

Aus der Augentagesklinik am Spreebogen
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Schädigungspotential ultrakurzer Laserpulse für die Netzhaut bei
refraktiv-chirurgischen Eingriffen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité
Universitätsmedizin Berlin

von

Meike Sander

aus Bielefeld

Datum der Promotion: 25. Oktober 2013

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	2
Abstrakt deutsch	2
Abstract english	3
Einführung	4
Methodik	6
Ergebnisse	8
Diskussion	14
Anhang	18
Literaturverzeichnis	22
Eidesstattliche Versicherung	24
Anteilerklärung	25
Ausgewählte Publikationen	27
1 Fundus oculi pigmentation studies simulating the fs-LASIK process	27
2 Comparison of Retina Damage Thresholds Simulating the Femtosecond Laser in situ Keratomileusis (fs-LASIK) Process with Two Laser Systems in the cw- and fs-Regime	33
3 Monitoring the cutting process of the laser-induced optical breakdown (LIOB) during femtosecond-laser in-situ keratomileusis (fs-LASIK)	41
Lebenslauf	48
Komplette Publikationsliste	50
Danksagung	51

Zusammenfassung

Abstrakt deutsch

Seit Anfang der 90er Jahre wird das LASIK-Verfahren als erfolgreiche ophthalmologische, refraktiv-chirurgische Methode zur Korrektur von Fehlsichtigkeit am Patienten eingesetzt. Diese lange Zeit dominierende Behandlungsmethode wird heute zusehends durch eine neue Lasertechnologie ergänzt, bei der eine Fehlsichtigkeitskorrektur ohne mechanische Einwirkung zum Tragen kommt; hierbei werden ultrakurze Laserpulse von wenigen hundert Femtosekunden Länge zum Einsatz gebracht. Bei diesem fs-LASIK-Verfahren wird der Schneideffekt im Inneren der Cornea durch den im Fokus auftretenden optischen Durchbruch (LIB) erzielt. Dabei wird nur ein Teil der Pulsenergie im Fokus deponiert, der Laserstrahl propagiert weiter durch die klaren Augenmedien hindurch und trifft defokussiert auf die dahinter liegenden Schichten.

Bei den herkömmlichen Standardverfahren in der refraktiven Chirurgie, wie PRK und LASIK, kann eine Schädigung des retinalen Gewebes aufgrund der vollständigen Absorption der UV-Strahlung vom cornealen Gewebe während des Abtragungsprozesses ausgeschlossen werden [1].

Ziel der vorliegenden Studie ist daher die Untersuchung und Einschätzung des möglichen Netzhautschädigungspotentials während der fs-LASIK.

Die Untersuchung wird an enukleiertem, porkinem Gewebe mit Hilfe einer Simulation des fs-LASIK-Prozesses durchgeführt. Zu diesem Zweck wird zunächst der Prozessaufbau zur Simulation erstellt, ein reproduzierbares Probenhandlings-Verfahren zur Durchführung entwickelt und die möglichen Schädigungsmechanismen eingehend charakterisiert, sowie die Schwellwerte in Abhängigkeit der Einflussfaktoren Nachweisverfahren, Gewebe, Laserparameter, Prozessparameter und der medizinisch-experimentellen Einflussfaktoren eruiert. Zum Einsatz kommen ein Titan-Saphir-Laser im cw-Betrieb im Wellenlängenbereich von 780nm und ein Laser mit einer Pulslänge im fs-Bereich von 1031nm, die mittels fokussierender Linsen mit unterschiedlichen numerischen Aperturen den Bestrahlungsprozess *ex-vivo* simulieren.

Die Ergebnisse aus diesen Untersuchungen zeigen, dass neben vielen anderen Einflussfaktoren die natürlich gegebenen biologischen Variationen der individuellen Gewebeproben einen starken Einfluss auf die Temperaturverteilung an der Retina und somit auf die Netzhautschädigungsschwellwerte haben. Die Retina-Studien belegen weiterhin, dass durch den Einsatz von fokussierenden Optiken mit höheren numerischen Aperturen bis $NA=0,5$ das Netzhautschädigungsrisiko verringert werden kann. Bei Pulsdauern von 600fs-800fs, einer maximalen Pulsamplitude von 8,3mW mit einer Repetitionsrate von 60kHz, wie sie unter anderem derzeit von Herstellern auf dem Markt angeboten werden, kann nach diesen Studien mit einer $NA=0,3$ der Einsatz als gefahrlos eingestuft werden.

Schlagwörter: Laser, ultrakurze Laserpulse, refraktive Chirurgie, fs-LASIK, Netzhautschädigung, Einflussfaktoren

Abstract english

Since the beginning of the 1990s, laser in situ keratomileusis procedure (LASIK) has been successfully implemented in refractive eye surgery to correct ametropia.

Nowadays this long time commanding treatment method is enhanced by implementing a new laser technology. It is based on correcting ametropia by applying ultrashort laser pulses in the fs-regime without using mechanical effect.

Within this new technique the cutting process inside the cornea is achieved by a laser induced breakdown (LIB) in the focus. During this process, not all of the pulse energy is deposited onto the cornea, but rather the laser beam propagates through clear ocular media of the eye and reaches the absorbing layers behind defocused.

In the current standard refractive surgery procedures, such as PRK and LASIK, retina tissue damage is excluded because of the complete absorption of UV-irradiation from corneal tissue during ablation [1].

Therefore the aim of this project is the investigation and evaluation of the possible retina damage during fs-LASIK.

By using enucleated porcine tissue this study is conducted with the help of a fs-LASIK simulation process.

Therefore the setting for the process-simulation is generated, a replicating tissue procedure is developed and the possible damage mechanisms are characterized. As a function of the influencing factors verification procedure, tissue, laser-, process- and medical-experimental-parameters the thresholds are determined.

A Titan-Sapphire-laser system in the cw-mode with 780nm and a fs-laser with 1031nm wavelength are used simulating *ex-vivo* the LASIK process using focusing lenses with varying numerical apertures.

The results of these studies prove that aside from factors mentioned above, natural biological variations of individual tissues can have tremendous influences on the temperature distribution of the retina, and therefore on the retina damage threshold as well.

By using focussing lenses with numerical apertures up to $NA=0.5$ our clinical trials show a decreasing risk of retina tissue damage.

Based on these studies the application of fs-laser pulses as offered in the current market by medical supply companies amongst others, can be classified as safe with a pulse duration of 600fs-800fs, 8.3mW maximum pulse amplitude by a repetition rate of 60kHz and a numerical aperture of $NA=0.3$.

Keywords: Laser, ultra short laser pulses, refractive surgery, fs-LASIK, retina tissue damage, influencing factors

Einführung

Der Einsatz ultrakurzer Pulse im fs-Regime in der refraktiv-chirurgischen Augenbehandlung, die von der Gruppe um Juhasz und Kurtz erstmalig 1997 vorgestellt wurde, birgt für die Industrie ein gewaltiges Anwendungspotential [2].

Diese Weiterentwicklung basiert auf den bei der LASIK beschriebenen Komplikationen mit der Schnittführung durch das Mikrokeratom und verzichtet durch den Einsatz des fs-Lasers auf eine mechanische Klinge. Die Wellenlänge liegt bei dieser Anwendung im nah-infraroten Bereich, für die die Hornhaut weitgehend transparent ist. Die ultrakurzen Pulse werden zunächst, um am Ort des Fokus einen optischen Durchbruch zu erzeugen, entsprechend stark fokussiert. Eine Scannereinheit erzielt durch das Aneinanderreihen einzelner optischer Durchbrüche einen kontinuierlichen Schnitt im Innern des Gewebes, um eine kreisförmige Teilung zu erreichen. Durch eine zweite Schnittführung wird ein Lentikel präpariert, das anschaulich einem Negativbild der benötigten Kontaktlinse darstellt. Dieser Schnitt wird, um das Lentikel entnehmen zu können, bis an die Oberfläche geführt. Analog zur bereits etablierten LASIK wird nun die Hornhaut geöffnet, das Lentikel entnommen, und ohne die Notwendigkeit einer Naht verschließt sich die Hornhaut aufgrund von Adhäsionskräften. Die für das Epithel behutsame, intrastromale Gewebeentnahme ist in der nachfolgenden Abbildung (1) verdeutlicht.

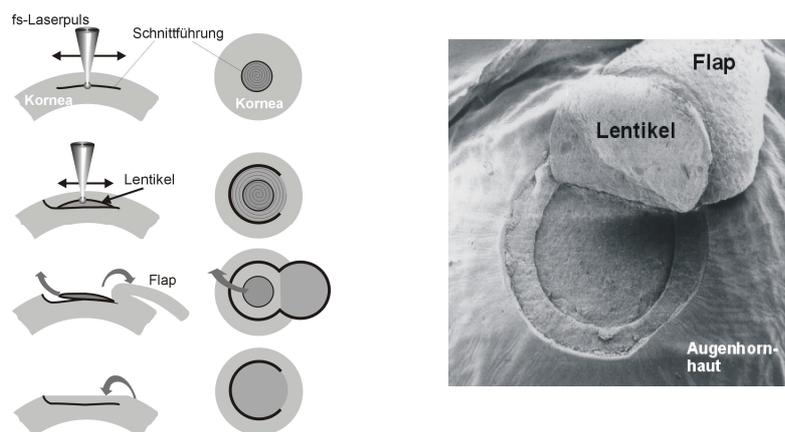


Bild 1: Prinzip der fs-LASIK [3] und Präparation eines intrastromalen Lentikels mittels fs-Laserpulsen

Ein Vorteil dieses Verfahrens gegenüber den herkömmlichen Standardverfahren liegt in der Gegebenheit, dass durch den Photodisruptionsprozess das umliegende Gewebe mechanisch und thermisch wenig beschädigt wird. Klinisches Interesse liegt auch in der Möglichkeit der beliebigen Schnittführung durch den Laser und damit der beliebig wählbaren Gewebegeometrie.

Der Einsatz der fs-LASIK birgt ein Risikoschädigungspotential für die Retina, da die klaren Augenmedien im Vorderabschnitt des Auges für diese Wellenlängen transparent sind [4,5]. Eigene Untersuchungen in der Wechselwirkungszone des optischen Durchbruchs ergaben, dass ca. nur die Hälfte der Pulsenergie im Fokus deponiert wird und der restliche Strahlanteil durch das Auge propagiert und stark defokussiert auf die Netzhaut trifft [6].

In Deutschland wird der Umgang mit Lasern in der DIN EN 60825-1 und in der BGI 832 in der zurzeit gültigen Fassung festgeschrieben [7, 8].

Bei Anwendung der MZB-Richtwerte aus den DIN-Normen und der BGI auf die in dieser Studie zu verwendenden Parameter zur Simulation der fs-LASIK unter Worst Case-Bedingung bedeutet dies, dass bei numerischen Aperturen von 0,23-0,47 und den Bestrahlungszeiten zwischen 20s-150s retinale Leistungsdichten von $3,18\text{W}/\text{cm}^2$ bis $0,55\text{W}/\text{cm}^2$ erreicht werden, die die maximal erlaubten MZB-Werte um den Faktor 12 übersteigen (Berechnung MZB-Werte im Anhang).

Zielstellung

Das Ziel dieser Studie ist die systematische Erforschung des Gefährdungspotentials ultrakurzer Laserpulse für die Netzhaut unter fs-LASIK-Bedingungen und die Erstellung eines Parameterkatalogs, der als Anhaltspunkt dafür dient, in welchem Parameterraum defokussierte, ultrakurze Laserpulse für den Hinterabschnitt des Auges eine potentielle Gefahr darstellen. Die Schwellwerte zur Netzhautschädigung sollen in einer geeigneten graphischen Form aufgearbeitet werden. Die resultierenden Schädigungsmerkmale werden charakterisiert und die Schwellwerte in Abhängigkeit der Einflussfaktoren Nachweisverfahren, Laser-, Prozessparameter, Gewebe und der medizinisch-experimentellen Faktoren eruiert. Die Zusammenhänge aus den Abhängigkeiten der Einflussfaktoren werden ermittelt.

Die Ergebnisse der Diagnostik werden mit den Resultaten aus den einschlägigen DIN-Normen verglichen und vor dem Hintergrund möglicher Risiken bei der fs-LASIK diskutiert.

Methodik

Prozessaufbau

Für den Prozessaufbau werden zunächst die für die Simulation des fs-LASIK-Prozesses notwendigen äußeren Rahmenbedingungen wie der experimentelle Aufbau geschaffen, in den nacheinander zu Vergleichszwecken ein Lasersystem im Dauerstrichbetrieb (cw-Exposition) und ein System im gepulsten Betrieb (fs-Exposition) eingekoppelt werden (Bild 2).

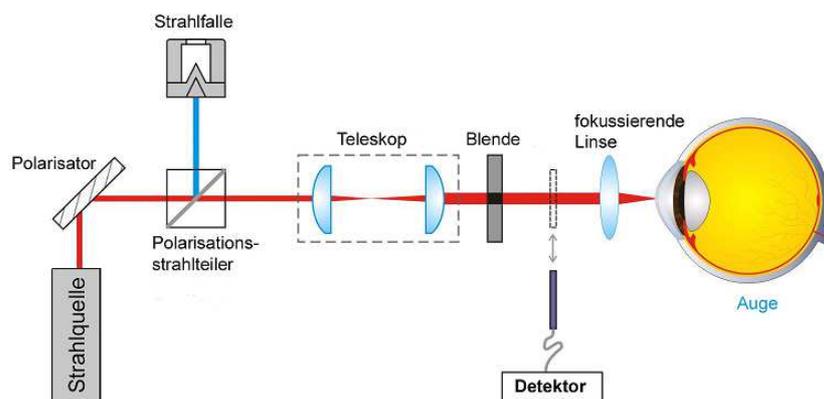


Bild 2: schematischer Aufbau zur Simulation der fs-LASIK

Zwecks Umsetzung der Simulation wird eine Fixier – und Positioniereinrichtung konstruiert, die während des Prozesses den Bulbus schonend platziert. Diese Halterung muss gewährleisten können, dass anatomische Variationen der Gewebeproben entsprechend berücksichtigt bzw. weitgehend kompensiert werden können, um die optische Strahlformung reproduzierbar auf der Retina einstellen zu können. Für das experimentelle Handling des Probenmaterials vor, während und nach Prozesssimulation wird eine Routine derart entwickelt, dass eine schonende und ebenso reproduzierbare Handhabung garantiert werden kann.

Zur Laserstrahlcharakterisierung in Wechselwirkungsebene und der daran anschließenden makroskopischen und histologischen Analyse ist es notwendig, dass die Lage und Ausdehnung des Laserstrahl-Spotdurchmessers während der Simulation mit geeigneten Methoden gekennzeichnet werden kann. Dazu wird während der eigentlichen Laserprozedur die bestrahlte Fläche detektiert und bis zur anschließenden Auswertung mit Markern versehen. Des Weiteren werden in diesem Zusammenhang sowohl eine experimentelle als auch eine rechnerische Bestimmung des Bestrahlungsareals unter fs-LASIK-Bedingung vorgenommen.

Für die Überwachung des optischen Durchbruchs während des Laserprozesses wird ein Detektor zur Überwachung des Disruptionsprozesses aufgebaut, so dass eine permanente Analyse stattfinden kann.

Prozesssimulation

Zur Prozesssimulation werden für die verschiedenen Lasersysteme systematisch *ex-vivo*-Untersuchungen zur Ermittlung der Schwellwerte in Abhängigkeit von den Gewebe- und Laserparametern durchgeführt; dabei wird der Worst Case simuliert. D.h. in der Cornea wird kein optischer Durchbruch initiiert, da die nichtlinearen Effekte im Bereich des Laserfokus aufgrund der lokalen Energiedeposition die Worst Case-Schwellwerte mindern würden.

Zur Ermittlung der Schwellwerte sowie zur Darstellung der quantitativen Ausprägung der unterschiedlichen Schädigungsmerkmale, werden für typische Wellenlängen (780nm, 1031nm) die Parameter Zeit (20s bis 150s), die Laserleistung (80mW bis 1,6W) und die numerische Apertur (0,08 bis 0,47) systematisch variiert (Kennwerte siehe Anhang Tabelle 1 und 2). Als Gewebeproben werden enukleierte Schweineaugen aus Schlachthöfen von vier bis sechs Monate

alten deutschen Hausschweinen beschafft, die dem menschlichen Auge in ihrer physiologischen Beschaffenheit und den funktionalen Bestandteilen der Netzhaut relativ ähnlich sind [9]; albinotische Augen kommen nicht zum Einsatz.

Pro Parametersatz werden fünf Augen gelasert. Für die makroskopische Befundung gilt eine weißliche Verfärbung der Retina als eindeutiger Beweis für eine Gewebeveränderung, d.h. einer Läsion; für die histologische Befundung sind Veränderungen in den einzelnen Schichten das ausschlaggebende Merkmal eines Schadens (Bild 3).

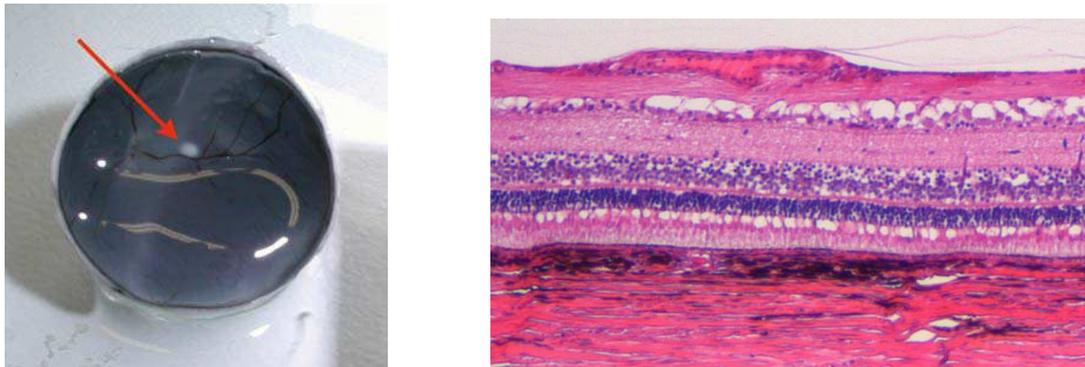


Bild 3: makroskopischer Nachweis einer Netzhautläsion links, histologischer Nachweis rechts

Zur Überwachung des Disruptionsprozesses während der LASIK muss die Leistung vor und hinter dem gezündeten optischen Durchbruch gemessen und charakterisiert werden. Dafür wird ein Detektor aufgebaut, so dass eine permanente Analyse während der Augen-OP stattfinden kann (Kennwerte siehe Anhang Tabelle 3).

Prozessanalyse

Die makroskopischen und histologischen Auswertungen erfolgen in Abhängigkeit der Einflussfaktoren. Da das retinale Schädigungspotential nicht nur von den Laserparametern, sondern auch von der individuellen Pigmentierung des Augenhintergrundes abhängt, wird zusätzlich auch die Abhängigkeit der makroskopischen Schwelle von der Funduspigmentierung analysiert. Diese Versuche werden mit dem fs-Laser durchgeführt (Kennwerte siehe Anhang, Tabelle 4). Zur weiteren Analyse der Ergebnisse ist es notwendig, die Fokusslage und das Bestrahlungsareal zu bestimmen (Tabelle 5).

Ergebnisse

1. Ergebnis Bestrahlungsareal

Das berechnete retinale Bestrahlungsareal wird aus der mittels Knife-Edge-Methode bestimmten Fokusgröße bestimmt. Tabelle 6 im Anhang gibt -basierend auf der Gauß'schen Optik und den optischen Eigenschaften des Auges (Gullstrand-Auge) - die berechneten Radien und die Bestrahlungsareale auf der Netzhaut in Abhängigkeit von der NA an. Die experimentell ermittelte Bestrahlungsarealabschätzung bestätigt mit einer relativen Abweichung von 15% diese Werte [10].

2. Ergebnis Detektion optischer Durchbruch

Das arithmetische Mittel aus den ermittelten Werten bei der Überwachung des optischen Durchbruchs ist in Bild a im Anhang dargestellt.

Bei einer Repetitionsrate von 9,55MHz, einer NA=0,23 und einer Pulsdauer von 330fs liegt der gemessene optische Durchbruch für diesen Versuchsaufbau zwischen 41nJ und 44nJ (390mW-420mW). Der ermittelte Graph wird durch zwei Bereiche charakterisiert. Der erste Bereich bis zum optischen Durchbruch kann mit einem nahezu linearen Anstieg beschrieben werden. Die Steigung von 0,82 basiert auf den Verlusten durch die eingesetzten Optiken. Nach dem optischen Durchbruch nimmt die Steigung deutlich ab und erreicht Werte von ca. 0,51-0,58, d.h. die eingebrachte Leistung wird teilweise im Bereich des optischen Durchbruchs zur Initiierung des Plasmas umgesetzt, ca. 40% propagieren durch die Küvette und erreichen den angeschlossenen Detektor. Im entstehenden Plasma wird die eingestrahlte Laserenergie absorbiert [10].

3. Ergebnisse Schwellwerte zur Netzhautschädigung

Zur Darstellung der ermittelten Ergebnisse wird die Schädigung in graphischer Form dargestellt. Dabei wird auf den Achsen die Bestrahlungsleistung an der Cornea gegenüber der Schädigungswahrscheinlichkeit aufgetragen. Die ermittelten Messpunkte werden durch die Boltzmann-Funktion approximiert, die mathematisch den ED_{50} -Schädigungswert berechnet, bei der mit 50%-iger Wahrscheinlichkeit eine Schädigung des Gewebes erreicht wird. Aus der makroskopischen Befundung ergibt sich der gefundene $ED_{50Makro}$ -Wert, aus der histologischen Befundung der $ED_{50Histo}$ -Wert. Bild b im Anhang zeigt exemplarisch die Gegenüberstellung der Ergebnisse der ED_{50} -Schädigungswerte makroskopisch- und histologisch für 20s Einstrahldauer im cw-Betrieb bei NA =0,1. Die Schädigungsschwelle unterliegt dabei keiner klar definierten Grenze, vielmehr ist sie ein Bereich, in dem sich die Messergebnisse über ein Leistungsintervall erstrecken, deren Genauigkeit direkt mit der Probenanzahl korreliert [11].

4. Einflussfaktoren

4.1 Einflussfaktoren Laserparameter

4.1.1 Zusammenfassung Ergebnisse cw-Exposition

Die ermittelten histologischen und makroskopischen Schwellwerte im cw-Bereich sind in Bild c (Anhang) dargestellt. Die daraus resultierenden Leistungsdichten auf der Retina, I_{Makro} und I_{Histo} (I = Laserleistung/Bestrahlungsareal) sind ebenso dargestellt.

Tendenziell ist ein deutlicher Abfall der Schwellwertbestrahlungsleistung bei steigender Bestrahlungsdauer ersichtlich. Die histologischen Ergebnisse mit einer numerischen Apertur von

0,2 ergeben im Vergleich zu $NA=0,1$ einen Anstieg der histologischen Schwelle mit sinkenden Leistungsdichten aufgrund des größeren Bestrahlungsareals bei $NA=0,2$.

Im nachfolgenden Bild 4 sind exemplarisch histologische Schnitte von Schädigungen mit cw-Exposition dargestellt. Deutlich ist zu erkennen, dass sowohl die Photorezeptorenschicht als auch das Pigmentepithel verändert sind [11].

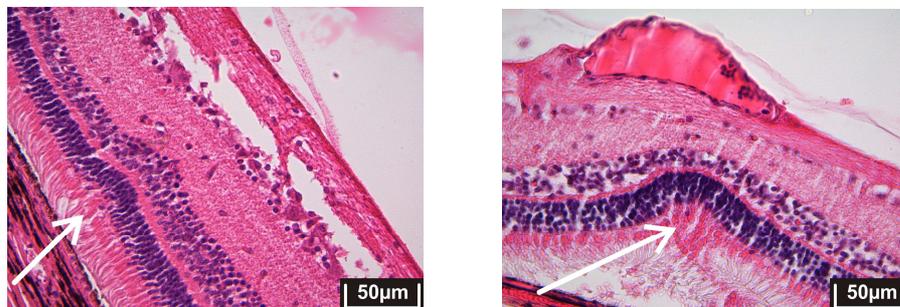


Bild 4: Schädigung links: $t_{cw}=20s$, $P_{cw}=400mW$, $NA_{cw}=0,1$, rechts: $t_{cw}=40s$, $P_{cw}=550mW$, $NA_{cw}=0,1$

4.1.2 Zusammenfassung Ergebnisse fs-Exposition

Die Zusammenfassung der ermittelten makroskopischen und histologischen Schwellwerte des Amplitude-Lasers in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit incl. der daraus resultierenden Leistungsdichten auf der Retina ist in Abbildung d (Anhang) graphisch veranschaulicht. Für die fs-Exposition konnten nicht für alle Parametersätze histologische Schwellwerte ermittelt werden; die ermittelten Parameter jedoch bestätigen die makroskopisch gefundenen Werte.

Zusammenfassend lässt sich für die Schwellwerte im fs-Bereich ein Abfall der Schwellwertbestrahlungsleistungen mit steigender Expositionszeit erkennen, analog zu den Ergebnissen im cw-Bereich. Eine direkte Proportionalität zwischen der Bestrahlungszeit und der eingebrachten Energiedichte existiert nicht [11].

Im nachfolgenden Bild 5 sind exemplarisch histologische Schnitte von Schädigungen mit fs-Exposition dargestellt.

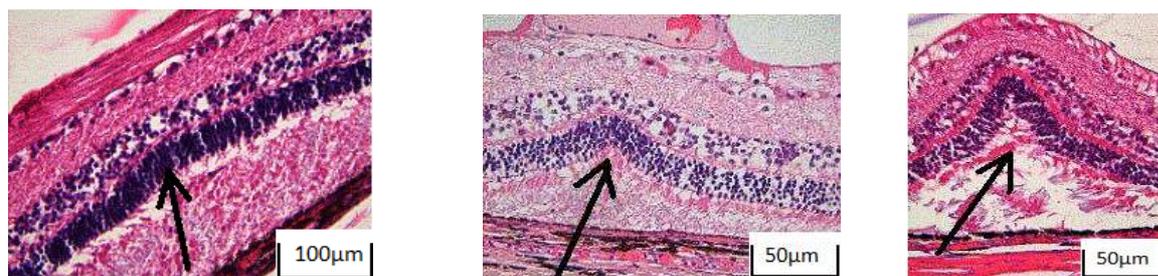


Bild 5: Schädigung mit fs-Exposition links $t_{fs}=20s$, $P_{fs}=580mW$, $NA_{fs}=0,08$, Mitte; $t_{fs}=60s$, $P_{fs}=520mW$, $NA_{fs}=0,08$, Rechts $t_{fs}=40s$, $P_{fs}=1520mW$, $NA_{fs}=0,23$

Die Abhängigkeit der makroskopischen Schwellwerte von der Expositionszeit und dem Bestrahlungsareal auf der Retina aus den durchgeführten Versuchen ist in den Bildern e und f (Anhang) dargestellt. Deutlich ist zu erkennen, dass mit wachsendem Bestrahlungsareal auf der Netzhaut zwar die für einen makroskopischen Schaden eingebrachte Laserleistung steigt, die Schwellenleistungsdichte jedoch mit exponentieller Funktion sinkt.

Eine Exponentialfunktion erster Ordnung beschreibt den Zusammenhang zwischen der Leistungsdichte ρ und dem Bestrahlungsareal A_r , die unabhängig von der Expositionszeit, für

große Bestrahlungsareale ab einem Wert von ca. $A_r=2,5\text{cm}^2$ gegen $\rho=0,3\text{W}/\text{cm}^2$ tendiert und in Sättigung übergeht (Bild f Anhang). Die sinkende Schwellen-Leistungsdichte bei Zunahme des Bestrahlungsareals ist auf den Wärmeabtransport mit kleinerem Gradienten über eine längere Distanz in das umliegende Gewebe zurückzuführen, die aufgrund der im Gewebe verbliebenen Temperaturerhöhung über einen längeren Zeitraum zu einer Schädigung führt (Bild g Anhang).

4.2 Einflussfaktoren Nachweisverfahren

Aus den durchgeführten Versuchen und den ermittelten Schwellwerten der histologischen und makroskopischen Befundung ergibt sich, dass der histologische Schwellwert ca. 20%-30% niedriger liegt als der makroskopische. Es gilt:

$$ED_{50\text{histo}} = (0,7\dots\dots 0,8)ED_{50\text{makro}} \quad (i)$$

Der makroskopische Schwellwert wird jedoch durch die subjektiven Beurteilungskriterien des Beobachters beeinflusst, die durch die Pigmentierung des Fundus, der Größe des geschädigten Areals und der umgebenden Beleuchtung beeinträchtigt werden; er ist deshalb kein objektives Kriterium zur Schadensbeurteilung [4].

4.3 Einflussfaktoren Gewebe

Ein wesentlicher Unterschied zwischen porkinem und humanem Auge für diese Studien wird am hinteren Fundus des Schweineauges sichtbar und durch die Area retinae gekennzeichnet. Dieses Areal unterscheidet sich in Abhängigkeit zum Typus in seiner Form. Abbildung 6 stellt die streifenförmige Area retinae beim Schwein dar. Sie verläuft ca. in Höhe des Nervus opticus von temporal nach nasal und wird durch einen hellen Streifen charakterisiert.



Bild 6: Area retinae Schweineauge

Im hinteren Augenabschnitt hat die helle Zone im porkinen Fundus in der makroskopischen Befundung aufgrund des Erkennens und des Nichtvorhandenseins im humanen Bulbus Einfluss auf das Ergebnis. Der stark unterschiedlichen Pigmentierung wird bei den Schwellwertuntersuchungen vor Laserexposition Rechnung getragen, indem eindeutig erkennbare helle Fundi, die durch den vorderen Augenabschnitt makroskopisch erkennbar sind, sofort aussortiert werden und nicht an der Studie partizipieren. Zusätzlich wird der unterschiedlichen Pigmentierung in der histologischen Auswertung Rechnung getragen, indem die Beurteilung immer einen Hinweis auf den Grad der Pigmentierung enthält. Bei nicht eindeutig zu treffender Aussage, wie z.B. bei Vorlage einer Koinkidenz von hellem Streifen und Läsion, wird im Zweifelsfall ein viertes bzw. fünftes Auge nachgeschnitten. Dem negativen Einfluss des porkinen Gewebes, der im hinteren Augenabschnitt durch die Area retinae gekennzeichnet ist, wird, soweit möglich, durch die beschriebene Maßnahme entgegen gewirkt. Der vorhandene Einfluss bei der makroskopischen Befundung wirkt sich Schwellwert senkend aus.

Die Studien aus diesen Versuchsreihen lassen, aufgrund der ausschließlich durchgeführten *ex-vivo* Experimenten, keinen hinreichenden Schluss auf die Regenerationsfähigkeit des Gewebes und damit den Einfluss auf die Schwellwerte zu [12]. Die Migrations- und Proliferationseigenschaften der RPE-Zellen wirken sich *in-vivo* nach Überdeckung des Defektes Schwellwert senkend aus und müssen in nachfolgenden Studien noch eingehend eruiert werden.

4.4 medizinisch-experimentelle Einflussfaktoren

Der augenscheinliche Unterschied zwischen *ex-vivo* und *in-vivo* Studien bezieht sich neben der Regenerationsfähigkeit des Gewebes auf die Veränderung der retinalen Farbe ad mortem. Bei *in-vivo* Fundusbeobachtungen mittels Spaltlampe erscheint die neurale Retina durchsichtig bis leicht rötlich im hinteren Augenbereich (Bild 7), ad mortem verändert das Stratum nervosum seine Konsistenz und Darstellung, wird trüb und ist dann am Fundus als weißlich-graue Schicht zu erkennen. Die unterschiedliche Farbgebung hat jedoch keinen Einfluss auf das Schädigungspotential, da das Melanin als Hauptabsorber *ex-vivo* wie *in-vivo* vorhanden ist.

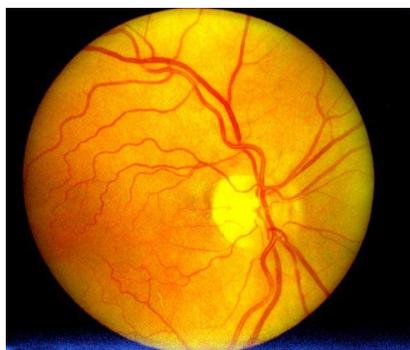


Bild 7: neurale Retina *in-vivo*



neurale Retina *ex-vivo*

Die porkinen Bulbi werden innerhalb einer kalten Ischämiezeit von ein bis drei Stunden, die dann von einer Ausgangstemperatur von 38°C auf Zimmertemperatur von ca. 20°C abgekühlt sind, post mortem gelasert. Irreversible Gewebeschädigungen sind ab einer Temperatur von 42°C zu verzeichnen, die bei *in-vivo* Bedingungen bei einer Temperaturdifferenz von 3°C bis 4°C entstehen. Bei den gewählten *ex-vivo* Bedingungen muss zur Gewebekoagulation eine Temperaturbarriere von 12K überschritten werden. Die veränderten Ausgangsbedingungen setzen das Schädigungspotential *ex-vivo* herab. Der fehlende Wärmeabtransport durch Konvektion, der *in-vivo* durch den retinalen Blutfluss stattfindet, setzt grundsätzlich gesehen die Schädigungsschwelle herab [4].

4.5 Einflussfaktoren Prozessparameter

Die Entstehung einer Netzhautveränderung bzw. einer Läsion ist in großem Maße auch von den Prozessen in der Cornea abhängig. Bei den durchgeführten Schwellwertuntersuchungen wurde durch die Wahl der Fokusslage kein optischer Durchbruch initiiert.

Während der LASIK-OP wird in der Cornea ein optischer Durchbruch erzeugt, der durch Lichtabsorption und Streuung die Schädigungswahrscheinlichkeit senkt, da durch das in der Cornea initiierte Plasma mehr Laserenergie am Ort des optischen Durchbruchs deponiert wird und wesentlich weniger Strahlung zur Retina gelangt.

Das wird auch in den durchgeführten Versuchen bestätigt. Die Auswertung der Abhängigkeit von den Folgen des gezündeten Plasmas in der Cornea zu der Netzhautreaktion ergibt, dass ca. 75 %

der Augen, die eine große bis sehr große Schädigung in der Cornea zu verzeichnen haben, makroskopisch im Fundus keine Läsion aufweisen. Hingegen verzeichnen 83% der geschädigten Augen mit einem sehr kleinen bis kleinen cornealen Schaden durch Plasmazündung eine makroskopische Retinaläsion. Aufgrund des gezündeten Plasmas in der Cornea wird die Streuung des Laserlichtes im Fokus dergestalt beeinflusst, dass die Bestrahlungsfläche auf dem Fundus vergrößert wird [4].

5. Ergebnisse Pigmentstudien

Die in der Literatur erläuterten intra- und interindividuell abhängige Pigmentierung des menschlichen Gewebes am Fundus kann auch durch eigene makroskopische Analysen bestätigt werden. Bild 8 zeigt die pigmentierungsabhängigen Farben der biologischen Proben. Da die unterschiedlichen Ausprägungen der Pigmentierung in der Literatur nicht unterteilt sind, werden die untersuchten Proben in schwach, mittel und stark pigmentiert semiquantifiziert.

Die Ergebnisse aus den eigenen Studien, die in Tabelle 7 zusammengefasst sind, wurden bei einer $NA=0,8$ bei 150s Bestrahlungszeit und 1,6 W mit dem Amplitude-Laser durchgeführt und zeigen eindeutig, dass sowohl die Größe als auch die Existenz eines makroskopischen Schadens von der Pigmentierung des Augenhintergrundes abhängen [12].

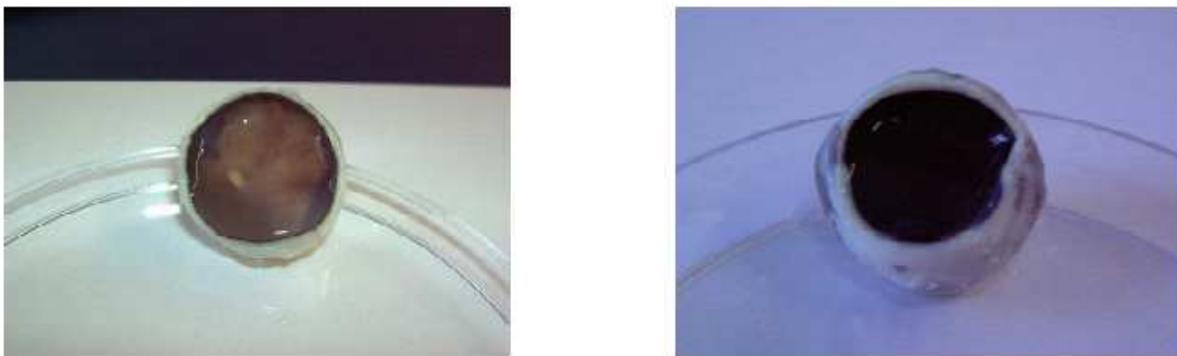


Bild 8.:Darstellung Vergleich Funduspigmentierung, links schwach pigmentiert, rechts normal-stark pigmentiert

Der Hauptteil (69,7%) der untersuchten Augen weist einen stark pigmentierten dunklen Fundus auf, 25,2% der Fundi sind schwach pigmentiert. Die Analyse der entstandenen Läsionen im Fundus ergibt, dass auf den dunklen Fundi in 96% der Fälle ein makroskopischer Schaden zu verzeichnen ist, währenddessen auf den hellen Fundi nur in 6% der Proben ein Schaden zu erkennen ist. Zusätzlich sind die detektierbaren Schäden auf den hellen Fundi um den Faktor 5 bis 8 im Ausmaß kleiner.

Bild 9 zeigt ein typisches Beispiel zum Vergleich zweier Läsionen auf unterschiedlichen Fundi bei gleichen Expositionsparametern.



Bild 9: Vergleich Läsionen, stark pigmentierter Fundus (links); schwach pigmentierter Fundus (rechts)

6. Ergebnisse Vergleich mit MZB-Werten

Aufgrund der durchgeführten Retina-Studien kann gezeigt werden, dass durch den Einsatz von fokussierenden Optiken mit höheren numerischen Aperturen bis $NA=0,5$ das Netzhautschädigungsrisiko verringert wird, da durch eine geringere Fokusgröße die Schwelle für den optischen Durchbruch sinkt und das retinale Bestrahlungsareal vergrößert wird. Eine weitere Erhöhung der numerischen Apertur oberhalb von $NA=0,5$ bewirkt aufgrund des Sättigungseffektes keine weitere Verminderung der Schwellenleistungsdichte und wird zur Erhöhung der Behandlungssicherheit am Patienten nicht benötigt.

In Tabelle 8 (Anhang) ist der direkte Vergleich zwischen den aktuellen cornealen MZB-Werten und den ermittelten Schwellwertdaten an der Retina gegenübergestellt [10].

Diskussion

Die Ergebnisse aus der durchgeführten Studie zur Detektion des optischen Durchbruchs ergeben, dass nur ein Teil der eingebrachten Leistung im Bereich des optischen Durchbruchs zur Initiierung des Plasmas umgesetzt wird; der Rest propagiert durch die klaren Medien. Für die LASIK bedeutet dies, dass ca. 40% der eingebrachten Laserleistung nach Initiierung des Plasmas noch die Netzhaut erreicht und zur schädigenden Wechselwirkung mit dem Gewebe beitragen kann.

Die Schwellwertuntersuchungen zeigen sowohl bei der cw- als auch fs-Exposition, dass ein tendenzieller Abfall der Schwellwertleistungsdichte mit steigender Expositionszeit und wachsendem Bestrahlungsareal zu verzeichnen ist. Angewandt auf die Parameter unter fs-LASIK-Bedingungen bedeutet dies, dass das retinale Schädigungspotential durch eine Erhöhung der numerischen Apertur auf 0,5 stark reduziert wird und somit zu einer Erhöhung der Behandlungssicherheit beiträgt. Darüber hinaus bewirkt eine höhere Fokussierung jedoch aufgrund des beschriebenen Sättigungseffektes keine weitere Verminderung der Schwellenleistungsdichte.

Die histologischen Auswertungen ergeben, dass sich das gleiche Schädigungsmuster in den verschiedenen retinalen Schichten des primum Gewebes ausbreitet. Beginnende Netzhautschädigungen sind zunächst primär in der Photorezeptorenschicht zu finden, die sich bei höherer Laserleistung bzw. einer längeren Einstrahldauer auf die Ganglienzellschicht und die äußere Körnerschicht ausbreiten. Aufgrund dieser gleichen charakteristischen Ausbreitung der histologischen Defekte im cw- als auch im fs-Bereich kann der eindeutige Beweis erbracht werden, dass bei beiden Bestrahlungsarten der gleiche Mechanismus die Schäden im Gewebe verursacht.

Im fs-Bereich erfolgt durch die Energieabgabe jedes Einzelpulses eine minimale retinale Temperaturerhöhung, die sich bei einer Repetitionsrate von 9,55 MHz und 30MHz aufaddiert und bei einer großen Pulszahl die Schwelle erreicht. So befindet sich aufgrund der Wellenlängendifferenz im Vergleich die makroskopische Schwelle der fs-Bestrahlung bei einer Wellenlänge von 1031nm und einer vergleichenden NA von 0,1 bei 10,03W/cm² bis 8,89 W/cm², während die makroskopische Schwelle im cw-Bereich in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit bei 2,1W/cm² bis 2,8 W/cm² liegt.

In der Literatur wird bezüglich der Vergleichbarkeit des retinalen Schädigungspotentials zwischen fs- und cw-Expositionen für *in-vivo*-Schwellwertuntersuchungen an Rhesusaffen angegeben, dass sich eine gute Übereinstimmung der ophthalmoskopischen und angiographischen fs- und cw-Schwellen bei einer Wellenlänge von 800nm, einer Pulszahl von 130fs und einer Repetitionsrate von 76MHz finden lässt [13]. Im fs-Regime mit hohen Repetitionsraten ist die Leerlaufzeit zwischen den Pulszügen geringer als die thermische Relaxationszeit des Gewebes. So findet bei diesen Parametern eine Addition der Pulsenergien statt, die zu gleichen Schädigungseffekten und Schwellwerten im fs- und cw-Bereich führt.

Theoretische Berechnungen zur Vergleichbarkeit von kontinuierlicher und gepulster Strahlung mit verschiedenen Repetitionsraten von 1kHz und 5kHz bei gleicher mittlerer Leistung von 200mW und einer numerischen Apertur von 0,1 sind in Bild 10 dargestellt. Demnach ist die mittlere Temperaturerhöhung, die durch die cw-Kurve repräsentiert wird, bei allen drei Berechnungen gleich.

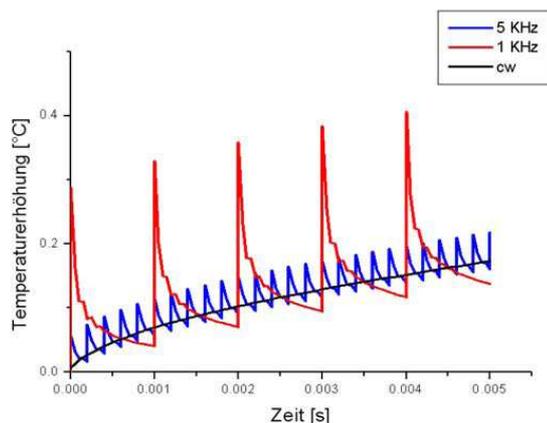


Bild 10: Vergleich der Temperaturerhöhung am Pigmentepithel von gepulster und kontinuierlicher Strahlung [14]

Die Gruppe um Sun et al. entwickelte ein zweidimensionales Computermodell, um die Temperaturerhöhung auf der Retina während der fs-LASIK zu berechnen. Sie konnte bei der theoretischen Simulation (Laserkennwerte 150kHz, 0,8-1,0µJ, 1053nm) bei einem Zeitintervall von 15s eine Temperaturerhöhung von 0,2°C detektieren [15].

Die Auswertung der Ergebnisse zu den Funduspigmentierungsstudien, die ausschließlich oberhalb der Schwelle zwecks Initiierung eines Schadens durchgeführt wurden, belegt, dass bei dunkel/stark pigmentierten Augen der Schwellwert für die Laserläsionen im Vergleich zu heller pigmentierten bis hin zu Albino-Augen sinkt, bzw., dass schwach pigmentiertes Gewebe bei der Umsetzung von Laserenergie in Temperaturänderung am Augenhintergrund weniger beiträgt als stark pigmentierte Augen. Diese Ergebnisse werden auch durch die Literatur [16] bestätigt, in der angegeben wird, dass bei vergleichbaren Ausgangsparametern pigmentierte Augen zu fünffach höheren Temperaturen im Vergleich zu Albino-Augen führen.

Durch die variablen Pigmentdichten der Melanozyten, die die Streu- und Absorptionseigenschaften des retinalen Gewebes bestimmen, führt bei gleichen Leistungsdichten der höhere Melaningehalt in dunkel pigmentierten Fundi zu einer stärkeren Temperaturerhöhung und dementsprechend zu einem größeren Gefährdungspotential für eine Läsion als schwach pigmentiertes Gewebe.

Die Ergebnisse aus diesen Pigmentierungsstudien an enukleierten Schweineaugen *ex-vivo* können theoretisch direkt auf humanes Gewebe übertragen werden, da die Pigmentdichte im retinalen Pigmentepithel der Schweineaugen analog zum menschlichen retinalen Gewebe annähernd konstant ist und die Farbe des Fundus aus dem unterschiedlichen Pigmentierungsgrad von Choroidea und Sclera resultiert [9].

Problematisch bei diesem Vergleich jedoch ist die mit dem Alter zunehmende Pigmentkonzentration der humanen Retina, da die porkinen Augen bereits im Alter von nur ca. 4-6 Monaten enukleiert wurden und die Pigmentkonzentration daraus resultierend geringer ist.

Die Detektion von Läsionen auf hellen Fundi ist jedoch aufgrund des geringeren Farbkontrastes problematisch; Eiweißkoagulationen und Denaturierungen heben sich als helle bis gräuliche Verfärbung auf einem dunklen Fundus wesentlich eindeutiger ab als auf einem hellen Hintergrund, sodass die wesentlich geringeren makroskopischen Schwellen bei stark pigmentierten Augen sowohl auf die Dichte der Melanozyten, als auch auf die verbesserte Detektion der Läsionen schließen lassen.

Die ermittelten histologischen Schwellen liegen ca. 20%-30% unter den ermittelten makroskopischen Schwellwerten, die auch durch die Literatur bestätigt werden [17].

Die histologisch ausgewerteten Studien zu dieser Reihe ergeben, dass die Laserdefekte bzw. das Defektmuster in allen Schichten gleich ist und somit die Funduspigmentierung oberhalb der Schwelle keinen Einfluss auf die Läsionen hat. Gezeigt werden konnte jedoch nicht, ob die Funduspigmentierung einen Einfluss auf die Läsionen nahe der Schwelle hat.

Aus makroskopischer Sicht lässt sich zusammenfassend sagen, dass die Funduspigmentierung einen starken Einfluss auf die Schwellwerte und einen erheblichen Beitrag an der starken Streubreite der Ergebnisse hat.

Die Unterschiede zwischen porkinen und humanen Augen haben, den vorderen und mittleren Augenabschnitt betreffend, bei den durchgeführten Studien zu den Schwellwertmessungen im cw- und fs-Bereich keinen Einfluss auf das Ergebnis. Diese strukturellen Unterschiede in der porkinen Cornea haben jedoch gemäß den Studien von Wilmes [18] einen Einfluss auf die Dicke des präparierten Flaps bei der LASIK. Verschiedene Studien weisen einen linearen Zusammenhang zwischen präoperativer Hornhautdicke und resultierender Flapdicke bei LASIK-Patienten auf, was jedoch kontrovers diskutiert wird und bei nachfolgenden Studien Berücksichtigung finden muss [19] [20] [21] [22].

Im hinteren Augenabschnitt beeinflussen die Unterschiede zwischen humanen und porkinen Augen die Schwellwertstudien stark. Studien von Ibarra et al. belegen, dass die Temperaturerhöhung für eine makroskopisch detektierbare Läsion bei Albino-Augen bei 11,8°C und bei normal pigmentierten Augen bei 5,28°C liegt [23]. Neben den Einflüssen der unterschiedlichen Anzahl der Melanozyten im Gewebe und der Detektionsproblematik auf hellem Hintergrund wird in dieser Studie der Einfluss der Schwellwerte auf die Temperatur bei Albino-Augen auf die stärkere Absorption des Blutfarbstoffs Hämoglobin zurückgeführt. Die Lichtabsorption im Hämoglobin generiert thermische Energie, die durch Wärmeleitung an die darunter liegenden Gewebeteile gegeben wird und verhindert die Laserlichtdurchdringung zum darunter liegenden Gewebe, denn Hämoglobin ist ein weniger effektiver Lichtabsorber als das lichtabsorbierende Melanin im Augenhintergrund.

Gemäß den frühen Studien von Gabel und Birngruber über das Absorptionsverhalten des Pigmentepithels in Abhängigkeit von der Spezies sind die Absorptionsmittelwerte beim Menschen, beim Rhesusaffen und beim Chinchilla-Kaninchen im Bereich der Macula gleich. Erhebliche Unterschiede entstehen zur Peripherie hin. Die drei Spezies weisen in den einzelnen Regionen des Augenhintergrundes die gleiche Streuung auf und die Absorption steigt vom hinteren Pol zur Peripherie beim Menschen um 30%, beim Rhesusaffen um 50% an [1].

Die Gruppe um Birngruber et al. hat in Studien nachgewiesen, dass die RPE-Zellen, die bei Laserexposition ca. 50%-60% des einfallenden Lichts absorbieren und in Wärme umwandeln, innerhalb von 7-14 Tagen nach Photokoagulation fähig sind, intakte RPE-Zellen aus der Umgebung des irreversibel zerstörten Areals zunächst zu migrieren und anschließend zu proliferieren, um den Defekt zu überdecken [24]. Diese Migrations- und Proliferationseigenschaft beeinträchtigt *in-vivo* nach Überdeckung der Läsion die Schwellwerte.

Die Auswahl des Versuchsobjekts mit den entsprechenden korrelierenden Nebenbedingungen hat einen starken Einfluss auf das Ergebnis. Die durchgeführten Studien, die durch die einfache Verfügbarkeit und den geringen Anschaffungspreis des porkinen Gewebes gekennzeichnet sind, müssen *in-vivo* an Kaninchen, besser noch an Rhesusaffen überprüft werden.

Die Ergebnisse aus den durchgeführten Studien zum Netzhautschädigungspotential an porkinem Gewebe können aufgrund der erläuterten biologischen, anatomischen und post-mortalen Unterschiede nicht ohne entsprechende *in-vivo* Validierung an Kaninchen und Affen auf den Patienten übertragen werden. Falls jedoch nachfolgende Studien die Bestätigung dieser Resultate belegen, so kann aufbauend auf diesen Studien auch weit oberhalb der vorgegebenen MZB-Werte gelasert werden, ohne eine Netzhautgefährdung zu generieren [11]. Bei einer

Behandlungsdauer von ca. einer Minute liegt dieser Wert für eine NA zwischen 0,23 und 0,47 bei 2,23-0,67 W/cm², anstatt, wie aus den MZB-Werten vorgegeben, bei 0,20 W/cm². Eine generelle, aktuelle Überprüfung und nachgehende Änderung der MZB-Werte ist notwendig, bzw. muss für die Netzhaut nachgeführt werden.

Unter anderem bietet die Firma INTRALASE ein fs-LASIK Verfahren auch auf dem europäischen Markt an. Gemäß Herstellerdaten liegen hierbei die Pulsdauer bei 600fs-800fs und die maximale Pulsamplitude bei 8,3mW mit einer Repetitionsrate von 60kHz. Bei einer Fokussierung mit einer numerischen Apertur von 0,3 liegt die berechnete Netzhautleistungsdichte bei 0,123W/cm² (mittlere Laserleistung 100mW, Bestrahlungsfläche 0,821cm²). Dieser Wert liegt weit unterhalb der bestimmten Netzhautschädigungsschwelle und kann mit einem Sicherheitsfaktor von 1,6 (Vergleich 0,123W/cm² - MZB-Wert 0,20W/cm²) als sicher und gefahrlos für die Netzhaut eingestuft werden [11].

Bei den Studien zur Netzhautschädigung wurde keine Ansaugmaske zur Simulation der fs-LASIK verwendet, die jedoch während einer Augenoperation eingesetzt wird. Der in Studien von Wilms et al. dokumentierte Absenkung des intraokularen Drucks bei enukleierten Schweinebulbi [18] und die zusätzliche Erhöhung des Drucks während des Ansaugvorgangs der Maske auf 65mmHg [25] wurde bei der Konstruktion des zweiten Probehalters Rechnung getragen, indem das Auge im Halter durch Schrauben ebenfalls eine Druckerhöhung erfuh.

Lanzl et al. [26] fanden bei Untersuchungen mit Hilfe des Heidelberg Retina Flowmeters (HRF) heraus, dass die retinale Durchblutung innerhalb bestimmter Grenzen einem Autoregulationsmechanismus unterliegt, d.h., dass die retinalen Photorezeptorpigmente durch Lichtexposition beeinflusst werden und dadurch veränderte Stoffwechsellansprüche entstehen, die die retinale Kapillardurchblutung nach Lichtexposition um 12% erhöht. Durch die höhere retinale Durchblutung wird ein schnellerer Wärmeabtrag in die umliegenden Kapillaren ermöglicht, die den Schwellwert erhöhen. Während der LASIK-Operation kommt es jedoch aufgrund des Einsatzes eines Ansaugrings zu einer Unterbrechung der retinalen Zirkulation [27] für die Dauer der kompletten Laserprozedur, die derzeit mit ca. 30s bis 60s angegeben wird; d.h. eine thermische Ableitung über die Gefäßnetze der angrenzenden Choroidea als dem am stärksten durchbluteten Gewebe ist unterbrochen. Lediglich nach Absetzen der Ansaugmaske kann *in-vivo* Wärme als Folge von Laserexposition über die retinale Zirkulation abgeführt werden. Bilanziert gesehen kann das Fehlen der Kühlung durch die retinale Zirkulation *ex-vivo* keinen Einfluss auf die Schädigungsschwelle haben. Ein Unterschied ergibt sich lediglich aus der Tatsache, dass die Luft als Umgebungsmedium *ex-vivo* besser leitet als das dahinterliegende Gewebe *in-vivo*.

Resümierend kann davon ausgegangen werden, dass die fs-Technologie in naher Zukunft die Anwendungsmöglichkeiten für Chirurgen in der Ophthalmologie noch weiter ausbauen wird. Ein weiterer Meilenstein dieser Technologie ist der Einzug des fs-Lasers in die Katarakt-OP; auch in Deutschland wurde diese Methode bereits erfolgreich eingesetzt. Die bisher durchgeführte Technik mit Ultraschall und Hohnadel wird durch den Einsatz des fs-Lasers einfacher, schonender und präziser ausgeführt werden können. Aufgrund der weltweiten Häufigkeit dieser OP ist das Marktpotenzial dieser neuen Methode entsprechend hoch.

Anhang

Berechnung MZB-Werte

Gemäß DIN und BGI gilt für die thermische Gefährdung bei Bestrahlungszeiten von 10-150s im Wellenlängenbereich von 700nm - 1050nm für $t < 10s$:

$$18 \cdot t^{0,75} \cdot C_4 \cdot C_6 \cdot C_7 \frac{J}{m^2} \quad (2)$$

Für $T > 10s$ gilt nachfolgend:

$$18 \cdot C_4 \cdot C_6 \cdot C_7 \cdot T^{-0,25} \frac{J}{m^2} \quad (3)$$

$C_4 = 4,59$, $C_7 = 1$, $C_6 = \alpha / \alpha_{\min}$ und $\alpha_{\min} = 1,5$ mrad, $\alpha_{\max} = 100$ mrad, bei $NA = 0,8$ $C_6 = 53,39$, bei $NA = 0,23-0,47$ ist $C_6 = 66,7$

Tabelle 1: Kennwerte cw-Exposition

Laserbetrieb	cw-Exposition
Pumplaser	Coherent Modell Innova 100-20
Laser	Coherent Modell 890 M/s
Wellenlänge	780 nm
NA	0,1 und 0,2
Leistung	80mW – 700mW
Befundung	makroskopisch und histologisch

Tabelle 2: Kennwerte fs-Exposition

Laserbetrieb	fs-Exposition
Hersteller	Amplitude t-Pulse 200
Pulsenergie	270 nJ
Repetitionsrate	9,55 MHz
Durchschnittsleistung	2,6 W
Pulsdauer	330 fs
spektrale Bandbreite	3,5 nm
Zentralwellenlänge	1031 nm
NA	0,08; 0,23; 0,4 und 0,47
Leistung	200mW-1800mW
Befundung	makroskopisch & histologisch

Tabelle 3: Kennwerte Detektion optischer Durchbruch

Küvette	Hellma Modell 100-OS, 10mm
Füllhöhe	30ml
Füllstoff	destilliertes Wasser
Laserbetrieb	fs
Oszilloskop	Firma Tectronic
Wellenlänge	1031nm
NA	0,23

Tabelle 4: Kennwerte Funduspigmentierung

Laserbetrieb	fs-Exposition
Lasermodell	Amplitude
Repetitionsrate	9,55 MHz
Laserleistung	1,6W
Expositionsdauer	150s
NA	0,08
Anzahl Gewebe	200
Befundung	makroskopisch

Tabelle 5: ermittelte Radien und Bestrahlungsareale auf der Retina gemäß Gauß'scher Optik

NA	ω_0 [μm]	r_{Retina} [mm]	A_{Retina} [mm^2]
0,08	7,1	1,35	5,68
0,23	2,4	3,90	47,72
0,4	1,4	6,91	150,22
0,47	1,6	8,22	212,20

Tabelle 6: Ergebnisse berechnete, retinale Bestrahlungsareale in Abhängigkeit von der NA

NA	ω_0 [μm]	r_{Retina} [mm]	A_{Retina} [mm^2]
0,08	7,1	1,35	5,68
0,1	5,9	1,60	8,88
0,2	2,1	2,40	38,4
0,23	2,4	3,90	47,72
0,4	1,4	6,91	150,22
0,47	1,6	8,22	212,20

Tabelle 7: makroskopische Befundung in Abhängigkeit von der Funduspigmentierung

Funduspigmentierung	schwach	mittel	stark
makroskopische Läsion	2	3	90
makroskopisch keine Läsion	32	4	4

Tabelle 8: Gegenüberstellung errechnete MZB-Werte mit ermittelten Schwellwerten fs-Exposition für die Retina

Zeit [s]	MZB NA=0,08 [W/cm^2]	Schwelle NA=0,08 [W/cm^2]	MZB NA=0,23-0,47 [W/cm^2]	Schwelle NA=0,23-0,47 [W/cm^2]
20	0,21	10,03	0,26	3,18
40	0,19	9,12	0,22	2,64
60	0,17	9,31	0,20	2,23-0,67
80	0,15	9,28	0,18	2,05-0,57
100	0,14	9,26	0,17	2,04-0,56
120	0,133	8,94	0,167	1,98-0,62
150	0,126	8,89	0,157	1,87-0,55

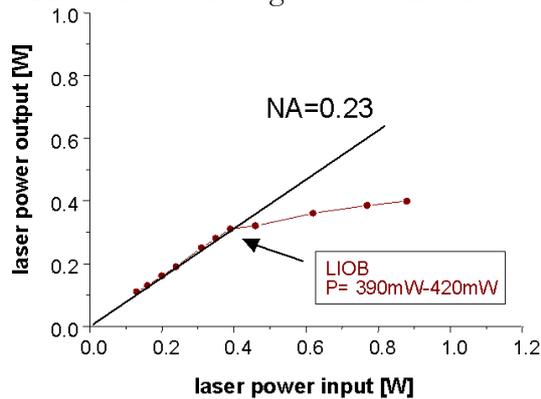
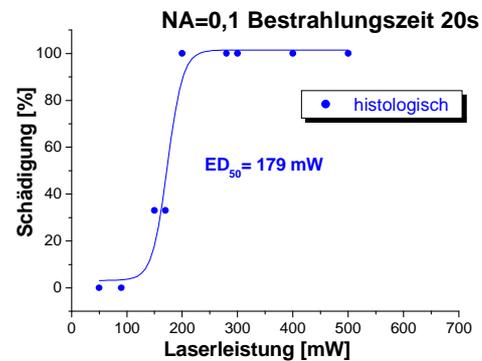
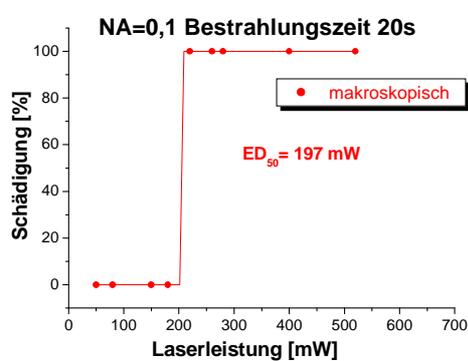
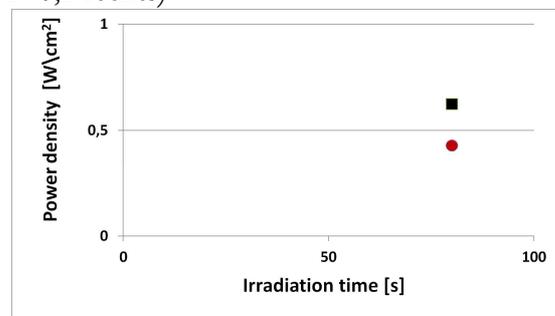
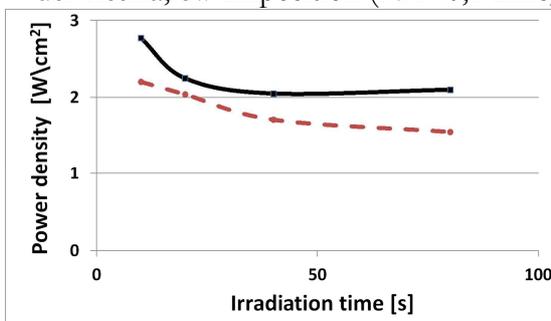
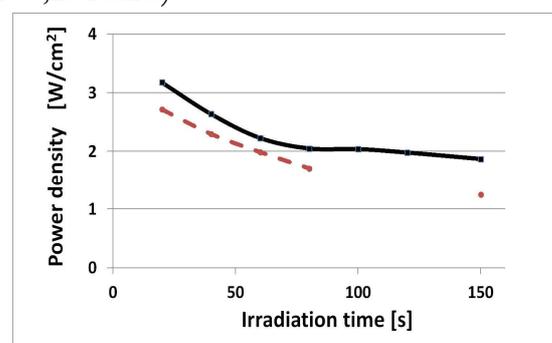
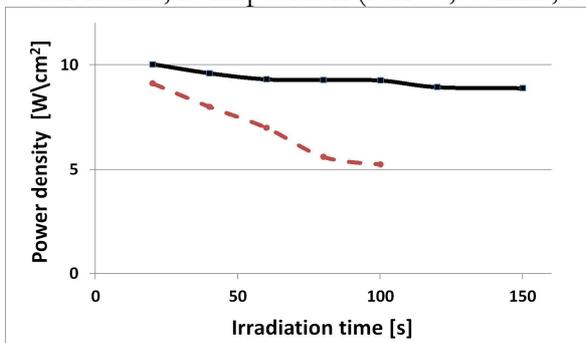
Bild a: Laserleistung vor und hinter dem optischen Durchbruch**Bild b:** Schwellwertbestimmung cw-Betrieb 20s, NA=0,1**Bild c:** Makroskopische (schwarze Linie) und histologische Schwellwerte (gepunktete rote Linie) der Retina, cw-Exposition (NA=0,1 links, NA=0,2 rechts)**Bild d:** Makroskopische (schwarze Linie) und histologische Schwellwerte (gepunktete rote Linie) der Retina, fs-Exposition (NA=0,08 links, NA=0,23 rechts)

Bild e: makroskopische Schwellwerte für den Amplitude-Laser in Abhängigkeit von der Bestrahlungsfläche auf der Retina für Laserexpositionszeiten von 80s-100s

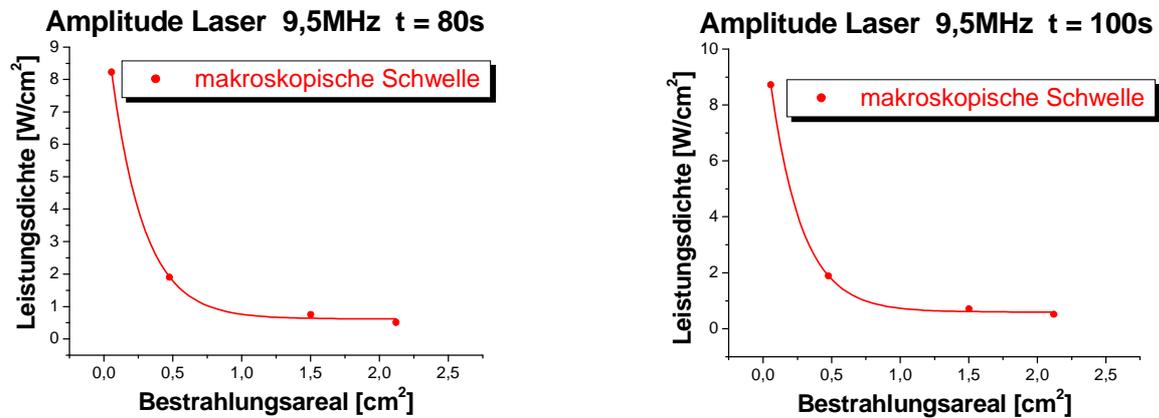


Bild f: Abhängigkeit der Leistungsdichte von der Bestrahlungszeit

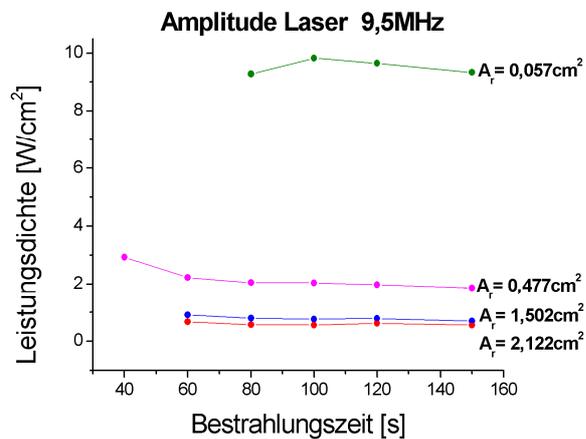
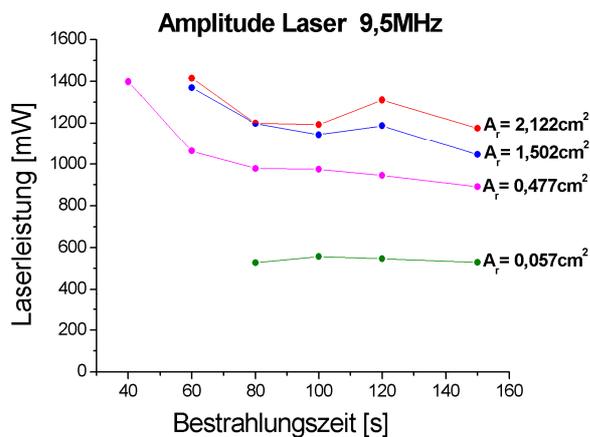


Bild g: Abhängigkeit der Laserleistung von der Bestrahlungszeit



Literaturverzeichnis

- [1] V. P. Gabel, R. Birngruber, and F. Hillenkamp, K. Shimizu and J. A. Oosterhuis (eds.). International Congress Series No 450, XXIII Concilium Ophthalmologicum, Kyoto, Japan, May 14-20, 1978 (Excerpta Medica; Princeton 1978), p. 658
- [2] R. M. Kurtz, C. Horvath, H. H. Liu, R. R. Krueger, and T. Juhasz, *J. Refract. Surg.* **14**, 541 (1998).
- [3] H. Lubatschowski, G. Maatz, M. Rudolf, A. Heisterkamp, U. Hetzel, H. Welling, and W. Ertmer, *Graefe`s Arch. Clin. Exp. Ophthalmol* (1999)
- [4] A. A. Alekhin, A. A. Ionin, S. E. Kozhushko, I. M. Kourylyova, S. I. Kudryashov, K. K. Kuz'min, V. G. Likhvansteva, M. V. Samoylov, L. V. Seleznev, D. V. Sinitsyn, and S. D. Zakharov, *Laser Phys. Lett.* **7**, 463 (2010).
- [5] P. Chen, C. P. Zhang, X. B. Fu, T. M. Zhang, C. Z. Wang, H. W. Qian, and Q. San, *Laser Phys.* **21**, 554 (2011).
- [6] M. Sander, O. Minet, U. Zabarylo, M. Müller, and M. R. Tetz, *Laser Phys.* **22**, (2012)
- [7] DIN EN 60825-1 Berichtigung 2; VDE 0837-1, Sicherheit von Laser-Einrichtungen-Teil1: Klassifizierung von Anlagen und Anforderungen (IEC60825-1: 2007), Deutsche Fassung EN 60825-1: 2007
- [8] BGI 832 (ZH1/495) Betrieb von Lasereinrichtungen BGFE Berufsgenossenschaftliche Informationen für Sicherheit und Gesundheit bei der Arbeit, Anwendung der Unfallverhütungsvorschrift "Laserstrahlung BGV B2 auf neue Laserklassen und MZB-Werte nach DIN EN 60825-1", (VDE 0837-1): 2001-11
- [9] R. Nickel, A. Schummer, E. Seiferle, *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere-Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen*, Band 4, 3 Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin (1992)
- [10] M. Sander, A. Stolte, M. Müller, C. Lochmann, and M. R. Tetz, *Med. Laser Appl.* **24**, (2009).
- [11] M. Sander, M. Müller, and M. R. Tetz, *Med. Laser Appl.* **23**, 39-45 (2008)
- [12] M. Sander, O. Minet, U. Zabarylo, M. Müller, and M. R. Tetz, *Laser Phys. Lett.*, **9**, 459-464 (2012)
- [13] R. J. Thomas, G. D. Noojin, D. J. Stolarski, R. T. Hall, C. P. Cain, C. A. Toth, and B. A. Rockwell, *Lasers in Surg. and Med.*, Vol. 31, 9-17 (2002)
- [14] S. Schumacher, Master thesis, University Hannover (2004)
- [15] H. Sun, N. Hosszafalusi, E. R. Mikula, and T. Juhasz, *J Biomed Opt.* 2011 Oct;16(10):108001
- [16] M. A. Mainster, *Ophthalmology*, **93**, 952 (1986).
- [17] C. Framme, G. Schuele, J. Roider, R. Birngruber, and R. Brinkmann, *Excerpta Medica*, Princeton (1978) p. 658
- [18] C. Wilmes, J. Draeger, and M. Kohlhaas, *Ophthalmologe*, **98**, 147 (1992).
- [19] R. Yildirim, C. Aras, and A. Ozdamar, *J. Cataract. Refract. Surg.* **26**, 1729 (2002).
- [20] W. M. Yi, and C. K. Joo, *J. Cataract. Refract. Surg.* **25**, 1087 (1999).
- [21] L. Spadea, L. Cerrone, and S. Necozone, *J. Cataract Refract. Surg.* **18**, 149 (2002).
- [22] B. J. Jacobs, T. A. Deutsch, and J. B. Rubenstein, *Ophthalmic Surg. Lasers*, **30**, 350 (1999).
- [23] M. S. Ibarra, J. Hsu, N. Mirza, I. H. Wu, G. Ying, M. A. Mainster, and M. J. Tolentino, *Invest. Ophthal. Vis. Sci.* **45**, 3678 (2004).
- [24] K. H. Eibl, Dissertation, Fachbereich Medizin, Medizinische Fakultät der Georg-August-Universität zu Göttingen, 1998
- [25] B. J. Jacobs, T. A. Deutsch, and J. B. Rubenstein, *Ophthalmic Surg Lasers*; **30**: 350-353 (1999)

- [26] I. Lanzl, J. Nicholl, A. Azauar, G. Spaeth, and G., Wills, Eye Hospital, Jefferson University, Walnut Street (1999)
- [27] O. Kermani, Der Augenspiegel Jahrgang 51 G 1396, 12/2005, Zeitschrift für Klinik und Praxis

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Meike Sander, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Schädigungspotential ultrakurzer Laserpulse für die Netzhaut bei refraktiv-chirurgischen Eingriffen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit Prof. Dr. Manfred Tetz, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§ 156, 161 Strafgesetzbuch) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Frau Meike Sander hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

M. Sander, O. Minet, U. Zabarylo, M. Müller, and M. R. Tetz,

Fundus oculi pigmentation studies simulating the fs-LASIK process

Laser Phys. Lett., 1–6 (2012)

2012

The aim of this project was to find out the threshold influences concerning the tissue and the correlation between the results of the macroscopical appraisal and the fundus oculi pigmentation by simulating the fs-LASIK procedure with two various laser systems in the continuous wave (CW) and fs-regime. Therefore ex-vivo determinations were carried out macroscopically and histopathologically on porcine tissue.

Anteil an Publikation 1:

95%

Publikation 2:

M. Sander, O. Minet, U. Zabarylo, M. Müller, and M. R. Tetz,

Comparison of Retina Damage Thresholds Simulating the Femtosecond Laser in situ Keratomileusis (fs-LASIK) Process with Two Laser Systems in the CW- and fs-Regime

The objective Laser Physics, 2012, Vol. 22, No. 4, pp. 805–812.

2012

of the presented study was to determine and compare the retina damage thresholds during the fs-LASIK process simulated with two various laser systems in the CW- and fs-regime.

Anteil an Publikation 2:

90%

Publikation 3:

M. Sander, A. Stolte, M. Müller, C. Lochmann, and M. R. Tetz

Monitoring the cutting process of the laser-induced optical breakdown (LIOB) during femtosecond-laser in-situ keratomileusis (fs-LASIK)

Med Laser Appl, 24: 158–164

2009

The aim of this project was to investigate the amount of laser energy deposited during fs-LASIK leading to a laserinduced breakdown process.

Anteil an Publikation 3:

92%

Publikation 4:

M. Sander, M. Müller, and M. R. Tetz

Possible retina damage potential of the femtosecond laser in situ keratomileusis (fs-LASIK) refractive surgery

Med Laser Appl, 23: 39–45

2008

The aim of this project was to investigate possible retina damage under fs-LASIK conditions and to optimize external parameters during surgery, such as pulse energy and numerical aperture, to reduce risk potential. The process was simulated with a conventional fs-laser system integrated into an experimental set-up. To investigate the retina damage thresholds, in vivo investigations

were carried out systematically on enucleated porcine eyes. Damage thresholds were determined in terms of macroscopic and histopathological observations.

Anteil an Publikation 4:

85%

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Fundus oculi pigmentation studies simulating the fs-LASIK process

Laser Phys. Lett., 1–6 (2012)

2012

[doi:10.7452/lapl.201110142](https://doi.org/10.7452/lapl.201110142)

Comparison of Retina Damage Thresholds Simulating the Femtosecond Laser in situ Keratomileusis (fs-LASIK) Process with Two Laser Systems in the CW- and fs-Regime

The objective Laser Physics, 2012, Vol. 22, No. 4, pp. 805–812.
2012

<http://dx.doi.org/10.1134/S1054660X12040172>

Monitoring the cutting process of the laser-induced optical breakdown (LIOB) during femtosecond-laser in-situ keratomileusis (fs-LASIK)

Med Laser Appl, 24: 158–164

2009

<http://dx.doi.org/10.1016/j.mla.2009.04.001>

LEBENS LAUF Dipl.-Ing. Meike Sander

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Komplette Publikationsliste

Impact Factor Stand Dezember 2011

-
- | | |
|----------------------------|---|
| Impact Factor 0 | Possible retina damage potential of the femtosecond laser in situ keratomileusis (fs-LASIK) refractive surgery
M. Sander, M. Müller, and M. R. Tetz (2008), Med Laser Appl, 23: 39-45 (2008). |
| Impact Factor 0 | Monitoring the cutting process of the laser-induced optical breakdown (LIOB) during femtosecond-laser in-situ keratomileusis (fs-LASIK)
M. Sander, A. Stolte, M. Müller, C. Lochmann, and M. R. Tetz (2009), Med Laser Appl, 24: 158–164 (2009) |
| Impact Factor 3,605 | Comparison of retina damage thresholds simulating the femtosecond-laser in situ keratomileusis (fs-LASIK) process with two laser systems in the cw- and fs-regime
M. Sander, O. Minet, U. Zabarylo, M. Müller, and M. R. Tetz, Laser Physics, 2012, Vol. 22, No. 4, pp. 805-812 |
| Impact Factor 9.97 | Fundus oculi pigmentation studies simulating the fs-LASIK process
M. Sander, O. Minet, U. Zabarylo, M. Müller, and M. R. Tetz, Laser Phys. Lett., 1-6 (2012) |
-

Danksagung

Eine wissenschaftliche Arbeit ist nie das Werk eines Einzelnen. Deshalb möchte ich mich im Folgenden bei all denjenigen bedanken, die auf unterschiedlichste Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeiten zunächst als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Laser Zentrum Hannover e.V. (LZH) sowie in der darauffolgenden Zeit als Promovendin in der Augentagesklinik am Spreebogen in Berlin.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Manfred R. Tetz aus Berlin für die interessante Aufgabenstellung und die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit. Stellvertretend für seine Mitarbeiter möchte ich mich bei Frau Hein für ihren unermüdlichen Einsatz bedanken.

Einen weiteren besonderen Dank möchte ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. Holger Lubatschowski aus Hannover aussprechen, unter dessen Leitung ein Hauptteil der experimentellen Vorarbeit erfolgt ist.

Danken möchte ich ebenso Herrn Dr. rer. nat. Olaf Minet, Leiter der Arbeitsgruppe Medizinische Physik und Optische Diagnostik, der durch seine Unterstützung einen entscheidenden Anteil an den letzten beiden Publikationen beigetragen hat.

Des Weiteren gilt mein herzlicher Dank Silvia Schumacher und Agnes Stolte, die im Rahmen ihrer Diplomarbeiten Beiträge zu dieser Arbeit geleistet haben.

Ein weiterer herzlicher Dank geht an meine Freundin Pamela Jones-Hörmann, die mich als native speaker nie im Stich gelassen hat.

Stellvertretend für die Mitarbeiter der Tierärztlichen Hochschule Hannover unter der Leitung von Prof. Dr. med. vet. Wolfgang Baumgärtner möchte ich mich bei Frau Dr. med. vet. Carola Döpke für die histologischen Schnitte und das ausgezeichnete Zusammenspiel recht herzlich bedanken.

Weiterhin gilt mein herzlichster Dank an die Mitarbeiter der Schlachthöfe in Herford, Hannover und Gleidingen, die mich in dieser Zeit mit ca. 1500 frisch enukleierten Schweineaugen stets ausreichend versorgt haben.

Bei meinem Mann Hans und unseren Zwillingen Julius und Louise möchte ich mich ganz herzlich für das Verständnis und die Unterstützung in dieser Zeit bedanken.

Mein besonderer Dank geht an Zuzanna stellvertretend für unsere zahlreichen Au-pair Mädchen, die mir während dieser interessanten Zeit den Rücken frei gehalten haben. Ohne deren ausgezeichnete Hilfe wäre die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Meinen Eltern widme ich zum Dank diese Arbeit, ohne ihren Rat und Zuspruch wären wir Töchter nie zu dem geworden, was wir heute sind, Ingenieure.

Bielefeld, im September 2013

Meike Sander