

Selektive Behandlung des RPE unter Verwendung eines gescannten CW-Laserstrahls im Kaninchenmodell

Die retinale Laserphotokoagulation wird üblicherweise mit einem Dauerstrich- (CW-)Laser mit 514 nm Wellenlänge und Expositionszeiten von 100 bis 200 ms durchgeführt. Damit kommt es aufgrund der langen Bestrahlungszeiten zu einer thermischen Denaturierung der gesamten Netzhaut. Diese imponiert ophthalmoskopisch als Weißfärbung. Histologische Studien zeigen neben der Zerstörung des retinalen Pigmentepithels (RPE) als primäre Absorptionsstruktur von Laserenergie dieser Wellenlänge ebenfalls eine irreversible Schädigung der äußeren und inneren Segmente der neurosensorischen Netzhaut [8, 14]. Zwar können eine Reihe von makulären Erkrankungen erfolgreich mit dieser konventionellen Laserbehandlung therapiert werden, jedoch erkaufte man sich den Behandlungserfolg jeweils mit einer Zerstörung intakter Netzhaut und einem konsekutiven Laserskotom. Dies ist ein Problem, welches bei relativ zentraler Behandlung auch nach Jahren noch zu einem schweren Visusverlust durch Vergrößerung der Lasernarben führen kann. Zieht man in Betracht, dass viele makuläre Erkrankungen, wie z. B. die diabetische Makulopathie (DMP), die Chorioretinopathia centralis serosa oder auch weiche konfluierende Drusen im Rahmen der altersabhängigen Makuladegeneration neben möglichen Störungen

der inneren Blut-Retina-Schranke wie bei der DMP vermutlich auf einer Dysfunktion des RPE beruhen [9], dann sollte die thermische Denaturierung der sensorischen Retina unnötig und die selektive Laserbehandlung der RPE-Zellen die ideale Behandlungsmaßnahme sein. Da das RPE aufgrund seiner hohen Melanindichte Hauptabsorber von Laserenergie im sichtbaren Wellenlängenbereich ist, kann mit repetitiven kurzen Laserpulsen von etwa 5 µs, die ungefähr so lang wie die thermale Relaxationszeit sind, ein selektiver Schaden des RPE erreicht und aufgrund der dadurch fehlenden Wärmeabgabe an die Umgebung die Photorezeptorschicht geschont werden [9, 10]. Histologische Untersuchungen zeigen dabei – ebenfalls wie der konservative Laseransatz – postoperativ eine Deckung des RPE-Defekts durch Migration und Zellproliferation [4]. Dies führt vermutlich insgesamt zu einer verbesserten „Pumpfunktion“ und einer Regeneration der „Tight junctions“ des RPE, wodurch dann wiederum ein Ödem oder Drusen verschwinden können.

Wenn also mit kurzen Laserpulsen unter 5 µs ein selektiver RPE-Schaden erreicht werden kann, so sollte dieses prinzipiell auch möglich sein, wenn der Laserstrahl eines CW-Lasers kontinuierlich mit einer solchen Geschwindigkeit über die Netzhaut gescannt wird, dass jede Zelle le-

diglich für maximal 5 µs bestrahlt wird. So haben Brinkmann et al. bereits mit einem „multimode“-glasfasergespeisten Laserscanner in vitro die selektive RPE-Bestrahlung demonstriert [3]. Eine hohe Flexibilität und das Potenzial automatisierter Bestrahlung könnten die Vorteile eines solchen Laserscanners sein. Es war daher Ziel der vorliegenden Studie zu zeigen, ob eine selektive RPE-Lasertherapie mit einem gescannten CW-Laser auch in vivo am Kaninchenmodell möglich ist.

Material und Methode

Technisches Design

Die Strahlung eines frequenzverdoppelten Nd:YVO₄-CW-Lasers (532 nm) wurde mittels einer „Single-mode“-Glasfaser an eine konventionelle Spaltlampe (SL 130, Fa. Zeiss) übertragen. Durch einen zweidimensionalen akustooptischen Deflektor (2D-AOD, Brimrose) konnte der Laserspot kontinuierlich über die Netzhautoberfläche gescannt werden [1]. Die Fokussierlinse wurde annähernd telezentrisch zum AOD platziert, um eine Verzeichnung der Fokusebene, die bedingt durch jeden Scanvorgang erzeugt werden kann, zu minimieren.

Unterstützt durch NIH und Lumenis.

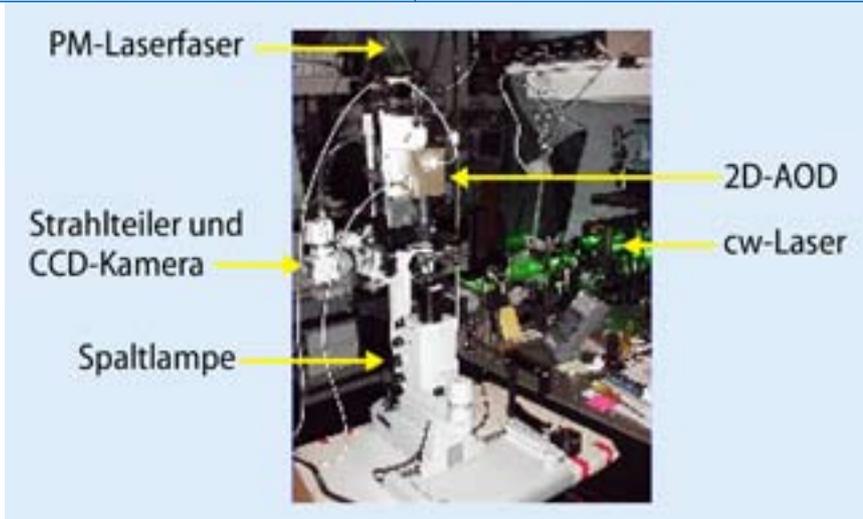


Abb. 1 ▲ Versuchsaufbau des spaltlampenadaptierten Laserscanners. Die Strahlung des grünen CW-Lasers wurde über eine single-mode-Laserfaser zu dem zwei-dimensionalen AOD übertragen, von dem aus der Laserstrahl durch ein Kontaktglas hindurch über die Netzhaut gesannt wird

Setup

Die Scannereinheit wurde auf die Spaltlampe gebaut (■ Abb. 1). Der Laserstrahl (Gauß-Profil) wurde durch ein Goldmann-Kontaktglas hindurch auf die Netzhaut fokussiert, welches an den Tierhalter arretiert war, um Bewegungsartefakte zu vermeiden. Der Spotdurchmesser ($1/e^2$) wurde durch die „Knife-edge“-Methode bestimmt [1] und betrug in Luft $27,5 \mu\text{m}$. Die Benutzung eines planokonden Kontaktglases in einem zykloplegischen emmetropen Kaninchenauge führt zu einer Vergrößerung von 0,66 [2] und ergibt damit einen berechneten Spotdurchmesser auf der Netzhaut von etwa $18 \mu\text{m}$. Der Scanner erzeugte ein Scanfeld, das aus 6 horizontal angeordneten Linien in einem Bestrahlungsfeld von $450 \times 450 \mu\text{m}$ bestand (etwa $300 \times 300 \mu\text{m}$ auf der Netzhaut; ■ Abb. 2).

Tiere

Die Experimente wurden an pigmentierten Kaninchen („Dutch belted rabbits“) durchgeführt. Kaninchen wurden gewählt, da die Dichte und die Lokalisation der lichtabsorbierenden Pigmente im Fundus denen des Menschen sehr ähnlich ist [7]. Die Tiere wurden mit einem 2:1-Gemisch von intramuskulär appliziertem Ketamin und Xylazin narkotisiert und auf dem Tierhalter platziert, der Bewegungen in allen Freiheitsgraden erlaubte. Die Behandlung der

Tiere wurde in Übereinstimmung mit den Richtlinien der „Association for Research in Vision and Ophthalmology Resolution on the Use of Animals in Research“ durchgeführt.

Behandlungsparameter

Jeder Behandlungsort auf der Netzhaut wurde in dieser Studie repetitiv 100fach bestrahlt. Es wurde eine Repetitionsfrequenz von 100 Hz gewählt, was jeder behandelten Zelle 10 ms Zeit gibt abzukühlen. Durch diese repetitive Applikation kann die Laserleistung für jede einzelne Exposition insgesamt reduziert werden [9, 10]. Die Scangeschwindigkeit erzeugte $5 \mu\text{s}$ Expositionszeit an jedem bestrahlten Punkt bzw. Absorber in der Mitte einer Scanlinie im RPE (■ Abb. 2). Insgesamt wurden zur Bestimmung der ED_{50} -Schwelle und der histologischen Begutachtung 3 Kaninchenaugen behandelt, wobei pro Auge etwa 30 bis 40 Läsionen gesetzt wurden. Zuvor wurden zur Orientierung jeweils sichtbare Markerläsionen appliziert. Zwischen diesen wurden die ophthalmoskopisch nicht sichtbaren Testläsionen in absteigender Leistung gesetzt, womit eine Dosis-Wirkungs-Kurve erstellt wurde. Zielkriterium war dabei die fluoreszein-angiographische Sichtbarkeit, die einen Schaden der RPE-Blut-Schranke und damit einen laserinduzierten RPE-Schaden signalisiert. Die Angiographie wurde etwa 30 min nach Beendigung der Laserbehand-

lung mittels Injektion von 10%igem Fluoreszein in eine Ohrvene unter Benutzung einer Funduskamera (Fa. Carl Zeiss, Oberkochen) durchgeführt. Zur Bestimmung der ED_{50} -Schadensschwelle wurde eine computergestützte Probit-Analyse [5] in Anlehnung an vorherige Arbeiten zum gepulsten Ansatz der selektiven RPE-Lasertherapie [6] durchgeführt. Eine genaue Beschreibung zur Berechnung findet sich in der Arbeit von Brinkmann et al. 2003 [3].

Histologie

Es wurden histologische Untersuchungen von Laserläsionen durchgeführt, die mit einer Laserleistung bis zum 2fachen der angiographischen Schwelle bestrahlt wurden. Dabei wurden die Augen eine Stunde nach der Behandlung unter tiefer Narkose in vivo entnommen und das Tier anschließend getötet. Direkt nach Entnahme wurde an der Pars plana mit einer spitzen Kanüle eingegangen und zur schnellen Fixierung 2,5%ige Karnofsky-Lösung injiziert sowie der Bulbus in dieselbe eingelegt. Eine halbe Stunde später wurde das vordere Augensegment abgetrennt und das Auge wiederum in Karnofsky-Lösung gegeben. Weitere 30 min später wurde das hintere Segment für einen bis 2 Tage in 2,5%ige Glutaraldehydlösung umgelegt. Die Postfixierung fand mit Dalton's Osmiumfixans statt und die Dehydrierung wurde mit aufsteigenden Alkoholreihen durchgeführt. Schließlich wurde das Substrat in Epon eingelegt. Ultradünnschnitte wurden mit Uranylacetat gefärbt und serielle 1-mm-Schnitte bis zum Zentrum der Läsion angefertigt.

Ergebnisse

Behandlung

Eine Laserbehandlung mit dem Laserscanner war möglich. Die Behandlung im Bereich des makulären Areals am hinteren Pol war gut durchführbar. Behandlungsläsionen waren ophthalmoskopisch nicht sichtbar, d. h. eine sichtbare Koagulation der Photorezeptoren wurde nie verursacht. In der Angiographie wurden alle Laserläsionen aufgrund progredienter Leckage sichtbar, wenn ein Schaden im Bereich des RPE vorlag. Dabei konnten einzelne

Ophthalmologe 2004 · 101:XXX–XXX
DOI 10.1007/s00347-004-1139-5
© Springer Medizin Verlag 2004

C. Framme · C. Alt · S. Schnell · R. Brinkmann · C. P. Lin

Selektive Behandlung des RPE unter Verwendung eines gescannten CW-Laserstrahls im Kaninchenmodell

Zusammenfassung

Hintergrund. Selektive RPE-Lasertherapie ist durch repetitive Laserbestrahlung mit Mikrosekundenpulsen unter Schonung der Photorezeptorschicht möglich. Damit können zentrale Netzhautpathologien wie diabetische Makulopathie, weiche konfluierende Drusen im Rahmen der altersbedingten Makuladegeneration oder die Chorioretinopathia centralis serosa ohne konsekutive Laserskotome behandelt werden. Es war Ziel dieser Studie zu zeigen, ob ein selektiver RPE-Schaden auch mit einem konventionellen grünen cw-Laserstrahl erreicht werden kann, wenn dieser zur Bestrahlung über die Netzhaut gescannt wird.

Material und Methode. Die Strahlung eines Dauerstrichlasers (532 nm) wurde über eine single-mode-Glasfaser an eine Spaltlampe adaptiert. Der Spot (18 µm) wurde mittels eines zweidimensionalen akustooptischen Deflektors durch ein Kontaktglas

hindurch über die Netzhaut von pigmentierten Kaninchen gescannt. Die Scanfelder waren 300 µm x 300 µm groß und bestanden aus sechs separaten Linien. Die Scangeschwindigkeit wurde so gewählt, dass jeder Absorber in der Mitte der Scanlinie im RPE für eine Dauer von 5 µs bestrahlt wurde. Die Bestrahlung wurde repetitiv 100-fach mit einer Wiederholrate von 100 Hz durchgeführt. Durch Variation der Leistung wurde eine Dosis-Wirkungskurve erstellt. Die ED₅₀-Schadensschwelle wurde nach angiographischer Sichtbarkeit berechnet. Das Ausmaß der Selektivität wurde lichtmikroskopisch untersucht.

Ergebnisse. Der laserinduzierte RPE-Defekt war fluoreszenzangiographisch durch Leckage bei gleichzeitiger ophthalmoskopischer Nicht-Sichtbarkeit der Laserläsion nachweisbar. Die angiographische ED₅₀-Schadensschwelle betrug 161 mJ/cm² (66 mW). Die ophthalmoskopische Schwelle

wurde bei fehlender Laserleistung nicht erreicht und lag über 438 mJ/cm² (180 mW). Der sog. therapeutische Bereich zwischen beiden Schwellen hat damit einen Faktor von mindestens 2,7. Histologische Untersuchungen von Laserläsionen, die mit einer Leistung bis 2-fach der angiographischen Schwelle erzeugt wurden, zeigten eine Destruktion des RPE bei gleichzeitiger Intaktheit der Photorezeptorschicht.

Schlussfolgerung. Selektive Schädigung des RPE ist mit scannender cw-Laserbestrahlung möglich, wenn der fokussierte Laserstrahl derart über den Fundus gescannt wird, dass jede einzelne Zelle im Mikrosekundenbereich bestrahlt wird.

Schlüsselwörter

Selektive RPE-Lasertherapie · RPE-Defekt · CW-Laserstrahl · Diabetische Makulopathie · Altersbedingte Makuladegeneration

Selective RPE laser treatment with a scanned cw laser beam in rabbits

Abstract

Background. Selective RPE laser therapy with sparing of the neurosensory layer is possible by applying repetitive microsecond laser pulses. Macular diseases such as diabetic maculopathy, soft confluent drusen due to age-related macular degeneration or central serous chorioretinopathy were shown to be treated successfully – without concurrent laser scotoma – by this technique. It was the goal of this study to show, if selectivity could also be achieved using a conventional green cw-laser by scanning the beam across the retina during irradiation.

Material and methods. A cw-laser beam at 532 nm was coupled to a slitlamp via a single mode optical fiber. The spot (18 µm) was scanned across the retina of Dutch-belted rabbits through a contact lens using a two-dimensional acusto-optical deflec-

tor. The scan-field was 300 µm x 300 µm in size and consisted of six separate scan lines. The scanning speed was adjusted so as to produce 5 µs exposure at each absorber in the center of the scan line. The entire scan pattern was applied 100 times at each site at a frame rate of 100 Hz. Dose response curve was measured by variation of the laser power. ED₅₀-thresholds for RPE damage were calculated by fluorescein angiographic leakage in irradiated areas after exposure to different laser intensities. The extent of selectivity was examined by light microscopy.

Results. Clinically the selective laser-induced RPE defect was demonstrated by fluorescein angiographic leakage and concurrent absence of ophthalmoscopic visibility. The angiographic ED₅₀-damage threshold was 161 mJ/cm² (66 mW). Ophthalmoscopic visibility was not noticed even with

the maximum available radiant exposure of 438 mJ/cm² (180 mW). Thus the safety range between angiographic and ophthalmoscopic thresholds had a factor of at least 2.7. First histological examinations revealed selective RPE destruction with intact photoreceptors for irradiation at laser power levels 2 times above angiographic threshold.

Conclusion. Selective RPE targeting is feasible with a conventional green cw-laser when scanning the focused laser beam across the fundus with a speed such that every point in exposed RPE is irradiated for duration of 5 µs.

Keywords

Selective RPE laser therapy · RPE defect · Cw laser beam · Diabetic maculopathy · Age-related macular degeneration

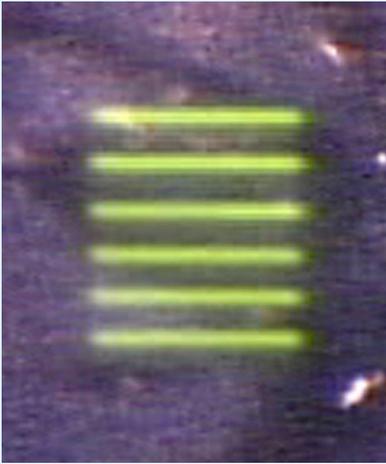


Abb. 2 ▲ Darstellung des Scanfelds aus 6 separaten Scanlinien auf einem Prisma in Luft ($450\ \mu\text{m} \times 450\ \mu\text{m}$, Linienzwischenraum $90\ \mu\text{m}$). Das entspricht auf der Netzhaut einem Feld von ca. $300 \times 300\ \mu\text{m}$ (Linienzwischenraum $60\ \mu\text{m}$). Die Geschwindigkeit des Spots in jeder Zeile wurde so gewählt, dass jeder bestrahlte Punkt für $5\ \mu\text{s}$ beleuchtet wurde. Das gesamte Scanfeld wurde in dieser Studie 100-fach pro Bestrahlungsort mit einer Wiederholrate von 100 Hz appliziert

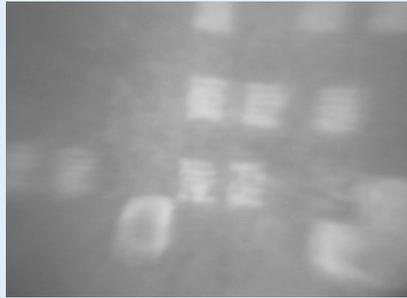


Abb. 3 ▲ Angiographie des Kaninchenfundus 30 min nach Bestrahlung. Zentral sind die einzeln zu erkennenden Linien in mehreren Scafefeldern sichtbar. Die Läsionen waren ophthalmoskopisch unsichtbar. Die größeren Läsionen im unteren Bildbereich sind Marker, welche durch bewusste Koagulation der Retina erzeugt worden waren

Scanlinien im Scafefeld visualisiert werden, was im angiographischen Bild zu Läsionen mit 6 horizontal angeordneten hyperfluoreszierenden Leckagelinien führte (■ Abb. 3).

Schadensschwelle

Die angiographische ED_{50} -Schadensschwelle von $5\text{-}\mu\text{s}$ -Expositionen mit 100 Scans lag bei $161\ \text{mJ}/\text{cm}^2$ (66 mW). Die ophthalmoskopische Schwelle wurde bei fehlender Laserleistung nicht erreicht und lag über $438\ \text{mJ}/\text{cm}^2$ (180 mW). Der therapeutische Bereich zwischen beiden Schwellen hatte damit einen Faktor von $\geq 2,7$.

Histologie

Lichtmikroskopische Untersuchungen von Laserläsionen zeigten bis zu einer Laserleistung von der 2fachen angiographischen Schwelle eine Destruktion einzelner RPE-Zellen. Benachbarte RPE-Zellen und maßgeblich die Photorezeptoren blieben intakt. Dabei konnte kein Unterschied im Schadensausmaß festgestellt werden, wenn mit Laserleistungen entsprechend der angiographischen ED_{50} -Schadensschwelle oder der 2fachen Schwelle bestrahlt wurde. In allen untersuchten Schnitten fanden sich die Bruch-Membran und die Choriokapillaris intakt, das RPE war flach, kondensiert und keine inneren Strukturen, wie z. B. der Zellkern, waren mehr sichtbar. Die gesamte neurosensorische Netzhaut war deutlich unbeeinträchtigt (■ Abb. 4).

densschwelle oder der 2fachen Schwelle bestrahlt wurde. In allen untersuchten Schnitten fanden sich die Bruch-Membran und die Choriokapillaris intakt, das RPE war flach, kondensiert und keine inneren Strukturen, wie z. B. der Zellkern, waren mehr sichtbar. Die gesamte neurosensorische Netzhaut war deutlich unbeeinträchtigt (■ Abb. 4).

Diskussion

Es war Ziel dieser Studie, einen therapeutischen Laserscanner zu entwickeln, mit dem selektiv das retinale Pigmentepithel mittels eines konventionellen CW-Laserstrahls behandelt werden kann. Der therapeutische Effekt der Laserbehandlung bei vielen makulären Netzhauterkrankungen kommt durch die Defektdeckung des RPE-Schadens durch Migration und Proliferation der Nachbarzellen zustande [4, 15], was zur Regeneration der Tight junctions und vermutlich zu einer erhöhten metabolischen Aktivität des RPE führt. Eine Zerstörung der neurosensorischen Netzhaut, wie es bei konventioneller CW-Behandlung durch Wärmeleitung und Denaturierung der Fall ist, sollte daher zur Behandlung entsprechender Krankheitsbilder un-

nötig sein. Bisherige Studien haben eine selektive Behandlung mit kurzen Pulsen im unteren Mikrosekundenbereich demonstriert. Sowohl tierexperimentelle als auch klinische Pilotstudien konnten dabei den selektiven Charakter dieser Methode histologisch als auch mikroperimetrisch nachweisen [10, 11, 12, 13].

Wie die vorliegende Studie demonstriert, ist selektive RPE-Laserbehandlung in vivo möglich, wenn ein CW-Laserstrahl über die Netzhaut gescannt wird. Die erfolgreiche Schädigung des RPE war angiographisch durch eine Fluoreszeinleckage nachweisbar. Der RPE-Schaden konnte dabei mit einer moderaten Laserleistung von 66 mW erreicht werden. Durch die Zerstörung des RPE kommt es zu einem „Pooling“ von Flüssigkeit durch den Defekt in den subretinalen Raum. Die Fluoreszeinangiographie ist dabei der klinisch sensitivste zur Verfügung stehende Parameter, um den gewünschten Schaden darzustellen und somit zu objektivieren. Ob auch ein angiographisch nichtsichtbarer „Subthreshold“-Schaden RPE-Veränderungen induzieren kann, welche den gewünschten therapeutischen Effekt erbringen, muss spekulativ bleiben.

Die Selektivität für die RPE-Schicht und die Schonung der Photorezeptorschicht konnte histologisch demonstriert werden, und bereits die fehlende ophthalmoskopische Sichtbarkeit der Laserläsionen während und nach der Behandlung ließ klinisch vermuten, dass es zu keiner thermischen Schädigung der neurosensorischen Netzhautschicht gekommen war. Weiterhin lagen die angiographische und die ophthalmoskopische ED_{50} -Schadensschwelle deutlich weiter als Faktor 2 auseinander, was eine ausreichend große therapeutische Breite erlauben sollte. Dieses ist insbesondere deshalb wichtig, da die intra- und interindividuelle Funduspigmentierung sehr stark variieren kann [7]. Nur bei Bestrahlung mit Leistungen zwischen beiden Schwellen sollte Selektivität erreicht werden können. Unterhalb der angiographischen Schwelle kann klinisch kein objektiver RPE-Schaden nachgewiesen werden. Oberhalb der ophthalmoskopischen Schwelle wird Netzhautgewebe unerwünscht denaturiert, was dann als Weißfärbung imponiert. Die richtige Energiedosierung ist daher essenziell und muss somit bei jeder Behandlung individu-

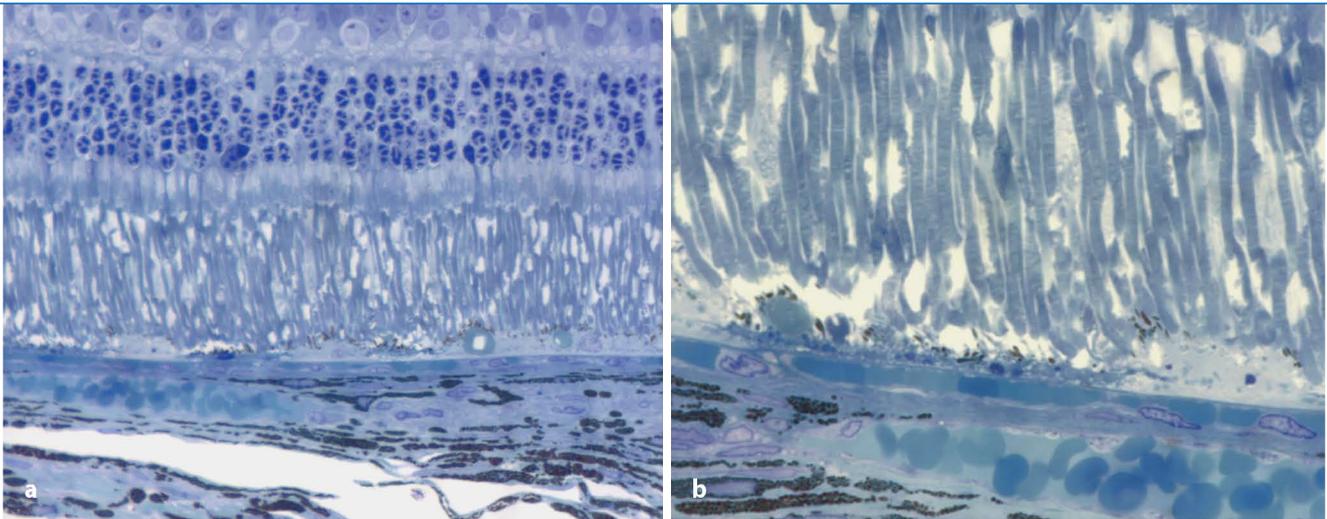


Abb. 4a, b ▲ **Histologie (40:1 und 100:1) nach Bestrahlung mit 5 μ s, 100 Scans bei 100 Hz (2fach ED₅₀).** a 3 RPE-Läsionen. Das retinale Pigmentepithel ist zerstört, flach und kondensiert auf der Bruch-Membran aufliegend. Die darüber liegende Photorezeptorschicht sieht intakt aus. b Erste Läsion vergrößert. Die Photorezeptoren über dem zerstörten RPE sind vollständig erhalten

ell bestimmt werden. Unter dieser Voraussetzung sollte eine selektive Therapie mit dem Laserscanner gut durchführbar sein.

Die histologischen Ergebnisse dieser Studie sind vielversprechend und zeigen, dass das RPE selektiv geschädigt wird und die Photorezeptoren sogar mit der 2fachen ED₅₀ intakt bleiben. Prinzipiell scheint es so zu sein, dass es bei der selektiven RPE-Lasertherapie durchaus zu Schäden an den äußeren im RPE gelegenen Photorezeptoren kommen kann und darf. Dieses sollte aber kein Problem darstellen, solange lediglich die äußeren Membranscheibchen betroffen sind, der Zellkern der Photorezeptoren selber aber intakt bleibt. Eine entsprechende Photorezeptorregeneration konnte in einer mikroperimetrischen klinischen Pilotstudie mit dem gepulsten Laseransatz von Roeder et al. demonstriert werden, bei dem im therapeutischen Energiebereich keine Laserskotome auftraten und bei Applikation höherer Energien passagere Laserskotome reversibel waren [11, 12]. Dieses mag ein klinischer Hinweis für eine partielle Verletzung von peripheren Außensegmenten bei dieser Therapieform sein. In unserer scannenden Studie sahen diese jedoch lichtmikroskopisch intakt aus. Allerdings könnten elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, ob es zu Veränderungen an den äußeren Photorezeptorsegmenten kommen kann, welche lichtmikroskopisch nicht sichtbar sein mögen.

Eine scannerbasierte Behandlung hätte verschiedene klinische Vorteile. So besteht die Möglichkeit mit hoher Flexibilität zwischen verschiedenen Behandlungsparametern (Expositionszeit, Bestrahlungsmuster, Fläche, etc.) variieren zu können. Ein Scanner hat theoretisch das Potenzial, automatisiert große Flächen zu bestrahlen. Makulabelandungen könnten damit schneller durchgeführt werden, und auch in klinischen Studien wäre eine standardisierte Behandlung möglich. Die Kombination von gepulstem und scannendem Ansatz zu „gepulstem Scannen“ könnte die Möglichkeit eröffnen, große Netzhautflächen bei minimaler Gewebeerstörung z. B. auch prophylaktisch zu behandeln. Eine höhere örtliche Selektivität im RPE kann aufgrund des kleineren Spottedurchmessers erreicht werden, der mit dem in dieser Studie verwendeten Gerät am Kaninchen rechnerisch nur etwa 18 μ m groß ist und beim Menschen etwa 27 μ m erreichen würde. Durch diesen sehr kleinen Spottedurchmesser bedingt sollte eine schnellere Defektdeckung im behandelten Areal durch RPE-Proliferation möglich sein.

Auf der anderen Seite kann der kleinere Spottedurchmesser aus technischer Sicht aber auch problematisch sein. So kann bei dem verwendeten Gauß'schen Strahlungsprofil mit diesem kleinen Durchmesser die Fokussierung mittels Spaltlampe auf das RPE schwierig sein [3] und subjektiven Schwankungen unterliegen, was zu

Energieverlusten in der Zielstruktur und damit zu fehlerhaften Dosimetrien führen kann [2, 3]. So haben eigene Untersuchungen gezeigt, dass die individuelle Streubreite akkommodationsbedingt bei der wiederholten Fokussierung ($n=100$) auf das RPE am Kaninchenfundus $\pm 0,25$ mm betragen kann. Bei Bestrahlung des zentralen Kaninchenfundus in unserer Studie wurde dies nicht als problematisch empfunden, weil der Scanner mit geringer numerischer Apertur gebaut wurde und der Fokus daher relativ lang ist. Jedoch konnte eine adäquate Behandlung der Netzhautperipherie auf gleichem Energieniveau wie zentral nicht mehr erreicht werden. Solche Probleme könnten ggf. durch eine indirekte Behandlung mittels eines Monitors statt einer direkten Behandlung mit der Spaltlampe umgangen werden, wenn auch periphere Netzhautanteile behandelt werden sollten. Allerdings würden dadurch auch nur die akkommodativen Probleme gelöst, und die weiterhin bestehen bleibenden kornealen Aberrationen würden sich negativ auf das Strahlenprofil des sehr kleinen Spots auswirken. Somit scheint das spaltlampenadaptierte Setup des Laserscanners zunächst auf die Behandlung der Makula konzentriert zu bleiben.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass eine selektive Behandlung des RPE mit einem konventionellen CW-Laser im Tiermodell möglich ist, wenn der Laserstrahl so schnell über die Netzhautoberfläche be-

wegt wird, dass jede Zelle nur im Mikrosekundenbereich bestrahlt wird. Dabei konnte sowohl klinisch der RPE-Schaden angiographisch und die ausbleibende neurosensorische Denaturierung durch ophthalmoskopische Nichtsichtbarkeit der Läsionen demonstriert, als auch die entsprechende Selektivität histologisch gesichert werden. Dennoch sollte daran gedacht werden, dass diese Ergebnisse am Kaninchen evaluiert wurden und nicht notwendigerweise direkt auf den Menschen übertragen werden können. Die Spotgröße am Fundus eines Patienten ist anders als im Kaninchen. Weiterhin kann es generelle Unterschiede in der Melanosomengröße und -verteilung geben (Hauttypen), und bei älteren Menschen können Linsentrübungen störend wirken. Faktoren dieser Art können die Schädigungsschwellen erheblich beeinflussen, und die ED₅₀-Schadensschwelle wird bei Patienten verschiedener Altersgruppen und Hauttypen variieren. Prinzipiell muss aber aufgrund der gefundenen tierexperimentellen Ergebnisse davon ausgegangen werden, dass – wie auch im gepulsten Ansatz – generell Selektivität am Menschen erreicht werden kann.

Fazit für die Praxis

Bevor der Scanner in klinischen Studien eingesetzt werden kann, sollte zuvor tierexperimentell auch das Proliferationsverhalten des RPE zur Wiederherstellung der Blut-Retina-Schranke nach Scannerbehandlung untersucht werden. Insgesamt halten wir den Scanner für eine attraktive und elegante Alternative für die selektive RPE-Lasertherapie.

Korrespondierender Autor

Dr. C. Framme

Augenklinik, Universität,
Franz-Josef-Strauss-Allee 11, 90342 Regensburg
E-Mail: carsten.framme@klinik.uni-regensburg.de

Interessenkonflikt: Der korrespondierende Autor weist auf eine Verbindung mit folgender Firma/Firmen hin: Arbeiten wurden finanziell durch NIH und Lumenis unterstützt

Literatur

1. Alt C, Framme C, Schnell S, Schuele G, Brinkmann R, Lin CP (2002) Selective targeting of the retinal pigment epithelium using a laser scanner. *Proc SPIE Ophthal Technol XII*, Vol. 4611
2. Birngruber R, Gabel VP, Hillenkamp F (1983) Experimental studies of laser thermal retinal injury. *Health Phys* 44:519–531
3. Brinkmann R, Koop N, Ozdemir M, Alt C, Schule G, Lin CP, Birngruber R (2003) Targeting of the retinal pigment epithelium (RPE) by means of a rapidly scanned continuous wave (CW) laser beam. *Lasers Surg Med* 32 (4):252–264
4. Del Priore LV, Glaser BM, Quigley HA, Green R (1989) Response of pig retinal pigment epithelium to laser photocoagulation in organ culture. *Arch Ophthalmol* 107:119–122
5. Finney DJ (1971) *Probit analysis*, 3rd ed. Cambridge University Press, London
6. Framme C, Schuele G, Roeder J, Birngruber R, Brinkmann R (2004) Influence of pulse duration and pulse number in selective RPE laser treatment. *Lasers Surg Med* 34:206–215
7. Gabel VP, Birngruber R, Hillenkamp F (1978) Visible and near infrared light absorption in pigment epithelium and choroid. In: Shimizu K (ed) *International Congress Series No. 450, XXIII Concilium Ophthalmologicum*, Kyoto. Excerpta Medica, Princeton, NJ, S 658–662
8. Marshall J, Mellerio J (1968) Pathological development of retinal laser photocoagulations. *Exp Eye Res* 7:225–230
9. Roeder J, Michaud NA, Flotte TJ, Birngruber R (1992) Response of the retinal pigment epithelium to selective photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 110:1786–1792
10. Roeder J, Hillenkamp F, Flotte TJ, Birngruber R (1993) Microphotocoagulation: Selective effects of repetitive short laser pulses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:8643–8647
11. Roeder J, Wirbelauer C, Brinkmann R, Laqua H, Birngruber R (1998) Control and detection of subthreshold effects in the first clinical trial of macular diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39:104
12. Roeder J, Brinkmann R, Wirbelauer C, Laqua H, Birngruber R (1999) Retinal sparing by selective retinal pigment epithelial photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 117:1028–1034
13. Roeder J, Brinkmann R, Wirbelauer C, Laqua H, Birngruber R (2000) Subthreshold (retinal pigment epithelium) photocoagulation in macular diseases: a pilot study. *Br J Ophthalmol* 84:40–47
14. Wallow IH, Birngruber R, Gabel VP, Hillenkamp F, Lund OE (1975) Netzhautreaktion nach Intensivlichtbestrahlung. *Adv Ophthalmol* 31:159–232
15. Wallow IH (1984) Repair of the pigment epithelial barrier following photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 102:126–135