# **Originalien**

H. Hoerauf<sup>1</sup> · A. Brix<sup>1</sup> · C. Scholz<sup>2</sup> · J. Winkler<sup>1</sup> · G. Dröge<sup>2</sup> · R. Birngruber<sup>2</sup> · A. Vogel<sup>2</sup> · H. Laqua<sup>1</sup> <sup>1</sup> Universitäts-Augenklinik Lübeck · <sup>2</sup> Medizinisches Laserzentrum GmbH Lübeck

# **Retinale Photoablation** mit dem Erbium:YAG-Laser

# Erste experimentelle Ergebnisse zur traktionsfreien Gewebeabtragung

#### Zusammenfassung

Hintergrund. In der vorliegenden Studie wird untersucht, ob eine selektive Abtragung innerer Netzhautschichten mit dem Er:YAG-Laser möglich ist.

Material und Methode. Retinaexplantate aus enukleierten Schweinebulbi wurden mit einem freilaufenden Er:YAG-Laser mit einer Low-OH-Ouarzfaser unter Luft bzw. unter Perfluordekalin (PFD) bestrahlt. In einer weiteren Versuchsreihe wurden eine Saphirfaser und PFD verwendet. Die Explantate wurden anschließend mittels optischer Kohärenztomographie (OCT) und Lichtmikroskopie

**Ergebnisse.** Bei einer Dosis von 5,0 J/cm<sup>2</sup> fanden sich unter Luft und PFD durch die gesamte Netzhaut reichende Defekte. Zwischen 3,5 und 2,0 J/cm<sup>2</sup> zeigten sich insbesondere unter Luft deutliche Schwankungen der Abtragungstiefe, unterschiedliche Defektmuster sowie thermische Nekrosezonen. Mit 2,0 J/cm<sup>2</sup> ließen sich unter Luft keine Defekte mehr nachweisen, unter PFD reichte die Abtragung bis in die Ganglienzellschicht. Eine weitere Dosisreduktion führte nicht zur gewünschten Abtragung noch oberflächlicherer Netzhautschichten. Versuche mit einer Saphirfaser zeigten eine höhere Effektivität sowie ein gleichmäßigeres Defektmuster mit verbesserter Reproduzierbarkeit und ermöglichten so bei einer Dosis von 2.0 J/cm<sup>2</sup> eine homogene oberflächliche Abtragung ohne thermische Nekrosen, die auf das Niveau der Nervenfaserschicht begrenzt blieb.

Schlussfolgerungen. Der Er:YAG-Laser eignet sich zur Abtragung innerer Netzhautschichten in vitro, jedoch zeigte die Low-OH-Quarzfaser stark schwankende Ablationstiefen

und eine schlechte Reproduzierbarkeit. Versuche mit einer Saphirfaser ergaben deutlich bessere Ergebnisse, sodass ein Einsatz in der vitreoretinalen Chirurgie nicht nur zur Gewebedurchtrennung, sondern auch zur Abtragung feiner Netzhautstrukturen möglich scheint.

#### Schlüsselwörter

Er:YAG-Laser · Retinaexplantat · Netzhaut · Flüssige Perfluorkarbone · Optische Kohärenztomographie

s liegen bereits mehrere Studien zur Anwendung des Er:YAG-Lasers in der Ophthalmologie vor. Er wurde bisher insbesondere in der Hornhaut-[18], Linsen-[9,12] und Glaukomchirurgie [11,14, 17] eingesetzt, aber in den letzten Jahren wurden auch vermehrt Untersuchungen zum vitreoretinalen Einsatz des Er:YAG-Lasers durchgeführt [1, 2, 3, 4, 15, 16, 17]. Diese beschäftigten sich hauptsächlich mit der Entfernung des Glaskörpers, der Durchtrennung von Glaskörpersträngen und der Abtragung von Linsenresten. Seit einigen Jahren sind sogar Er:YAG-Lasersysteme zur Durchführung einer Vitrektomie kommerziell erhältlich. Nur wenig Studien existieren bisher zur Abtragung der Netzhaut mit dem Er:YAG-Laser. Diese wurden ausschließlich mit einem experimentellen System unternommen [5, 13, 21].

Das ursprüngliche Ziel unserer Untersuchung war die selektive Abtragung der Membrana limitans interna. Die Verfolgung dieses Ziels erschien für eine Zeit nicht mehr sinnvoll, da mittlerweile durch verbesserte Instrumente und Anfärbung mittels Indocyaningrün (ICG) die manuelle Technik dem Er:YAG-Laser überlegen war. Zurzeit wird allerdings die mögliche Toxizität von ICG sehr kritisch diskutiert. Da die mechanische Entfernung der Membrana limitans interna ohne Anfärbung manchmal sehr schwierig ist, wäre also eine alternative Methode doch interessant. Als mögliche weitere klinische Indikation kommt die traktionsfreie Abtragung dicker und sehr adhärenter epiretinaler Membranen in Betracht, bei denen unter manuellem Zug die Gefahr iatrogener Netzhauteinrisse bestehen würde. Weitere klinische Ansätze bieten sich bei der Durchführung einer Retinektomie, die mit dem Er:YAG-Laser evtl. schneller und kontrollierter als mit Glaskörperscheren oder dem Ocutom durchzuführen wäre, oder zur Entfernung von anterioren Membranen, da die Ziliarkörperregion mittels Lasersonde über ein Endoskop leicht zugänglich wäre. Auch die Abtragung von Tumorresten nach Endoresektion könnte eine mögliche weitere Indikation in der vitreoretinalen Chirurgie darstellen.

Infrarotlaser wie der Er:YAG-Laser benutzen Wasser als Chromophor [20],

© Springer-Verlag 2003

Dr. Hans Hoerauf Klinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Lübeck, Ratzeburger Allee 160, 23538 Lübeck E-Mail: hhoerauf@ophtha.mu-luebeck.de H. Hoerauf · A. Brix · C. Scholz · J. Winkler G. Dröge · R. Birngruber · A. Vogel · H. Laqua

### Retinal photoablation with the Erbium: YAG laser. Initial experimental results for traction-free removal of tissue

#### **Abstract**

**Background.** To investigate the potential of an Er:YAG laser for precise and tractionfree removal of retinal layers in vitro. Material and methods. Retinal ablation in porcine retinal explants was performed using a free running Er:YAG laser focused either into a low-OH quarz fiber or a sapphire fiber. The explants were treated under air or perfluorodecaline (PFD). The ablation depth was evaluated by optical coherence tomography (OCT) and histology sections.

**Results.** A radiant exposure of 5.0 J/cm<sup>2</sup> under air and PFD resulted in complete transsection of the neurosensory retina. Between 3.5 and 2.0 J/cm<sup>2</sup> the ablation depth and the defect patterns varied markedly and adjacent thermal zones areas were seen. Below 2.0 J/cm<sup>2</sup> no defects could be created in air. whereas under PFD the ablation extended into the ganglion cell layer. Ablations using a sapphire fiber and 2.0 J/cm<sup>2</sup> showed a significantly higher reproducibility of ablation depth, and homogeneous defect patterns limited to the nerve fiber layer could be produced without thermal damage.

Conclusions. The Er:YAG laser system with a low-OH quarz fiber allowed ablation of inner retinal layers in vitro, but revealed a variable ablation depth and low reproducibility. However, a sapphire fiber showed markedly improved results. Therefore its use during vitreoretinal surgery seems possible not only as a cutting device but also as a tool for the ablation of fine retinal structures.

# **Keywords**

Er:YAG laser · Retinal explant · Retina · Perfluorocarbon liquid · Optical coherence tomography

## **Originalien**

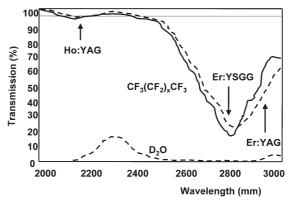


Abb. 1 Transmissionskurve von Perfluordekalin im Wellenlängenbereich des Er:YAG-Lasers. (Übernommen aus [7])

das Hauptbestandteil aller biologischen Gewebe ist. Ihre Ablation ist somit hauptsächlich abhängig von der Absorption der jeweiligen Wellenlänge in Wasser. Die Wellenlänge des Er:YAG-Lasers von 2,94 µm liegt beim Absorptionsmaximum von Wasser im mittleren Infrarot. Die optische Eindringtiefe in Wasser beträgt lediglich 0,8 µm [10]. Diese Eigenschaft ermöglicht einerseits eine präzise Gewebeabtragung, führt aber andererseits auch zu Schwierigkeiten bei der Festlegung der Energiedosis wenn nur eine dünne Gewebeschicht abgetragen werden soll und sich wasserhaltiges Material (z. B. Glaskörper) zwischen dem distalen Ende der Applikationsfaser und der Zielstruktur befindet. Eine Abtragung unter intraokularer Ringerlösung wäre somit nur im Kontaktverfahren denkbar, aber ein unkontrollierbarer Schaden durch entstehende Kavitationsblasen unvermeidbar [19]. Frenz et al. führten daher die flüssigen Perfluorkarbone als optimale Transmitter für das Er:YAG-Laserlicht ein [7]. Aus dieser Arbeit wird zum besseren Verständnis in Abb. 1 die Transmissionskurve von Perfluordekalin für den Wellenlängenbereich des Er:YAG-Lasers zitiert.

Um bei der Gewebeabtragung sehr dünner Strukturen wie den innersten Schichten der Netzhaut eine definierte Abtragungstiefe im Bereich weniger Mikrometer zu erreichen, muss das Laserlicht nicht nur eine geringe optische Eindringtiefe aufweisen, sondern darüber hinaus muss die Pulslänge kurz genug sein, um eine Wärmeleitung in die tiefer gelegenen Netzhautschichten zu vermeiden.

Im Rahmen der vorliegenden experimentellen Studie wurde an Retinaexplantaten von enukleierten Schweineaugen histologisch und mit Hilfe der optischen Kohärenztomographie untersucht, ob sich der Er:YAG-Laser zur gezielten und sicheren Abtragung innerer Netzhautschichten eignet.

#### Material und Methoden

#### Präparation der neurosensorischen Netzhaut

Frisch enukleierte Schweinebulbi (nicht älter als 4 h) wurden limbusnah aufgeschnitten, und es wurden das Vordersegment und der Glaskörper entfernt. Verbliebene Flüssigkeits- und Glaskörperreste wurden vorsichtig mittels eines Keiltupfers so vollständig wie möglich abgesaugt. Im zentralen Netzhautbe-

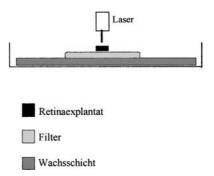


Abb. 2 A Schema des Versuchaufbaus

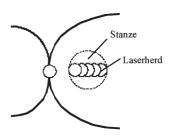


Abb. 3 ▲ Schematische Darstellung der überlappenden Laserexpositionen

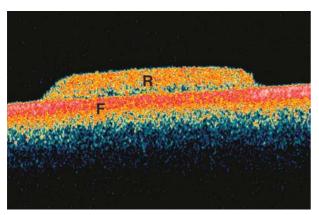


Abb. 4 **OCT-Aufnahme** eines unbehandelten Retinaexplantates (Scanlänge 5,5 mm). Die neurosensorische Netzhaut (R) zeigt eine homogene mittlere Reflexivität ohne erkennbare Schichtung. Sie liegt auf einem Filter und einer Wachsschicht, die als deutlich hyperreflexive Schicht (F) zu erkennen sind

reich wurde ein kreisrundes Stück Retina mit 5 mm Durchmesser ausgestanzt, die neurosensorische Retina vorsichtig vom Pigmentepithel abgehoben und auf einen Filter gebracht (Millicell-HA® culture plate inserts: 30 mm Durchmesser; Millipore Corporation, Bedford, USA). Die Netzhaut haftete auf der hydrophilen Filteroberfläche sehr plan und ohne Unregelmäßigkeiten.

Die vorbereitete Probe wurde dann auf den mit Wachs (Morsa Modellierwachs, 1 mm Dicke) ausgelegten Boden einer flachen Petrischale gelegt.

# Laserspezifikationen und Behandlungsgruppen

Für die Versuche wurde ein freilaufender Er:YAG-Laser (Schwind, Aschaffenburg, Deutschland) mit einer Wellenlänge von 2,94 µm verwendet, der direkt in das Applikationshandstück eingebaut ist. Die Applikation der Laserstrahlung erfolgt über eine Low-OH-Quarzfaser bzw. eine Saphirfaser. Das Handstück mit dem Laser befand sich in einem Aufbau, der mittels Mikrometerschrauben eine genaue Positionierung der Faser erlaubte (Abb. 2). Die Faser wurde damit auf einen Abstand zum Retinaexplantat von 0,5 mm abgesenkt.

Die Faser wurde nach jedem Laserpuls horizontal um 250 µm verschoben. Auf diese Weise wurde durch überlappende Einzelexpositionen eine reproduzierbare Defektlinie erzeugt (Abb. 3). Perfluordekalin (PFD; ADATODECA, Bausch & Lomb Surgical, München) gehört zur Gruppe synthetischer flüssiger Perfluorkarbonverbindungen und hat sich als intraoperatives Hilfsmittel in der Glaskörperchirurgie bewährt [6]. Durch seine hohe Transmission für Er:YAG-Laserstrahlung [7] garantiert es eine verlustfreie

Übertragung der Laserenergie auf die Netzhautoberfläche. Da unter Wasser Kavitationsblasen am Faserende entstehen, die mechanische Gewebeschäden verursachen können, wurden keine Bestrahlungsversuche unter Irrigationslösungen, wie z. B. Ringerlösung<sup>®</sup>, durchgeführt.

In verschiedenen Versuchsreihen wurden Retinaexplantate mit einer Dosis von jeweils 1,0, 2,0, 3,0 und 5,0 J/cm<sup>2</sup> pro Puls bestrahlt:

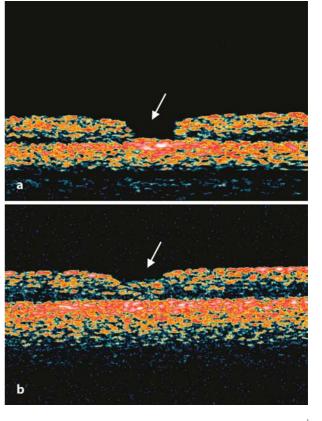
1) Low-OH-Quarzfaser: Die Applikation der Pulse erfolgte über eine 10 cm lange Low-OH-Quarzfaser mit einem Kerndurch-

messer von 400 µm. Sie hat eine numerische Apertur von 0,2. Die Pulsdauer betrug 400 µs. Bei 8 Augen wurde die Abtragung unter Luft vorgenommen und bei 14 Augen unter einer etwa 5 mm dicken Perfluordekalinschicht.

#### 2) Saphirfaser:

An 8 weiteren Augen wurde der gleiche Versuch mit einer flexiblen Saphirfaser (Photran, Amherst, NH, USA) durchgeführt. Die Applikation der Pulse erfolgte über eine 2 m lange Saphirfaser mit einem Durchmesser von 425 μm. Die Pulsdauer betrug erneut 400 µs. Saphir hat eine wesentlich höhere Transmission für Er:YAG-Laserlicht als Low-OH-Ouarz und erlaubt daher die Verwendung längerer Fasern zur Applikation des Laserpulses. In den langen Fasern bildet sich durch Mischung der Fasermoden ein gleichmäßiges Intensitätsprofil aus. Demgegenüber ist das Intensitätsprofil am Ende des kurzen Quarzfaserstückes räumlich deutlich inhomogener. Bei besseren Ergebnissen mit der Low-OH-Quarzfaser unter PFD wurde hier auf eine Abtragung unter Luft verzichtet und alle Augen vor dem Versuch mit PFD überschichtet.

Abb. 5a, b OCT-Aufnahmen von 2 Retinaexplantaten nach Er:YAG-Bestrahlung über eine Low-OH-Faser unter Luft (Scanlänge 2,03 mm). Obwohl in beiden Fällen mit der gleichen Dosis von 5,0 J/cm<sup>2</sup> bestrahlt wurde, sind die Abtragungstiefen sehr verschieden. a Der Defekt (Pfeil) ist scharf begrenzt und reicht durch die gesamte neurosensorische Netzhaut. b Der Defekt (Pfeil) reicht nur bis in die Mitte der neuronalen Netzhaut



# Optische Kohärenztomographie der behandelten Proben

Als Schnelltest zur sofortigen Beurteilung der Proben wurde die optische Kohärenztomographie (OCT) eingesetzt. Es wurde dafür der Prototyp eines spaltlampenadaptierten OCT-Systems (Med. Laserzentrum Lübeck und Fa. 40ptics, Lübeck) verwendet, dessen Messstrahl über einen Umlenkspiegel auf die zu untersuchende Probe geleitet wurde. Als Lichtquelle wurde eine Superluminiszenzdiode mit 830 nm Wellenlänge verwendet. Die axiale Auflösung betrug 15 μm, die laterale 20 μm. Die Methode beruhte auf dem von Fujimoto et al. beschriebenen Prinzip der Inferometrie mit Licht kurzer Kohärenzlängen [8].

Das Gerät erzeugte innerhalb von 2 s aus 200 Tiefenabtastungen ein 2-dimensionales Schnittbild des Netzhautpräparates mit variabler Scanlänge. Die hier gezeigten Explantate wurden mit einer Scanlänge von 2,03 mm oder 1,01 mm vermessen.

#### **Histologische Untersuchung**

Nach der OCT-Messung wurden die Präparate über Nacht in Bouin-Lösung fixiert, in Paraffin eingebettet und in einer Dicke von 4 µm geschnitten. Für jede Bestrahlungsdosis wurden jeweils mindestens 20 Schnitte angefertigt. Die Schnitte wurden mit Hämatoxilin-Eosin gefärbt, unter einem Lichtmikroskop (Zeiss Axiophot, Oberkochen, Deutschland) beurteilt, fotografiert (Kodak Ektachrome 64 T) und anschließend mit den OCT-Befunden verglichen.

# **Ergebnisse**

# **Unbehandeltes Netzhautpräparat**

Abbildung 4 zeigt das OCT-Bild eines auf Filter und Wachsschicht (F) liegenden unbehandelten Retinaexplantates (R). Die neurosensorische Netzhaut erscheint als obere hyperreflexive Schicht. Filter und Wachsschicht kommen im OCT-Bild als untere hyperreflexive Schicht zur Darstellung. Die hyporeflexive Zwischenschicht stellt den vermutlich mit Flüssigkeit gefüllten Raum zwischen Netzhaut und Filter dar. Er ist von Präparat zu Präparat unterschiedlich dick.

Die OCT-Aufnahmen der mit den verschiedenen Energien behandelten

# **Originalien**

Retinaexplantate und die dazugehörigen Histologien sind in den Abb. 5, 6, 7, 8 dargestellt.

#### Low-OH-Ouarzfaser

Bereits makroskopisch ließen sich sowohl unter Luft als auch unter PFD teilweise tiefe Netzhautdefekte mit Defekten bis ins Filterpapier erkennen. Bei niedrigeren Bestrahlungsdosen bis etwa 4,0 J/cm<sup>2</sup> konnte eine graue Linie unter dem Operationsmikroskop erkannt werden.

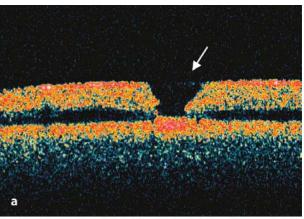
#### **Photoablation unter Luft**

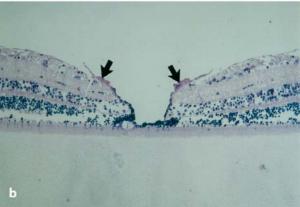
Bei den mit einer Dosis von 5,0 J/cm² bestrahlten Präparaten ließen sich in den OCT-Aufnahmen Defekte nachweisen, die durch die gesamte sensorische Netzhaut reichten (s. Abb. 5a). Es fanden sich jedoch bei gleicher Bestrahlung auch nur mittlere Ablationstiefen (s. Abb. 5b). Wurde die Dosis auf 3,0 J/cm² reduziert, waren die Effekte deutlich geringer und erreichten in der OCT teilweise nur die mittleren neurosensorischen Schichten. waren aber auch manchmal gar nicht sicher nachweisbar. In der Histologie zeigten sich sehr unterschiedliche Schädigungen bis zur Ganglienzellschicht mit oberflächlicher thermischer Nekrosezone. Der gelaserte Bereich erschien etwas von der Unterlage abgehoben und insgesamt zur Netzhautinnenseite gewölbt. Bei Bestrahlungen mit weniger als 2,0 J/cm² ließen sich weder in der OCT noch histologisch Effekte nachweisen.

#### Photoablation unter Perfluordekalin

Mit einer verwendeten Bestrahlungsdosis von 5,0 I/cm<sup>2</sup> ließ sich reproduzierbar ein durch die gesamte neurosensorische Netzhaut reichender Defekt erzeugen, der dem unter Luft sehr ähnelte (s. Abb. 6a). Der Defektdurchmesser betrug im OCT-Bild etwa 100 µm und war damit deutlich kleiner als der erwartete Faserdurchmesser von 400 um. Die dazugehörige Histologie zeigte einen durchgreifenden Schaden mit thermischer Nekrosezone von etwa 10 µm Dicke am Rand der Läsion (s. Abb. 6b). Der Defektdurchmesser betrug lichtmikroskopisch in den oberen Netzhautschichten etwa 190 um, abnehmend zu tieferen Schichten hin bis auf ca. 65 µm. Eine Dosisreduktion auf 3,5 J/cm² führte zu einer oberflächlichen bis mitteltiefen Abtra-







gung. Mit 3,0 J/cm2 fanden sich unterschiedliche Ablationsmuster. Neben fast durch die gesamte neurosensorische Netzhaut reichenden Defekten wurden in den OCT-Aufnahmen auch mittlere Schädigungstiefen beobachtet. Bei anderen Präparaten ließen sich aber auch nur oberflächliche Abtragungen mit leicht aufgeworfenen Rändern nachweisen. Histologisch fanden sich entsprechend unterschiedliche Defekte, die von der äußeren plexiformen Schicht bis hin zur äußeren Körnerschicht reichten und in allen Schnitten thermische Nekrosezonen aufwiesen. Bei Bestrahlungswerten unter 2,0 J/cm² war in der OCT-Aufnahme die hyperreflexive Netzhautoberfläche punktuell unterbrochen, und darunter lag ein unregelmäßig dünnes hyporeflexives Areal (s. Abb. 7a, Pfeile). Histologisch fand sich ein thermischer Nekroseschaden von etwa 30 µm Dicke in der Nervenfaser- und Ganglienzellschicht (s. Abb. 7b). Bei einer weiteren Dosisreduktion auf 1.0 I/cm2 ließen sich weder in der OCT noch lichtmikroskopisch Netzhautdefekte nachweisen.

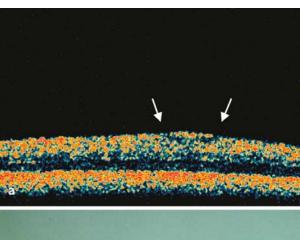
## Saphirfaser, Abtragung unter Perfluordekalin

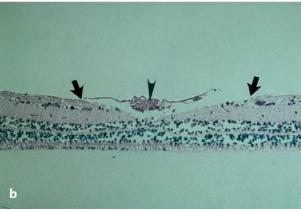
Makroskopisch ließen sich bei keiner Bestrahlungsdosis Netzhautveränderungen erkennen. Mit dem Operationsmikroskop fand sich eine gräuliche Linie bei einer Dosis von 5,0 J/cm2. Während der Ablation traten klare Blasen in PFD am Ende der Faserspitze auf, die mit der Intensität der Laserpulse korrelierten.

Eine Bestrahlung von 5,0 J/cm² verursachte entweder eine vollständige Durchtrennung des Retinaexplantates oder Läsionen, die bis in die äußeren Netzhautschichten reichten. Die Defekte variierten in Tiefe und Form trotz gleicher Bestrahlungsdosen. Die Ränder erschienen glatt begrenzt. Bei 3,0 J/cm2 zeigte die OCT sehr oberflächliche Defekte mit aufgeworfenen Rändern. Die korrespondierenden histologischen Schnitte wiesen eine Ablationstiefe bis zur Ganglienzellschicht in einem Auge auf, und eine dünne thermische Nekrose lag im Defekt vor.

Mit einer Bestrahlung von 2,0 J/cm<sup>2</sup> unter PFD ließen sich oberflächliche und homogene Defekte, die nur bis in die Nervenfaserschicht reichten, erzielen (s. Abb. 7a, b). Es fanden sich keine thermischen Nekrosezonen. Der Defektdurchmesser war mit 370-400 µm nur etwas ge-

Abb. 7a, b Er:YAG-Bestrahlung mit 2,0 J/cm<sup>2</sup> über eine Low-OH-Faser unter PFD. a Die OCT-Aufnahme zeigt eine hyperreflexive Netzhautoberfläche, die im Bereich der Läsion (Pfeil) durch eine hyporeflexive Zone unterbrochen ist (Scanlänge 2,03 mm). b Die entsprechende lichtmikroskopische Aufnahme (Endvergrößerung 210fach, HE-gefärbt) zeigt einen Gewebedefekt bis in die innere Körnerschicht (zwischen den Pfeilen) und eine darüber liegende thermische Nekrosezone von etwa 30 µm Dicke (Pfeilspitze)



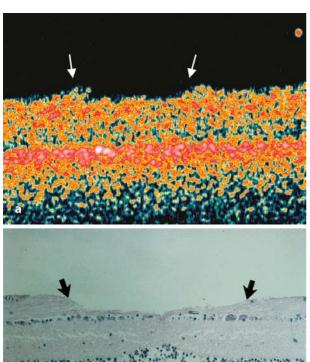


ringer als der tatsächliche Faserdurchmesser von 425 µm. Bei einer weiteren Reduktion auf 1,0 J/cm2 konnten in der OCT behandelte von unbehandelten Netzhautarealen nicht unterschieden werden. In den histologischen Schnitten fanden sich entweder keine oder sehr oberflächliche Läsionen, die auf die oberflächliche Nervenfaserschicht begrenzt blieben.

#### Diskussion

Bei der Abtragung innerer Netzhautschichten mit dem Er:YAG-Laser und der zunächst benutzten Low-OH-Ouarzfaser ergaben sich Probleme hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der Defekte, der Abtragungstiefe und des Auftretens von thermischen Nekrosen. Bei konstanter Bestrahlungsdosis wurden sowohl in der OCT als auch histologisch große Schwankungen der Abtragungstiefe und unterschiedliche Defektmuster beobachtet. Eine reproduzierbare selektive Abtragung einzelner innerer Netzhautschichten war also nicht durchführbar. Als mögliche Ursache für die Variabilität der Abtragungstiefe kommen Schwankungen des Abstandes zwischen dem Faserende und der Netzhaut in Betracht. Eine geringe Änderung des Abstandes

von Exposition zu Exposition kann nicht ausgeschlossen werden, weil die Netzhautoberfläche nach Präparation mikroskopisch kleine Unregelmäßigkeiten aufweist und das Faserende horizontal verfahren wird. Auch der Zustand des Filterpapiers mag hier eine Rolle spielen, da Unregelmäßigkeiten in der Quellung und Benetzung auftreten könnten. Hierfür bestand zumindest makroskopisch kein Anhalt. Wegen der Divergenz des aus der Faser austretenden Laserlichtes könnten bereits kleine Abstandsveränderungen eine Veränderung der Bestrahlungsdosis bewirkt haben. Eine Vergrößerung des Abstandes geht nämlich mit einer quadratischen Abschwächung der Bestrahlungsstärke einher, da sich der Spotdurchmesser vergrößert. Deshalb wurde darauf Wert gelegt, dass der Abstand von der NH-Oberfläche nicht viel größer als der Faserdurchmesser war, da dann Schwankungen des Abstandes nur zu vernachlässigbaren Veränderungen der Bestrahlungsstärke führen. Es ist allerdings unwahrscheinlich, dass Abstandsveränderungen allein die beobachteten starken Schwankungen der Abtragung verursachten. Auch Wesendahl et al. beobachteten starke Schwankungen der Ablationstiefe (bei



lung mit 2,0 J/cm<sup>2</sup> durch eine Saphirfaser unter PFD. a Die OCT (Scanlänge 1,01 mm) zeigt einen sehr oberflächlichen Netzhautdefekt (zwischen den Pfeilen). b Die entsprechende Histologie (Endvergrößerung 210fach, HE-gefärbt) zeigt einen Gewebeschaden bis in die Nervenfaserschicht (zwischen den Pfeilen) ohne thermische Nekrosezone. Der Defektdurchmesser beträgt etwa 370 µm und entspricht annähernd dem **Faserdurchmesser** 

10,0 J/cm² betrugen sie bis zu 12,9  $\mu$ m). Sie vermuteten als mögliche Ursachen Abstandsvariationen, Strahlungsstreuung und evtl. auf der Oberfläche verbliebene Glaskörperreste [21].

Wenn das Faserende zur Übertragung des Laserlichtes ohne Kontakt zur Netzhautoberfläche positioniert wird, befindet sich je nach Faserposition eine Flüssigkeitsschicht unterschiedlicher Dicke zwischen Faserende und Netzhautoberfläche. Auch bei Einhaltung eines nur sehr kleinen Abstandes lässt sich die Flüssigkeit nicht völlig verdrängen. Schon vor Erreichen der Netzhautoberfläche wird daher Laserenergie im Glaskörper absorbiert. Dieses Problem wurde von Frenz et al. durch Verwendung flüssiger Perfluorkarbone gelöst, die das Er:YAG-Laserlicht sehr gut transmittieren [7]. Durch Perfluordekalin wurden die Dosisvariationen minimiert und die Effizienz bei gleicher Dosis erheblich verbessert. Dadurch wurde zusätzlich auch die Ausbildung von Kavitationsblasen unmittelbar am Faserende verhindert, deren Dynamik zu mechanischen Netzhautschäden führen kann [7]. Solche Kavitationsblasen können nur entstehen, wenn sich zwischen Faserende und Netzhaut ein Flüssigkeits-

film oder Glaskörperreste befinden, die das Laserlicht absorbieren. Bei Ablation in Luft verbleibt trotz sorgfältiger Säuberung mit einem Keiltupfer sicherlich eine dickere Flüssigkeitsschicht auf der Netzhautoberfläche. Schon eine Schicht von wenigen Mikrometern Dicke reicht aus, um die Netzhaut vom Laserlicht abzuschirmen. Daher ist die Abtragung und somit Effektivität des Lasers in Luft geringer und unberechenbarer. Unter klinischen Bedingungen wäre ein Arbeiten unter Luft außerdem nicht sehr vorteilhaft, da der schlechtere Einblick eine exakte Abstandskontrolle erschweren würde. Auch hier erweist sich das PFD als vorteilhaft, dessen Brechungsindex denen der transparenten Medien des Auges ähnelt und somit eine gute Visualisierung und Kontrolle der Manipulationen erlaubt. Durch seine hohe Dichte von 1,92 kg/l ist PFD außerdem in der Lage, verbleibende Flüssigkeitsreste zu verdrängen [22].

Als Hauptursache für die starken Schwankungen der Gewebeabtragung wurde von uns die inhomogene Intensitätsverteilung am Low-OH-Quarzfaserende angenommen, die nicht einer idealen Rechteckverteilung entsprach, was auch

die unterschiedliche Breite der Defekte bei gleicher Energiedosis erklären würde. Um die Intensitätsverteilung am Faserende zu verbessern, wurde daher eine Versuchsreihe mit einer Saphirfaser unter PFD durchgeführt. Diese Faser ist mit 2 m wesentlich länger als die Low-OH-Quarzfaser (10 cm), und dadurch kann sich eine homogenere Lichtverteilung am Faserende ausbilden. Wegen der geringen Transmission des Er:YAG-Laserlichtes in Quarz können nur kurze Faserstücke verwendet werden. Die Ergebnisse mit der Saphirfaser zeigten eine deutlich homogenere Abtragung sowie reproduzierbarere Defekte, die dem Faserdurchmesser entsprachen. Diese Ergebnisse unterstützen daher unsere Vermutung, dass die Low-OH-Faser nicht zur Abtragung von Netzhautschichten oder epiretinalen Membranen geeignet ist. Bei 2,0 J/cm² Bestrahlungsdosis konnten wiederholt Defekte mit der Saphirfaser erzielt werden, die die Nervenfaserschicht nicht überschritten. Für noch geringere Abtragungen, die z. B. auf die Membrana limitans interna begrenzt sind, kommen Bestrahlungsstärken unter 1,0 J/cm² in Betracht. Jedoch waren bei 1.0 I/cm<sup>2</sup> auch sehr oberflächliche Defekte der Nervenfaserschicht zu erkennen. Es ist Ziel weiterer Untersuchungen, diese niedrigen Dosisbereiche genauer zu untersuchen. Dies erscheint sinnvoll, da die Benutzung von Indocyaningrün, welches die chirurgische Entfernung der MLI deutlich erleichtert hat, aufgrund fraglicher Toxizität zurzeit kritisch hinterfragt wird.

Neben der schwankenden Ablationstiefe waren in den Low-OH-Quarzfaser-Versuchsreihen histologisch häufig lokalisierte Abhebungen der Netzhaut im Bereich der behandelten Zone zu beobachten, die allerdings in den OCT-Bildern nicht zu erkennen waren. Da die Größe der Abhebungen oberhalb des Auflösungsvermögens der OCT lag, handelt es sich daher wohl um histologische Artefakte. Andernfalls wären diese Veränderungen nur durch eine Art Sogwirkung zu erklären, die durch den Kollaps einer Kavitationsblase entsteht [19]. Die Blase könnte dabei vermutlich durch die Verdampfung der oberflächlichen Netzhautschicht während der Laserablation im PFD erzeugt worden sein.

Als weiterer Nachteil wurden mit der Low-OH-Quarzfaser thermische Nekrosezonen beobachtet. Hill et al. untersuchten 1993 den Einfluss der Pulsdauer des Er:YAG-Lasers auf die Größe der thermischen Schädigungen bei der Abtragung des Trabekelwerks [11]. Während bei einer Pulsdauer von 50 µs der thermische Schaden bei ≤10 µm lag, beobachteten sie bei einer Pulsdauer von 250 µs einen Anstieg auf ≤50 µm. Die in unseren Versuchen beobachteten thermischen Schäden von bis zu 30 µm Dicke könnten also durch die längere Pulsdauer von 400 us entstanden sein und evtl. durch die Verwendung eines gütegeschalteten Er:YAG-Lasers, der deutlich kürzere Pulse erlaubt, vermindert werden. Auffällig war, dass Retinaexplantate, die unter 3,0 J/cm2 mit der Saphirfaser behandelt wurden, keine thermischen Nekrosezonen aufwiesen.

#### Resümee

Die Abtragung innerer Netzhautschichten mit dem Er:YAG-Laser ist grundsätzlich möglich. Unsere Untersuchungen zeigten jedoch, dass sich die Low-OH-Quarzfaser weder unter Luft noch unter PFD für eine reproduzierbare definierte Gewebeabtragung eignet. Um die Homogenität der Lichtverteilung am Faserende zu verbessern und die Abtragung zu optimieren, wurde eine 2 m lange Saphirfaser verwendet. Die Ergebnisse mit dieser Faser waren so ermutigend, dass es vorstellbar ist, eine homogene Ablation von so geringem Ausmaß zu erzeugen, wie sie z.B. für eine sichere und selektive Entfernung epiretinaler Membranen oder der Membrana limitans interna notwendig wäre. Daher sind weitere Versuche mit einer Saphirfaser bei geringerer Dosis geplant. Bei höherer Dosis könnte der Er:YAG-Laser womöglich aber von Nutzen im Hinblick auf die atraumatische Durchführung einer Reti-

nektomie, die Abtragung von Ziliarkörpermembranen und die Entfernung von Tumorresten nach Endoresektion, sein. Die optische Kohärenztomographie ist als Schnelltest zur groben Beurteilung der Tiefe der Lasereffekte gut geeignet. Das Auflösungsvermögen konventioneller OCT-Systeme ist jedoch zur Differenzierung der innersten Netzhautschichten zu gering.

# Literatur

- 1. Binder S, Stolba U, Kellner L, Krebs I (2000) Erbium: YAG laser vitrectomy: clinical results. Am J Ophthalmol 130:82-86
- 2. Brazitikos PD, D'Amico DJ, Bernal MT, Walsh AW (1995) Erbium: YAG Laser surgery of the vitreous and retina. Ophthalmology 102:278-290
- 3. D'Amico DJ, Blumenkranz MS, Lavin MJ et al. (1996) Multicenter clinical experience using an Erbium: YAG laser for vitreoretinal surgery. Ophthalmology 103:1575-1585
- 4. D'Amico DJ, Brazitikos PD, Marcellino GR et al. (1996) Initial clinical experience with an Erbium: YAG laser for vitreoretinal surgery. Am J Ophthalmol 121:414-425
- 5. D'Amico DJ, Moulton RS, Theodossiadis PG, Yarborogh JM (1994) Erbium: YAG laser photothermal retinal ablation in enucleated rabbit eyes. Am J Ophthalmol 117:783-790
- 6. Faude F, Wolf S, Wiedemann P (2000) Flüssige Perfluorkarbone in der Glaskörper- und Netzhautchirurgie. Ophthalmologe 97:652-661
- 7. Frenz M, Pratisto H, Toth CA et al. (1996) Perfluorcarbon compounds: transmitting liquids for infrared laser-tissue ablation. SPIE Proc Laser Tissue Interaction VII. 2681:343–352
- 8. Fujimoto JG, Brezinski ME, Tearney GJ et al. (1995) Optical biopsy and imaging using optical coherence tomography. Nat Med
- 9. Gailitis RP, Patterson SW, Samuels MA et al. (1993) Comparison of laser phacovaporisation using the Er-YAG and the Er-YSGG laser. Arch Ophthalmol 111:697
- Hale GM, Query MR (1973) Optical constants of water in the 200-nm to 200-µm wavelength region. Appl Opt 12:555-563

- 11. Hill RA, Stern D, Lesiecki ML et al. (1993) Effects of pulse width on Erbium: YAG laser photothermal trabecular ablation (LTA). Lasers Surg Med 13:440-446
- Höh H, Fischer E (2000) Pilot study on Erbium laser phacoemulsification. Ophthalmology 107:1053-1062
- 13. Janknecht P, Feltgen N, Wesendahl T et al. (2001) Internal limiting membrane ablation in pig eyes with the Er:YAG laser under perfluorodecalin. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 239:705-711
- Klink T, Lieb W, Grehn F (2000) Erbium-YAG laser-assisted preparation of deep sclerectomy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 238:792-796
- Krause M, Steeb D, Foth HJ et al. (1999) Ablation of vitreous tissue with Erbium:YAG laser. Invest Ophthalmol Vis Sci 40:1025-1032
- Mrochen M, Petersen H, Wüllner C, Seiler T (1998) Experimentelle Ergebnisse zur Erbium:YAG-Laservitrektomie. Klin Monatsbl Augenheilkd 212:50-54
- Özler SA, Hill RA, Andrews JJ et al. (1991) Infrared laser sclerostomies. Invest Ophthalmol Vis Sci 32:2498
- Peyman GA, Katoh N (1987) Effects of an erbium: YAG laser on ocular structures. Int Ophthalmol 10:245-253
- Vogel A, Brujan EA, Schmidt P, Nahen K (in press) Interaction of laser-produced cavitation bubbles with an elastic tissue model. In: Jacques S (ed) Laser tissue interaction XII, Proc SPIE 4257
- Walsh JT Jr, Deutsch TF (1989) Er:YAG laser ablation of tissue. Measurement of ablation rates. Lasers Surg Med 9:327
- Wesendahl T, Janknecht P, Ott B, Frenz M (2000) Erbium: YAG Laser ablation of retinal tissue under perfluordecaline: determination of laser-tissue interaction in pig eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci 41:505-512
- 22. Winter M, Eberhardt W, Scholz C, Reichenbach A (2000) Failure of potassium siphoning by Muller cells: a new hypothesis of perfluor carbon liquid-induced retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 41:256-261