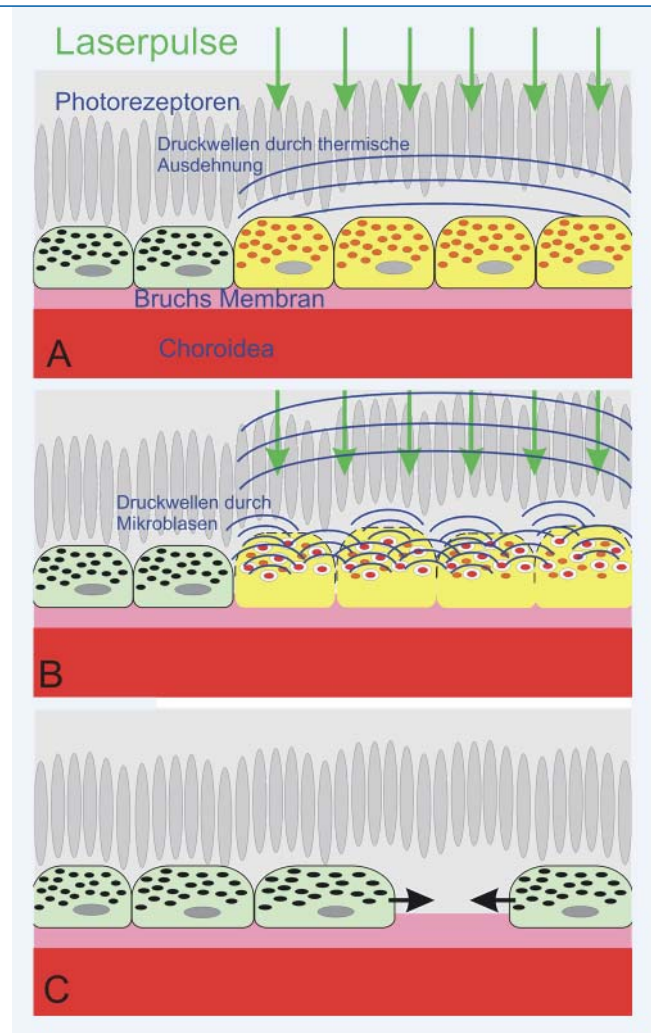
Nachdem zahlreiche Untersuchungen zeigten, dass die selektiven RPE-Schäden höchstwahrscheinlich auf mikroblasenin-

duzierter Zelldisruption basieren [15, 16, 25, 41], ist es naheliegend, die Formation von Mikroblasen als Erfolgskriterium zur Dosimetrie zu verwenden. Zur Blasendetektion bieten sich prinzipiell optische [16, 25, 42] und akustische [16, 42] Verfahren an. Erste Abschätzungen zum Signal/Untergrund favorisierten ein akustisches Verfahren. In **Abb. 8** ist die Entstehung von Druckwellen bei Laserbestrahlung skizziert. Zunächst kommt es durch die Pulse zur Erhitzung der Melanosomen und durch Wärmeableitung auch der unmittelbaren Umgebung (s. oben). Dieses bewirkt eine thermoelastische Ausdehnung des Gewebes mit der Emission einer Druckwelle. Aus der thermoelastischen Expansion lässt sich auf die aktuelle Temperatur im Behandlungsareal schließen, sowohl bei der SRT [33] als auch bei anderen kontinuierlichen Laserbehandlungen an der Retina [44]. Bei der SRT kommt es nach Überschreitung der Vaporisationstemperatur zur Mikroblasenbildung an den einzelnen Melanosomen mit der jeweiligen Emission einzelner Druckwellen von jedem Melanosom, induziert durch die Blasendynamik. Die Ultraschallwellen mit Frequenzen im Megahertzbereich durchqueren das Auge und können nicht invasiv an der Hornhaut des Auges gemessen werden. Hierzu wurde in ein zur Behandlung routinemäßig eingesetztes Kontaktglas (Mainster, OM-RA-S) ein Ultraschallwandler integriert (**Abb. 9**). Die verstärkten Signale können dann mit einer geeigneten Datenaufnahme gemessen und per PC instantan ausgewertet und angezeigt werden.

In **Abb. 10** werden typische akustische Transienten einer Patientenbehandlung gezeigt. Es wurden hier alle 30 Transienten eines Pulszugs zeitrichtig überlagert [41]; **Abb. 10a** zeigt eine typische thermoelastische bipolare Druckwelle bei Bestrahlung unterhalb des Schwellwerts für Blasenbildung, **Abb. 10b** oberhalb der Schwelle. Der zeitliche Verlauf der Transienten ist lokal unterschiedlich. Überschreitet man den Schwellwert, so finden sich nach dem ersten Druckmaximum deutliche Abweichungen in Zeit und Amplitude der Signale aufeinanderfolgender Laserpulse. Diese Puls-zu-Puls-Schwankungen treten erst nach der ersten Erhitzung auf. Das erste Maximum des Signals bleibt bei allen Transienten gleich und ist der thermischen Gewebeausdehnung zuzuschreiben. Die zeitlichen Abweichungen sind auf die bei jedem Einzelpuls statistisch anders einsetzende Mikroblassenbildung zurückzuführen. Aus diesen Abweichungen des Signals vom Mittelwert wurde mit einem mathematischen Algorithmus ein sog. „optoakustischer“ Wert (OA-Wert) extrahiert, der ein Maß für die maximale Abweichung zum Mittelwert des Drucksignals darstellt. Eine ausführliche Beschreibung des Algorithmus ist publiziert in [43]. In vitro Untersuchungen konnten zeigen, dass dieses Verfahren äußerst empfindlich ist und bereits die Schädigung einzelner Zellen eines großen Areals bei sehr schweltnaher Bestrahlung detektierbar macht [41].

Um die Korrelation des akustischen Werts zur bisher als Kriterium verwendeten Leckage am RPE aufzuzeigen, wurden bei mehreren Patienten zunächst exemplarisch OA-Werte einzelner Laserläsionen und deren fluoreszenzangiographische Leckage für die Testläsionen korreliert [43]. Eine Stunde nach der Testbestrahlung im Gefäßbogen wurden eine FL- und eine ICG-Angiographie durchgeführt. In den Spätphasen der Angiographien wurde die Sichtbarkeit der gesetzten Herde beurteilt. In der FLA wurde die Sichtbarkeit durch die Leckage in den Expositionsarealen definiert. In der ICGA zeigte sich die Sichtbarkeit durch einen Fensterdefekt im Bereich der Herde. Anhand einer während der Behandlung durchgeführten Kartographie konnte den Herden sowohl

Abb. 8 ▶ Skizze zur selektiven RPE-Schädigung. **a** Nach Beginn der Bestrahlung mit einem μs -Laserpuls erwärmen sich die Melanosomen und dehnen sich damit thermisch aus, was zur Emission thermoelastischer Druckwellen führt. **b** Gegen Ende des Laserpulses wird die Verdampfungsschwelle an den Melanosomen überschritten und es kommt statistisch verteilt zur Mikroblassenbildung mit der Emission zusätzlicher Druckwellen durch die Blasedynamik. Die RPE-Zellen werden sehr wahrscheinlich durch kurzzeitige Volumenvergrößerung aufgrund der Mikroblassen desintegriert. **c** Im Heilungsverlauf werden die zerstörten RPE-Zellen abgebaut, umliegende RPE-Zellen restaurieren durch Proliferation und Migration den Defekt



die Behandlungsenergie als auch der entsprechende OA-Wert zugeordnet werden. Exemplarisch sind in **Abb. 11** die OA-Werte und Pulsenergien von 2 Patientenbehandlungen aufgetragen. Hieraus wird deutlich, dass sich die benötigten Behandlungsenergien, definiert als die geringste Energie, die zu einer Leckage geführt hat, um den Faktor 2 unterscheiden können (160 μJ zu 330 μJ). Ursächlich können die optischen Eigenschaften des Auges ebenso wie der Pigmentierungsgrad des Fundus verantwortlich sein. Gleichzeitig können die bei Patient 1 benötigten Behandlungsenergien (>330 μJ) bei Patient 2 bereits zu ophthalmoskopisch sichtbaren Läsionen führen. Betrachtet man die zugehörigen OA-Werte, so bilden sie diesen Sachverhalt deutlich ab.

In **Abb. 12** werden die OA-Daten der Testexpositionen von 40 Patientenbehandlungen der SRT-Multicenterstudie – aufgeteilt in Gruppen bezüglich ih-

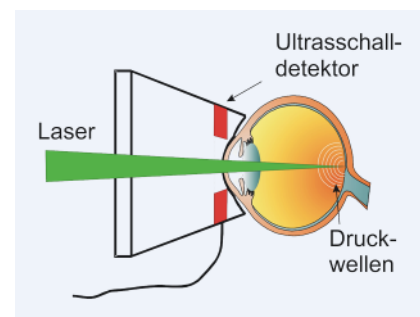


Abb. 9 ▲ Kontaktglas mit integriertem Ultraschallwandler zur Mikroblassendetektion

rer angiographischen (Angio+/Angio-) – und ihrer ophthalmoskopischen Sichtbarkeit gezeigt. Anhand des Vergleichs der optoakustischen Daten mit der angiographischen Sichtbarkeit zeigten sich ein wachsender OA-Wert mit zunehmendem angiographischem Effekt. Über eine statistische Korrelation der Daten lässt sich ein optoakustischer Schwellenwert bestimmen, oberhalb dessen mehr als 95%

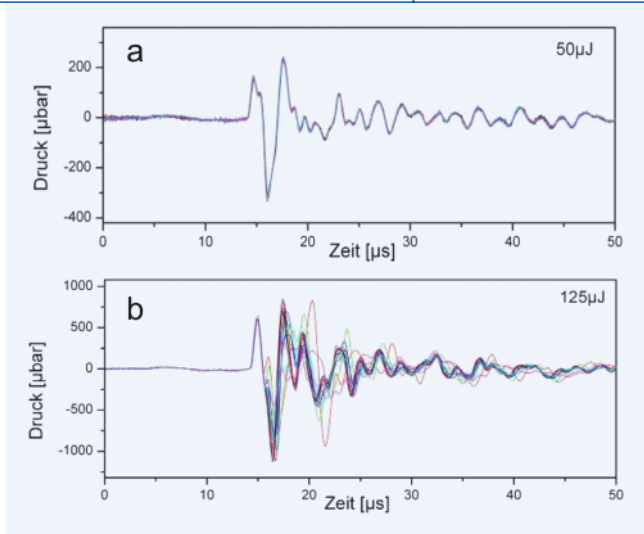


Abb. 10 ▲ Drucktransienten gemessen bei Patientenbehandlung. Die jeweils 30 Druckwellen eines Pulszugs sind exakt zeitrichtig überlagert. **a:** Bestrahlung mit 50 µJ/Puls unterhalb der RPE-Schadensschwelle, thermoelastische Druckwellen durch Erwärmung des RPE. **b:** Bestrahlung mit 125 µJ/Puls oberhalb der RPE-Schadensschwelle. Deutlich sind thermoelastische und mit kurzer Verzögerung blaseninduzierte Druckwellen unterscheidbar. Jeder einzelne Laserpuls führt jetzt aufgrund der statistischen Blasenbildung zu unterschiedlichen Druckwellen

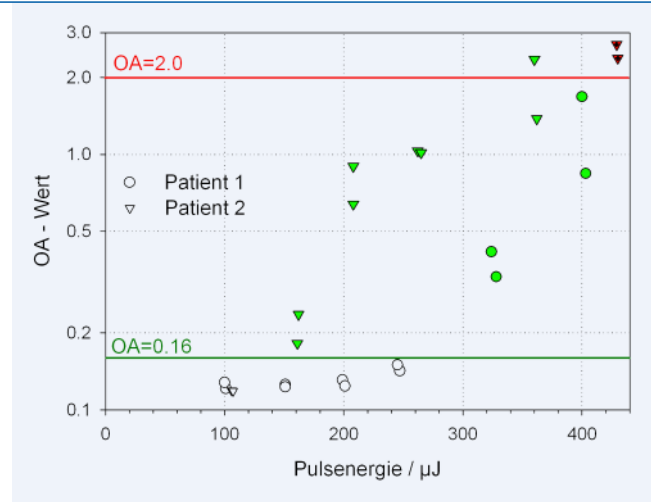


Abb. 11 ▲ Aufgetragen sind die OA-Werte bezogen auf die Behandlungsenergie bei 2 Patienten für jeweils jeden Laserherd. Alle ungefärbten Spots waren angiographisch nicht sichtbar, alle grün markierten zeigten eine angiographische Leckage. Die roten Werte bei 430 µJ zeigen 2 ophthalmoskopisch sichtbare Läsionen. Deutlich wird, dass sich die minimalen Behandlungsenergien pro Patient, die zu einer angiographisch sichtbaren Läsion führen, um den Faktor 2 unterscheiden (160 µJ zu 330 µJ). Sinnvolle OA-Grenzwerte sind bei OA=0,16 (Schwelle zur angiographischen Leckage) und OA=2,0 (Grenze zu optisch sichtbaren Läsionen)

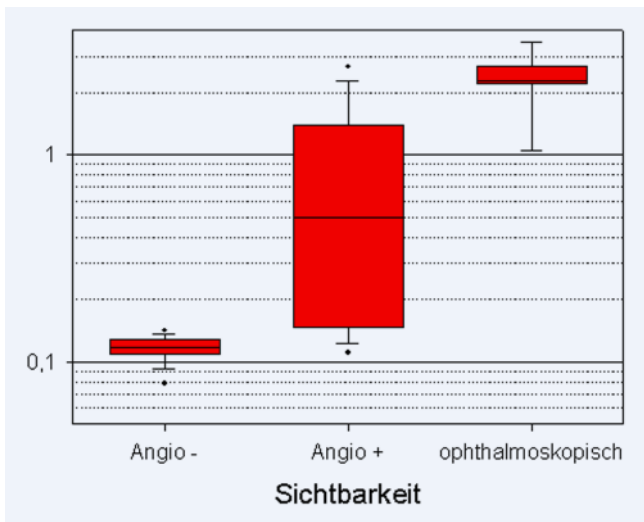


Abb. 12 ▲ Box-Whisker-Plots_(10–90%) der ausgewerteten OA-Werte aufgeteilt in 3 Gruppen bezüglich der angiographischen und der ophthalmoskopischen Sichtbarkeit. Deutlich wird die nur geringe Streubreite der „Angio“-Gruppe. Statistisch ergaben sich Schwellen-OA-Werte zu $ED_{5ang}=0,18$ für die angiographische und $ED_{5opt}=0,97$ für die ophthalmoskopische Sichtbarkeit

der gesetzten Herde angiographisch sichtbar werden ($ED_{95ang}=0,18$). Zugleich lässt sich auch ein optoakustischer Schwellenwert für das Auftreten einer ophthalmoskopisch sichtbaren Läsion und einem konsekutiv auftretenden Gesichtsfelddefekt bestimmen ($ED_{5opt}=0,97$).

Insgesamt definiert sich damit ein therapeutischer OA-Wertebereich von 0,18–

0,97 ($ED_{95ang}-ED_{5opt}$). Es ergibt sich ein therapeutisches OA-Werte-Fenster für die Patientenbehandlung von einem OA-Faktor >5 als Verhältnis von optisch zu angiographisch sichtbarem Effekt. Das therapeutische Behandlungsfenster bezüglich der Pulsenergie ist meist größer als ein Faktor 2. Bei interindividuell unterschiedlichen Behandlungsenergien zeigt sich da-

mit der OA-Wert als valider Parameter zur Detektion der angiographischen Sichtbarkeit und ist damit als Dosimetrieparameter bei der SRT gut geeignet.

Ausblick

Das Potenzial der SRT für verschiedene Krankheitsbilder wird sicher erst nach weiteren klinischen Studien besser determinierbar sein. Zurzeit sind weder die optimalen Bestrahlungsparameter noch die Behandlungsstrategie und Applikationsgeometrie der Laserherde bekannt, die bisher nur an die konventionelle Photokoagulation angelehnt wurden. Alternativ zur gepulsten SRT könnte insbesondere die Applikationsgeometrie bei einer mit einem kontinuierlichen Laserstrahl scannend durchgeführten SRT [45, 46] mit beliebig wählbaren Mustern vorteilhaft sein.

Die zum jetzigen Zeitpunkt vorliegenden klinischen Studienergebnisse von verschiedenen Makulopathien zeigen aber, dass die SRT ein sicheres Laserverfahren für selektive RPE-Effekte ist [39, 40, 47, 48]. Besonders aufgrund der scheinbar nebenwirkungsfreien Applikation ist die SRT auch im Frühstadium verschiedener Pathologien einsetzbar, für die zurzeit

keine konventionelle Behandlung indizierbar ist. Durch den Einsatz der optoakustischen Online-Dosimetrie sollte die SRT auch für den außerklinischen Routineeinsatz praktikabel sein, da sie aufwändige Angiographien zur Demarkierung der Lasereffekte obsolet macht.

Korrespondierender Autor

Dr. R. Brinkmann

Institut für Biomedizinische Optik der Universität zu Lübeck
Peter-Monnik-Weg 4, 23562 Lübeck
brinkmann@bmo.uni-luebeck.de

Danksagung. Die Autoren danken dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die Förderung des Projekts (FKz: 13N7309 und 01EZ0408), dem Studiensponsor Lumenis Inc. sowie Christian Wacker.

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor weist auf eine Verbindung mit folgender Firma hin: Lumenis Inc. - Sponsor der Multicenterstudie. Trotz des möglichen Interessenkonflikts ist der Beitrag unabhängig und produktneutral.

Literatur

- Bresnick G (1983) Diabetic maculopathy: A critical review highlighting diffuse macular edema. *Ophthalmology* 90: 1301–1317
- Figueroa M, Regueras A, Bertrand J et al. (1997) Laser photocoagulation for macular soft drusen. *Retina* 17: 378–384
- Gabel VP (1974) Die Lichtabsorption am Augenhintergrund. Habilitation an der Ludwig-Maximilians-Universität München
- Schrärmeyer U, Heimann K (1999) Current understanding on the role of retinal pigment epithelium and its pigmentation. *Pigment Cell Res* 12: 219–236
- Ramrattan RS, van der Schaft T, Mooy C et al. (1994) Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35: 2857–2864
- Moore DJ, Hussain AA, Marshall J (1995) Age-related variation in the hydraulic conductivity of Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 36: 1290–1297
- Roider J, Michaud NA, Flotte TJ et al. (1992) Response of the Retinal Pigment Epithelium to Selective Photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 110: 1786–1792
- Roider J, Hillenkamp F, Flotte TJ et al. (1993) Microphotocoagulation: Selective effects of repetitive short laser pulses. *Proc Natl Acad Sci* 90: 8643–8647
- Anderson RR, Parrish JA (1983) Selective Photothermolysis: Precise Microsurgery by Selective Absorption of Pulsed Laser Radiation. *Science* 220: 524–527
- Ross EV (2001) Extended Theory of Selective Photothermolysis: A New Recipe for Hair Cooking? *Lasers Surg Med* 29: 413–415
- Parrish JA, Anderson RR, Harrist T et al. (1983) Selective Thermal Effects with Pulsed Irradiation from Lasers: From Organ to Organelle. *J Invest Dermatol* 80: 75–80
- Goldman L, Rockwell J, Meyer R et al. (1967) Laser Treatment of Tattoos: A Preliminary Survey of Three Years' Clinical Experience. *JAMA* 201: 841–844
- Dover JS, Arndt KA (2000) New Approaches to the Treatment of Vascular Lesions. *Lasers Surg Med* 26: 158–163
- Glickman RD, Jacques SL, Hall RT et al. (2001) Revisiting the Internal Absorption Coefficient of the Retinal Pigment Epithelium Melanosome. *Proc SPIE* 4257: 134–141
- Brinkmann R, Hüttmann G, Rögner J et al. (2000) Origin of retinal pigment epithelium cell damage by pulsed laser irradiance in the nanosecond to microsecond time regimen. *Lasers Surg Med* 27: 451–464
- Neumann J, Brinkmann R (2005) Boiling nucleation on melanosomes and microbeads transiently heated by nanosecond and microsecond laser pulses. *J Biomed Optics* 10: 024001
- Birngruber R, Hillenkamp F, Gabel VP (1983) Experimental studies of laser thermal retinal injury. *Health Phys* 44: 519–531
- Carslaw HS, Jaeger JC (1959) Conduction of heat in solids. Oxford at the Clarendon Press, 2nd edition
- Hüttmann G (2002) Mechanismen der selektiven Schädigung des RPE: Modellrechnungen. Forschungs- und Entwicklungsbericht, Medizinisches Laserzentrum Lübeck, S 19–20
- Gabel VP, Birngruber R, Hillenkamp F (1978) Visible and near infrared light absorption in pigment epithelium and choroid. *Congress Series: XXIII Concilium Ophthalmologicum* 450: 658–662
- Birngruber R, Hillenkamp F, Gabel VP (1985) Theoretical investigations of laser thermal retinal injury. *Health Phys* 48: 781–796
- Vassiliadis A, Zweng HC, Peppers NA et al. (1970) Thresholds of laser eye hazards. *Arch Environ Health* 20: 161–170
- Roider J, El-Hifnawi ES, Birngruber R (1998) Bubble Formation as Primary Interaction Mechanism in Retinal Laser Exposure With 200-ns Laser Pulses. *Las Surg Med* 22: 240–248
- Neumann J, Brinkmann R (2005) Nucleation and dynamics of bubbles forming around laser heated microabsorbers. *Proc SPIE* 5863: 19–27
- Schüle G, Rumohr M, Hüttmann G et al. (2005) RPE damage thresholds and mechanisms for laser exposure in the μ s to ms time regimen. *Inv Ophthalmol Vis Sci* 46: 714–719
- Needham D, Nunn RS (1990) Elastic deformation and failure of liquid bilayer membranes containing cholesterol. *Biophysical J* 58: 997–1009
- Neumann J, Brinkmann R (2003) Microbubble dynamics around laser heated microparticles. *Proc SPIE* 5142: 82–87
- Neumann J (2005) Mikroskopische Untersuchungen zur laser-induzierten Blasenbildung und -dynamik an absorbierenden Mikropartikeln. Dissertation, Universität zu Lübeck
- Neumann J, Brinkmann R (2006) Cell disintegration by laser induced transient microbubbles and its simultaneous monitoring by interferometry. *J Biomed Opt* 11: 039604, 1–11
- Framme C, Schüle G, Roider J et al. (2002) Threshold determinations for selective RPE damage with repetitive pulsed microsecond laser systems in rabbits. *Ophthalmic Surg Las* 33: 400–409
- Finney DJ (1971) Probit Analysis, 3. edition. Cambridge University Press
- Framme C, Schüle G, Roider J et al. (2004) Influence of pulse duration and pulse number in selective RPE laser treatment. *Las Surg Med* 34: 206–215
- Schüle G, Hüttmann G, Framme C J et al. (2004) Non-invasive optoacoustic temperature determination at the fundus of the eye during laser irradiation. *J Biomedical Optics* 9: 173–179
- Kracht D, Brinkmann R (2004) Green Q-switched microsecond laser pulses by overcoupled intracavity second harmonic generation. *Optics communication* 231: 319–324
- Feeney L, Grieshaber JH, Hogan MJ (1965) Studies on human ocular pigment. *Eye Structure, II. Suppl. Ed. (Ed. Rohen). Schattauer*
- Roider J, Brinkmann R, Birngruber R (2003) Selective retinal pigment epithelium laser treatment – Theoretical and clinical aspects. In: Fankhauser F, Kwasniewska S (eds) *Lasers in Ophthalmology – Basic, Diagnostic and surgical Aspects*. Kugler Publications, The Hague, pp 119–129
- Roider J, Brinkmann R, Wirbelauer C et al. (1999) Retinal sparing by selective retinal pigment epithelial photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 117: 1028–1034
- Roider J, Brinkmann R, Wirbelauer C et al. (2000) Subthreshold (retinal pigment epithelium) photocoagulation in macular diseases: a pilot study. *Br J Ophthalmol* 84: 40–47
- Elsner H, Pörksen E, Klatt C et al. (2006) Selective Retina Therapy (SRT) in patients with central serous chorioretinopathy (CSC). *Graefes Arch Ophthalmol* (in print), on-line: DOI 10.1007/s00417-006-0368-5
- Elsner H, Liew SHM, Klatt C et al. (2006) Selektive Retina Therapie (SRT) bei Patienten mit diabetischer Makulopathie. *Ophthalmologie* 103
- Schüle G (2002) Mechanismen und On-line Dosimetrie bei selektiver RPE Therapie. Dissertation, Universität zu Lübeck
- Roegner J, Brinkmann R, Lin CP (2004) Pump-probe detection of laser-induced microbubble formation in retinal pigment epithelium cells. *Biomedical Optics* 9: 367–371
- Schüle G, Elsner H, Framme C et al. (2005) Optoacoustic real-time dosimetry for selective retina treatment. *J Biomed Opt* 10: 064022, 1–11
- Kandulla J, Elsner H, Birngruber R et al. (2006) Non-Invasive Optoacoustic Online Retinal Temperature Determination During CW-Laser Irradiation. *J Biomed Optics* 11: 010604, 1–13
- Alt C, Framme C, Schnell S et al. (2005) Selective targeting of the retinal pigment epithelium using an acousto-optic laser scanner. *J Biomed Opt* 10: 64014
- Brinkmann R, Koop N, Özdemir M et al. (2003) Targeting the Retinal Pigment Epithelium (RPE) by Means of a Rapidly Scanned Continuous Wave (CW) Laser Beam. *Las Surg Med* 32: 252–264
- Klatt C, Elsner H, Pörksen E et al. (2006) Selektive Retina-Therapie (SRT) bei Retinopathia centralis serosa (RCS) mit Pigmentepithel-abhebung (PED). *Ophthalmologie* 103:850-856
- Liew M et al. (2006) Multicenterstudy for Selective Retina Treatment (SRT) (in preparation)