

# Diode Lazer Lezyonlarının Karşılaştırmalı Histopatolojisi: Ultrastrüktür ve Teorik Termal Hasar Profilleri

Torigaip H. TEZEL\*, İlhan GÜNALP", Gülgün TEZEL\*, Aysel ŞEFTALİOĞLU\*\*", Belma ALABAY\*\*\*\*

## SUMMARY

### THE COOPERATIVE HISTOPATHOLOGY OF DIODE USER LESIONS: ULTRASTRUCTURE AND THEORETICAL THERMAL INJURY PROFILES

A comparative histopathological study of semiconductor diode, argon, dye yellow and dye red laser spots was conducted by light and electron microscopy. Six eyes of three Chincilla rabbits were evaluated by clinicopathologic correlation to up to 8 weeks after laser treatment. Ophthalmoscopically similar lesions that are obtained in humans during panretinal photocoagulation were obtained by using comparable irradiance levels of 255 W/cm<sup>2</sup>, and 2290 W/cm<sup>2</sup>, for 100 and 300 micrometers spot size respectively. Retinal photocoagulation with the diode laser required 1.75-2.00 times more power than with the argon laser to create ophthalmoscopically similar lesions. Damage was confined to the outer retina, retinal pigment epithelium and choroid with diode laser irradiation. This was in contrast to the appearances seen following the photocoagulation with other lasers. The findings of the histopathological study were evaluated on a computerized laser thermal simulation model. A high amount of heat production and thus, a great chance of permanent tissue destruction is demonstrated by using laser photocoagulators other than the diode laser. Similar to the animal model, calculations regarding to the parameters of human studies also revealed that the diode laser can be safely used in the treatment of macular diseases. [Oftalmoloji 1993; 2(2): 184-200]

Key Words: Diode laser, Retinal photocoagulation, Thermal damage, Computerized analysis

## ÖZET

Şiñşitia cinsî tavşan modelinde, 805 nm'lik kırmızı-ötesi emisyonu sahip yarı iletken Diode lazer lezyonlarının histopatolojisi, ışık ve elektron mikroskopik düzeyde, argon (514,5 nm) ve dye lazerin iki değişik dalga boyuyla (577 ve 630 nm) karşılaştırılarak, 2 ay boyunca incelendi. Panretinal fotokoagülasyonun simülce edildiği bu çalışmada, kullanılan tüm lazerlerde sabit spot ve güç kullanılarak kornea önünde 100 mikronluk spotlar için 255 mW/cm<sup>2</sup>, 300 mikronluk spotlar içinse 2290 W/cm<sup>2</sup>lik güç yoğunluğu elde edildi. Diode lazer ile

eş derecede yanık oluşturmak için argon lazerden 1.75-2.00 kat daha fazla güç yoğunluğu gerektiği saptandı. Oluşan lezyonlarda iç nükleer tabakaların diğer dalga boylarına oranla daha iyi korunabildiği ve lezyon odağının koroide kaydığı gözlemlendi. Bulgular, 386sx tabanlı bilgisayarda oluşturulan teorik lazer doku termal ilişki simülasyon modeliyle karşılaştırıldığında, tavşan modelinde diode lazer fotokoagülasyon sonrası, hedef dokuda ve retinanın içi katlarında, daha düşük ısılardan oluştuğu belirlendi. Kullanılan lazerlerle ilgili klinik parametrelerden yararlanarak, insanlarda da lazer fotokoagülasyon uygulamaları sonrası gelişebilecek hasarın boyutları, simülasyon modaliyle araştırıldı. Bu modelde de diode lazerin iç retinal katlara diğer lazerlere oranla daha az zarar verdiği saptandı.

## GİRİŞ

Lazer fotokoagülasyon tedavisi, lazer fonlarının enerjilerinin, pigmentli oküler doku elemanları tarafından emilip ısı enerjisine dönüştürülmesi ve böylece dokuda termal koagülasyon sağlanması esasına dayanmaktadır.

Çok merkezli çalışmalarla da ortaya konduğu gibi, günümüzde birçok retina ve koroid patolojisinin tedavisinde lazer fotokoagülasyon sön derece etkili bir araçtır. Panretinal fotokoagülasyon ile proliferatif retinopatiye ikinci ciddi görme kaybı riski azaltılabildiği gibi (1), "Erken Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu'nun ortaya koyduğu gibi diyabetik maküler ödeme bağlı görme kaybına da engel olunabilmektedir (2). Bunlara ek olarak yaşlılığa (3), oküler histoplazmozise (4) veya idyopatik (5) nedenlere bağlı retina altı yeni damar oluşumlarının tedavisinde ve retina ven dal tıkanıklıklarına bağlı görme kayıplarının önlenmesinde (6) lazer fotokoagülasyon tedavisinin yararı ortaya konmuştur.

Sıklıkla kullanılan Argon (488-514,5 nm), Krypton (647 nm) ve istenen dala

Geliş: 1.8.1992

Kabul: 18.8.1992

• Ankara Numune Hastanesi 2. Göz Kliniği Başasistanı

\*\* Prof. Dr. Ankara Ü.T.F. Göz Hast. ABD

— Prof. Dr. Hacettepe Ü.T.F. Histoloji-Embriyoloji BD

\*\*\* Doç. Dr. Ankara Ü.V.F. Histoloji-Embriyoloji BD, ANKARA

**Anahtar Kelimeler:** Diode lazer, Retinal fotokoagülasyon, Termal hasar, Bilgisayarlı analiz

boyunda lazer emisyonu yapabilir .. özelliğine sahip Dye (488-640 nm) lazer gibi iyon lazerlerin bazı ergonomik ve ekonomik dezavantajları bulunmaktadır. Bunların başında alım ve bakım maliyetlerinin son derece yüksek olması gelmektedir. Bu tip lazerlerin ortalama tüp ömürleri 2-3 yıl olarak belirlenmiş olup; tüp değiştiriminin bedeli ise lazerin ortalama maliyetinin 1/3'üne karşılık gelmektedir. Öte yandan, bu lazerler düşük verimlilik oranıyla çalışmakta; yani kullandıkları enerjinin çok düşük bir kısmını lazer enerjisine döndürebilmektedirler. Çalışmaları için gerekli üç fazlı elektrik güç kaynağı ve çalıştıkları zaman sistem bünyesinde oluşan ısının uzaklaştırılması için gerekli yüksek kapasiteli hava ya da su soğutma sistemleri de yatırım maliyetini artıran unsurlardır. Son derece büyük ve ağır ekipmana sahip bu lazerlerin nakil ve tesisi güç olmaktadır (7). Diğer bir dezavantajlarını ise kullanıcıyı atım esnasında koruyan mekanik diyaframın bozulabilmesi riski oluşturmaktadır. Nitekim, bu güne kadar bu diyaframın bozulmasına bağlı kazalar bildirilmiştir (8).

Günümüzde, lazer teknolojisinin ilerlemesi ile geliştirilen, yarı iletken diode lazerler bu tip olumsuzluklara sahip iyon lazerlere bir alternatif olarak klinik kullanıma sunulmuştur. İlk defa 1962'de geliştirilen diode lazerler önceleri çok düşük güçte çalışmakta iken günümüzde 25 W güç yoğunluğunda, sürekli emisyon yapabilir düzeye ulaşabilmişlerdir (9). Diode lazerin temel yapısını yarı iletken galyum -alüminyum-arsenik (GaAlAs) kristalleri oluşturmaktadır. Uyarıldıkları zaman biri elektron verici (n), diğeri ise alıcı (p) olan iki kristal bir araya getirilerek bir p-n bileşkesi oluşturulmuştur, (n) kristaline negatif, (p) kristaline pozitif elektrik geriliminin uygulanması, (n) kristalinde bulunan ve kimyasal bütünlüğü sağlayan "valans" bandından, bir üst enerji düzeyindeki "iletim" bandına geçmiş elektronların, (p) kristalinin "valans" bandındaki pozitif yüklü çukurlara atılmasına neden olur. "Bileşim" adı da verilen bu değişik enerji düzeyleri arasındaki sıçrama sonucu ortama enerji yayılmaktadır. Her iki band arasındaki fark lazer emisyonunun dalga boyunu belirlemektedir (10,11).

Klinik amaçla kullanılan diode lazerlerin en önemli avantajları son derece küçük boyutta olmaları (20x10x11 cm/6 kg) ve hemen her tür biyomikroskopa

adapte edilebilmeleridir. Bunlara ilaveten diode'nun 30.000 saat'in üstündeki ömrü, yatırım maliyetlerinin düşük olması, aldığı elektrik enerjisini %50'ye yakın verimlilikle lazer enerjisine döndürebilmesi, soğutma sistemi gerektirmemesi, standart elektrik sistemi ve hatta 6 voltluk pille bile çalışabilmesi diğer üstünlükleri arasında sayılabilir. Günümüzde kullanılan GaAlAs lazerlerde emisyon 780-850 nm arasında değişmektedir. Lazer uygulayıcısı infra-red emisyonundan kalıcı tek bir filtre ve dielektrik aynadan oluşan bir sistem ile korunmakta; böylece iyon lazerlerdeki mekanik diyafram hataları endişesi ortadan kalktığı gibi fotokoagülasyon esnasında kesintisiz olarak fundusu gözleyebilmektedir (7,12).

Diode lazer kullanılarak yapılan klinik ve histopatolojik incelemeler, infra-red emisyonu sahip bu lazerin, retinokoroid dokuda, kripton lazere benzer etki oluşturduğunu göstermektedir (7, 12). Bu çalışmada amacımız diode lazer emisyonunun doku üzerindeki etkisini, hem ince hücre yapısı düzeyinde hem de teorik lazer-doku termal simülasyon modeli üzerinde incelemektir. Argon lazerin yeşil (514,5 nm) ve dye lazerin sarı (577 nm), kırmızı (630 nm) emisyonları ile karşılaştırmalı olarak yapılması planlanan bu inceleme için, pigmentasyon olarak insanlara en yakın özelliğe sahip tavşan modeli seçilmiştir (13).

#### GEREÇ VE YÖNTEM

##### Kullanılan Lazerler

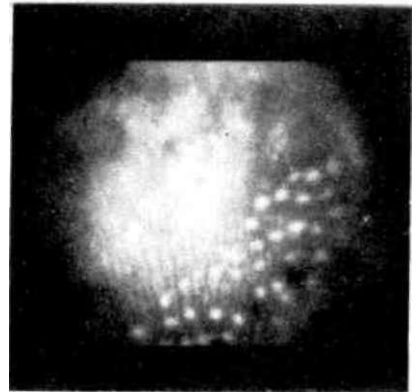
*Diode Lazer: Çalışmada Microlase (Keeler Ltd, Windsor, England) infrared diode lazer kullanıldı. Ortalama 810 nm (780-840 nm)'lik emisyonu sahip olan bu lazerin maksimum gücü 1.2 Watt'tir. Spot çapı 100-500 mikron, atım süresi 0.01-1 saniye arasında değiştirilebilmektedir. Haag Streit 900 serisi biyomikroskopun tonometre platformuna monte edilerek kullanılan lazer, görünür kırmızı spektrumda (665-690 nm) emisyonu olan bir diode hedefleyici lazer ile hedefe yönlendirilebilir, Diode lazerin bedele odaklanması konvansiyonel lazerlerden farklılık göstermektedir. Oluşan lazer ışın demetleri tepe açısı 23°'lik geniş bir diverjansa sahip olduğu için, tepe açısı 7° olan argon lazerin tersine odak derinliği son derece azdır. Odak mesafesinden küçük sapmalar spot çapını ve dolayısıyla dokudaki etkiyi büyük ölçüde değiştirebilmektedir. Dolayısıyla hedefleme esnasında retinal düzlemin odaklanması büyük önem taşımaktadır (14,15). Infra-red diode lazerin emisyonu görünür spektrumdaki lazerlere oranla, melanin tarafından daha az emilebildiği için (16), fotokoagülasyon esnasında*

*daha yüksek güçte atımlarla benzer görünümü lezyonlar oluşturulabilmektedir. Oluşan yanıklar, argonla oluşanlara oranla, daha derin olduğundan geç olarak belirgin hale gelmekte ve daha gri görünümde olmaktadır (14,15,17).*

*Dye Lazer: Çalışmada MDS 10 (Aesculap Moditec GmbH) Dye lazer kullanıldı. Bu lazer hem Argon yeşili (514,5 nm), hem de Rhodamine 6G (560-630 nm) bandında 15 W'lık maksimum güce erişebilen sürekli ışın emisyonu yapabilmektedir. Çalışma esnasında Argon yeşili (514,5 nm), Dye sarısı (577 nm) ve Dye kırmızısı (830 nm) emisyonları kullanıldı.*

##### Hayvan Modeli

*Bu çalışma için 4 adet şişilla cinsi pigmentli erişkin erkek tavşan kullanıldı. Tavşanların ağırlıkları 2000-2200 gram arasında değişmekteydi. Uygulanan tüm işlemlerde ARVO kararlarına uyuldu. Anestezi intraperitoneal olarak uygulanıyolan (1 gm/kg) ile sağlandı. Pupiller dilatasyon için sikloperitolat (1%) kullanıldı. Tavşanlardan biri deney sistemi için kontrol olarak korunurken, diğerlerine Diode, Argon yeşili, Dye sarısı ve Dye kırmızısı ile fotokoagülasyon uygulandı. Fotokoagülasyon için hayvanların her iki gözü 4'er kadrana ayrıldı. Sağ gözlerine sadece diode lazer kullanılırken, sol gözlerinde diğer 3 lazer dalga boyu değişik sektörlerde uygulandı. Fotokoagülasyon esnasında spot çapında en az değişiklik yapan Goldmann kontakt lens kullanılarak fotokoagülasyon gerçekleştirildi (18). Diode uygulanan gözlerin de değişik 2 sektörüne 100 diğer iki sektörüne de 300 mikronluk atımlar yapıldı. Argon ve dye lazer uygulanan gözlerde sabit spot çapı olarak 100 mikron seçilirken, 300 mikronluk diode spotları ile karşılaştırmak amacıyla 4. sektöre yeşil argon ile 300 mikronluk atımlar yapıldı. Lazer fotokoagülasyon esnasında amaç panretinal fotokoagülasyonu simüle etmek olduğu için, lazer spotlarının panretinal fotokoagülasyon için istenen, ortası belirgin beyaz renkte çevresi gri renkli, Grade 3 düzeyinde olmasına özen gösterildi. Lazerlerin etkilerini karşılaştırmak için tüm lazer uygulamalarında sabit çap ve güç kullanarak eş güç yoğunlukta atımlar yapıldı. Güç yoğunluğu*



Resim 1. Diode lazer fotokoagülasyon sonrası tavşan sağ fundusu görülmektedir.

Tablo 1.

	Güç(mW)	Süre (sn)	I (Kornea) Joule/cm <sup>2</sup>	I (RPE) (Joule/cm <sup>2</sup> )
Spot: 100 mikron				
Argon (514.5)	180	0.15	343.78	319.71
Diode	180	0.3	687.54	453.78
Dye (577)	180	0.2	458.37	426.28
Dye (630)	180	0.2	458.37	430.86
Spot: 300 mikron				
Argon (514.5)	180	0.3	76.39	71.05
Diode	180	0.5	127.32	84.03

#### hırırtasyon

100 mikron çaplı spotlarda 2290 W/cm<sup>2</sup>; 300 mikronluk spotlarda ise 255 mW/cm<sup>2</sup> olarak saptandı. Değişebilen tek parametre olarak atım zamanı kullanılarak eş görünümü lezyonlar oluşturuldu. Bu amaçla, sektör panfotokoagülasyona geçilmeden atım süresi bu derecede yanık oluşturmak üzere titre edildi (14,19) (Resim 1). Histopatolojik incelemelerde, değişik dalga boylarıyla elde edilen, eş görünümü lezyonların alınmasına dikkat edildi. Grade 3 lezyonlar oluşturmak için kullanılan parametreler Tablo 1de görülmektedir. Lazer fotokoagülasyonu sonrası Canon CF-60 U (Canon Inc, Tokyo, Japan) fundus kamera kullanılarak lezyonların fotoğrafı çekildi.

Fotokoagülasyonu izleyen 1. 30. ve 60. günlerde tavşanlar derin ürethan anestezisi altındayken her iki gözleri enüklüye edildi ve yüksek doz intravenöz pentobarbital verilerek öldürüldü. Enükleasyonun hemen sonrasında globlara ora serrata hizasında koronal düzlemde 5mm'lik kesi yapılarak, 0.2 molar sodium Cacodylate ile tamponlanmış ve pH'ı 7.4 olan, 100 ml %2 paraformaldehit, %5 glutaraldehit tesbit solüsyonuna kondu. Tampon solüsyon içinde ilk kesi çevresi tamamlandı ve lens, iris, kornea ve vitreus çıkarıldı. Disseksiyon mikroskopu (Olympus Co, Japan) altında, fundus fotoğrafları göz önünde bulundurularak, spotlar dissekte edildi. Aynı tesbit solüsyonunda ve 4°C'de 12 saat daha tesbit edilen doku örnekleri, sodium Cacodylate tampon ile yıkandıktan sonra, %2'lik Osmium tetroxide solüsyonu ile tesbit edildi. Tesbit sonrası tamponlanmış solüsyon ile yıkanan doku, giderek derişik hale gelen bir dizi etanol banyosu sonucu dehidrate edildi ve araldit (Araldite CY 212, Taab Laboratories, Berkshire) içine gömüldü.

Elde edilen araldit bloklardan Pyramitome (11800, LKB, Bromma) ile yarı ince kesitler alındı. Spotun ortasından geçen kesite ulaşabilmek için, yarı ince kesitlere en geniş çaplı kesit elde edilene kadar devam edildi. Yarı ince kesitler %1'lik toluidin mavisi ve boraks karışımı ile boyandı ve ışık mikroskopisinde değerlendirildi. Saptanan spotların ince yapılarını inceleyebilmek amacıyla lezyonlardan ultramikrotomla (LKB-Ultratome III, 8800, Bromma, Sweden) ince kesitler alındı. İnce kesitler 200 açıklığı bulunan grid üzerine yerleştirildi ve üzeri formvar ile kaplandı. Bunu takiben %0.4'lük kurşun sitrat ile 10 dakika ve %2'lik uranil asetat ile 15 dakika boyanan kesitler transmisyon elektron mikroskopisi (Carl-Zeiss EM 9 S-2) ile değerlendirildi.

Işık mikroskopi düzeyinde incelenen kesitlere ait fotoğraflar Technical Pan 2415 ve Kodachrome 64 ASA film kullanılarak Nikon Optiphot FX-35 (Nikon, Japan) fotomikroskopik sistemde çekildi. Elektron mikrofotografaları ise EM (Ilford Ltd, Mobberley Cheshire) film kullanarak elde edildi ve fotoğrafların banyosu için D-19 siyah-beyaz banyo, baskılar için de 3 numara Brovira BN1 (Agfa-Gevaert, Leverkusen) kart kullanıldı.

#### Klinik Uygulamalar

Diode lazer ile fotokoagülasyonu uygulanan olgulara ait dosyalar retrospektif olarak incelendi. Olgulara ait fundus flöressein anjiyografi ve renkli fundus resimlerinin incelenmesi dışında, uygulama özellik-

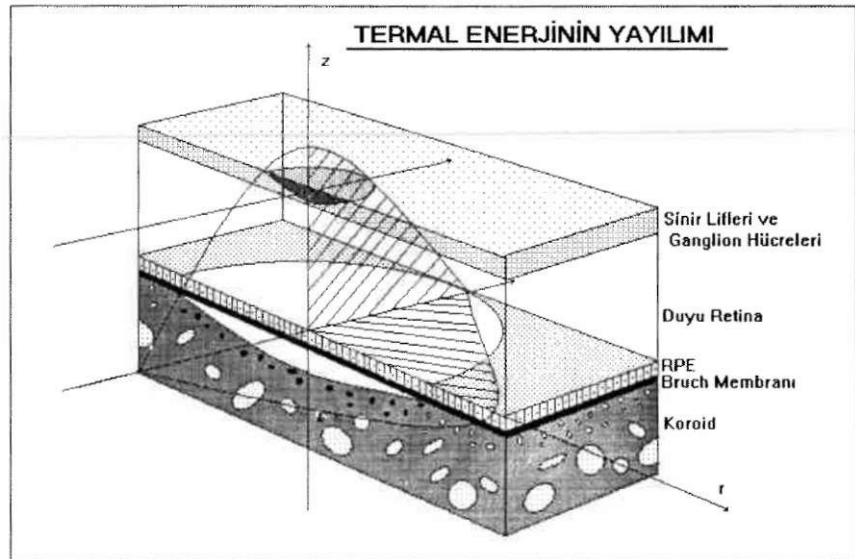
leri ve uzun dalga boyundaki lazerlerin derin doku penetrasyonuna bağlı ağrı, hemoraji gibi komplikasyonların varlığı araştırıldı. Hayvan modeliyle, bilgisayar simülasyonu ortamında, karşılaştırmak amacıyla, dört dalga boyunda aynı spot çapı ve güç kullanılarak 3a derecesinde yanık oluşturulan eş pigment yoğunluklu onar hastaya ait sürelerin modu saptandı (Tablo 2). Bu veriler kullanılarak, bilgisayar ortamında, hedef odağında ve retina yüzeyinde oluşacak ısı değişiklikleri hesaplandı.

#### Bilgisayar Modeli

Kullanılan lazerlere ait spot çapı, güç, süre gibi parametreler kullanılarak 386sx tabanlı bir kişisel bilgisayarda (Boldline M Series, Vveames Automation Re. Ltd.) yapılan deneyle ilgili bir simülasyonu modeli oluşturuldu. Buna göre lazer fotokoagülasyonu için ana hedefi oluşturan retina pigment epiteli (RPE) koriokapillaris (KK) kompleksi merkez (z-0, r-0) olmak üzere, bir koordinat sistemi oluşturuldu (Şekil 1). Bu sistemin aksiyel ekseni (z), radyal ekseni ise (r) olarak tanımlandı. Dolayısıyla, spottan uzak herhangi nokta, bu koordinat sistemi üzerinde, ana hedefi oluşturan RPE-KK kompleksine göreli olarak (z, r) parametreleri ile ifade edilebilmektedir. Bu noktada, (t) zamanında oluşan ısının hesaplanması için genel ısı iletim denklemlerinden (20) derive edilen aşağıdaki fonksiyon kullanıldı (21).

Tablo 2. İnsanlara ilişkin veriler

	Argon	Diode	Dye	Dye
	514.5	810	577	630
SPOT (mikron)	100	100	100	100
GÜÇ (milivatt)	200	350	200	200
SÜRE (saniye)	0.2	0.2	0.25	0.25
ENERJİ YOĞUNLUĞU				
Korneada (Joule/cm <sup>2</sup> )	509.28	891.27	636.61	636.61
RPE (Joule/cm <sup>2</sup> )	262.28	588.236	362.87	388.33



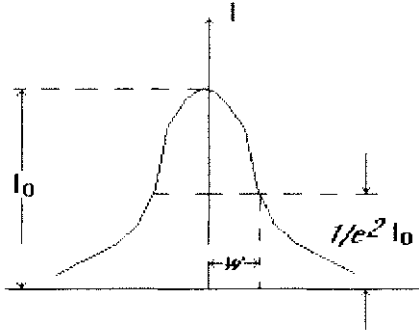
Şekil 1.

$$T = \frac{W E}{2 \pi \alpha c} \left[ \int_0^z \left( 1 + \frac{2 \alpha z}{\lambda} \right) dz + \frac{2 \alpha z}{\lambda} \left( \frac{z}{2} + \frac{z^2}{2 \lambda} \right) \right] \left[ \frac{c}{2 \sqrt{\kappa T}} \operatorname{erf} \left( \frac{z}{2 \sqrt{\kappa T}} \right) + \operatorname{erf} \left( \frac{z}{2 \sqrt{\kappa T}} \right) \right]$$

$\alpha$ :	Emilim katsayısı (/cm)	T :	(°C)
E :	Işının merkezindeki irradiasyon (joule/cm <sup>2</sup> )	z :	Aksiyel Uzaklık (cm)
$\kappa$ :	Temel yayılabilirlik (=1.5x10E-3 cm <sup>2</sup> S <sup>2</sup> )	d :	Işığın emen tabakanın kalınlığı (cm)
c :	Özgül ısı (4.19J.g <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	t :	Zaman (sn)
r :	Radyal uzaklık (cm)	j :	Emisyon süresi (sn)
p :	Yoğunluk (gm.cm <sup>-3</sup> )	W :	Işığın maks. yoğunluğunun 1/e <sup>2</sup> 'sindeki çapı

Fortran (Microsoft FORTRAN 77 V3.30, March 1985) ile bir algoritim hazırlanarak, kullanılan lazerlere ve denek sisteminin değişkenlerine göre, nümerik integrasyon yapabilecek bilgisayar simülasyonu modeli oluşturuldu. Böylece, kullanılan her deney seti için, bilinen parametreleri kullanarak, hipotetik bir x (z,r) noktasında t zamanında oluşabilecek ısı artışı (C°) cinsinden hesaplanabildi. Bu çalışmada 1 milisaniye-89.13 saniye arasındaki 100 zaman diliminde, hedef o-

sında insan retina kalınlığının ortalama olarak 300, tavşan retina kalınlığının ise 150 mikron olduğu kabul edildi (21,22). Hesaplamalar esnasında, diğer modellerde de olduğu gibi, oküler ortamın homojen termal özellik gösterdiği ve melanin pigment granüllerinin lazer atım sürelerinde granüler bir tabaka olarak davranmadığı kabul edildi (20,23,24, 25). Lazerin ilintili "w" parametresi kullanılan her lazer için aşağıdaki formülle hesaplandı:



daklar olan retina pigment epitelinde ve koroidde oluşan ısı ayrı ayrı hesaplandı ve böylece ana hedefi oluşturan bu pigmentli doku kompleksinde oluşan ısıya her ik katın katkısı ayrı ayrı incelendi. Tavşan koridal pigment dağılımı 630 nm'lik emisyonunda iki farklı katta absorpsiyon yapabildiği için (21), hesaplamalar bu dalga boyunda koroidin her iki pigment katı için ayrı ayrı yapıldı. Buna ilaveten, oluşan ısının duyu retinaya dağılımı ve iç retinal katlardaki etkisi hakkında fikir vermesi açısından retina iç yüzeyindeki ısı değişimleri yine aynı zaman dilimlerinde incelendi. Bu inceleme esna-

Bu hesaplamalar için gerekli olan geçirgenlik, emilim katsayıları, hedef dokudaki pigment tabakasının ve retinal dokunun kalınlığı gibi parametreler için her deney sisteminde şifşilla cinsi tavşanlara (21) ve insanlara (21,23,24,25,26,27) özgün farklı değerler kullanıldı. Isı artışının hesaplanması amaçlandığı için, başlangıç ısı 0°C olarak kabul edildi.

## SONUÇLAR

### Oftalmoskopik Görünüm

Çalışmada kullanılan lazerlerle, eş güç yoğunluğu (Watt/cm<sup>2</sup>) ve spot çapında (100 ve 300 mikrometre), aynı klinik görünümde (Grade 3b) lezyon oluşturabil-

mek için gereken enerji yoğunluğu (Joule/cm<sup>2</sup>) ve atım süresi (saniye) Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterilmiştir.

Hem tavşanlarda hem insanlarda, diğer lazerlerle eş düzeyde yanık oluşturabilmek için daha fazla enerji gerektiği dik-kati çaktı. Oransal olarak ifade edilecek olursa, tavşan modelinde, 100 mikron spot çaplı, Grade 3b düzeyinde yanık oluşturabilmek için Diode lazerle, Argon, Dye (577) ve dye (630)'un sırayla 1.99, 1.49 ve 1.49 katı enerji kullanmak gerekmektedir. Bu oranlar insan modelinde sırayla 1.75, 1.40, 1.40 olarak saptandı. Benzer şekilde, tavşan modelinde oluşturulan, 300 mikronluk eşit derecedeki yanıklar göz önüne alındığında Diode lazerin enerji yoğunluğunun Argon lazerinkinden 1.67 kat fazla olduğu belirlendi. Kullanılan lazerlerle eş görünümü yanık oluşturabilmek için gerekli enerji yoğunlukları cinsler arasında da farklılık göstermekteydi, insanlarda Grade 3b yanıklar oluşturmak için Diode lazerler tavşanlardakinin 1.30 katı enerji gerekmektedir. Bu oran Argonda 1.48, Dye (577)'de ve Dye (630)'da 1.39 idi.

Diode lazerle oluşan lezyonlar, klinikte kullanılan diğer lazerlerin aksine hemen belirgin hale gelmediği; önceleri gri olan lezyonun ancak bir süre sonra sonuç görünümüne ulaştığı gözlemlendi (Resim 1,2).

### Işık mikroskopi

#### Diode Lazer

Tüm Diode lazer lezyonları komşu normal retinadan keskin sınırlarla ayrılmışlardı (Resim 3). Lezyonların odağını retina pigment epiteli (RPE) ve ona komşu fotoreseptör dış ve iç segmentleri ile koriokapillaris katı oluşturmaktaydı. RPE hücrelerinin yer yer şişmiş ya da bütünlüğünün bozulmuş olduğu; apikal yüzlerinin ve burada bulunan melanin granüllerinin düzensiz bir yapı kazandığı gözlenmekteydi (Resim 4). Lezyonun ortasında bulunan bazı RPE hücreleri Bruch membranından ayrılmışlardı. Dış kan retina bariyerinin bütünlüğünün ve Bruch membranının geçirgenliğinin bozulması sonucu koroido-retinal yönde sıvı geçişi olduğunu gösterir tarzda, retina altında, RPE hücreleri arasında ve dış pleksiform-iç nükleer katlar arasında sıvı toplandığı belirlendi. Tüm preparatlarda, spot alanında RPE-fotoreseptör dış segment ilişkisinin bozulduğu gözlemlendi. Fotoreseptör çekirdeklerinin sayısında azalma ve yer yer piknozis izlenmesine karşın, iç retinal katlar ve sinir lifleri katında her hangi bir değişiklik gelişmemişti. Spot alanına uyan bölgedeki, koriokapiller damarlarda görülen oklüzyon

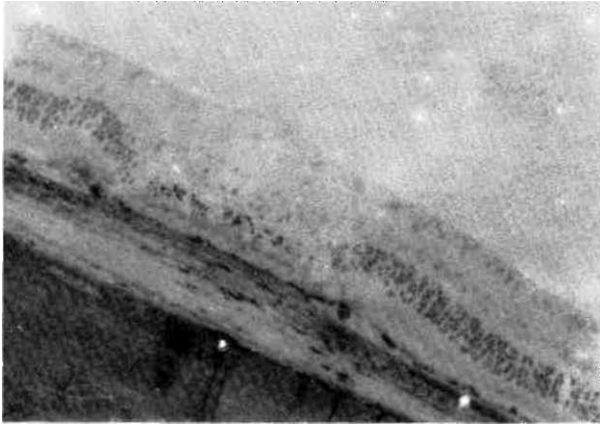


Resim 2. Tavşanın fundusunda myelinli sinir liflerinin üstünde Grade 3b argon lazer spotları görülmektedir

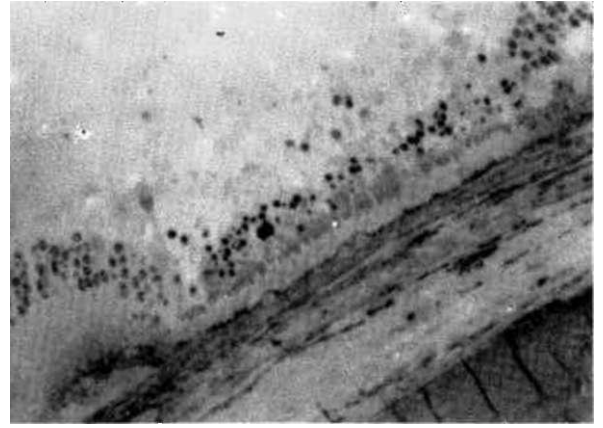
bazı preparatlarda orta kalınlıktaki damarlar tabakasına kadar uzanmaktaydı. Tıkanan koroidal damarların çevresinde interstisyel ödem gelişmişti. İncelenen hiçbir örnekte koroidal damarların çevresinde interstisyel ödem gelişmişti, incelenen hiçbir örnekte koroidal damar dışında şekilli kan elemanı saptanmadı. Koroidal melanin granülleri spot altında diğer bölgelere oranla düzensiz yerleşmişlerdi.

30. günde hücresel onarım mekanizmasının çalıştığı, fakat henüz tamamlanmadığı izlendi. Bu dönemde, Koroiddeki ödemin rezorbe olduğu, orta kalınlıktaki damarların tamamen rekanalize olmasına rağmen, koriokapillaristeki da-

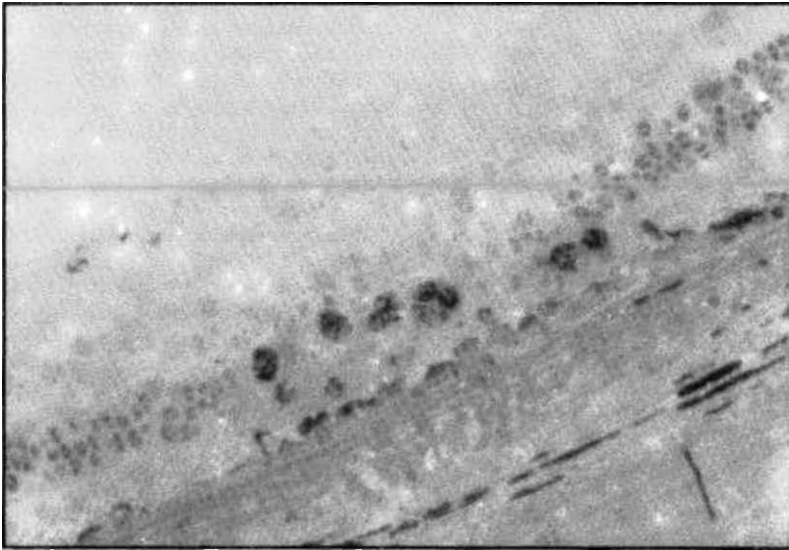
marların kısmen açıldığı izlenmekteydi (Resim 5). Lazer sonrası kısmen çıplak kalan Bruch membranı çoğalan RPE tarafından örtülmüştü. RPE'yer yer çok katlı dizilim göstermekteydi. RPE'nin pigment içeriğindeki düzensizlik ve içleri pigment granülleri ile dolu mikroglial hücrelerin varlığı dikkati çekmekteydi (Resim 5). Bu dönemde çoğalan RPE sonucu dış-kan retina bariyerinin tekrar oluşmaya başladığını gösterir tarzda retinal ödemin kaybolduğu izlenmekteydi. Ne var ki, retina altında az da olsa bir miktar sıvının bulunması bu bariyerin tam anlamıyla kurulamadığına işaret etmekteydi.



Resim 3. Fotokoagülasyondan 1 gün sonra diode lazer lezyonu (100x)



Resim 4. 1. gündeki diode lazer lezyonunda RPE hücrelerinin yer yer şişmiş olduğu ve pigment dağılımlarında düzensizlikler görülmektedir (200x)



Resim 5. 1 ayda diode lazer lezyonununda koroidal damarların rekanalize olduğu izlenmektedir (200x).



Resim 6. 60. günde diode lazer spotunda RPE ve glial hücrelerinden oluşan skar dokusunun gelişmiş olduğu izlenmektedir. Arada tek sağlam fotoreseptör hücresi çekirdeği görülebilmektedir (200x).

60. günde spot alanında gelişen astrosit ve Müller hücreleri kaynaklı skar dokusu, fotoreseptör hücrelerin çoğunun yerini almıştı. Bu skar dokusunun arasında tek tük fotoreseptör hücre çekirdeği izlenebilmekteydi (Resim 6). İç nükleer, ganglion hücreleri ve sinir lifleri tabakalarında yapısal bozukluk izlenmekteydi.

#### ***Diğer Lazerler***

Histolojik incelemelerde Argon, 577 ve 630 nm dalga boyundaki Dye lazerlerin doku üzerindeki etkileri farklı bulunmadı. Her üç lazerde de ana hedefi, diode lazerde olduğu gibi, RPE-koriokapillaris-fotoreseptör kompleksi oluşturmaktaydı. RPE hücrelerinin düzgün sıralanmalarının bozulduğu ve yer yer Bruch membranından koparak ayrıldıkları izlenmekteydi. Buna ek olarak, özellikle Argon lazer spotlarında Bruch membranının yapısal bütünlüğünün bozulduğu ve 577 nm dalga boyundaki Dye lazer ile Argon lazerde belirgin olmak üzere dış pleksiform katta ve retina altı boşlukta vakuoller halinde sıvı toplandığı görülmekteydi. Fotoreseptörlerin dış segmentlerinde ileri derecede yapısal hasar ve lezyon kenarlarına deplase olan iç nükleer kattaki hücre çekirdeklerinde piknozis ve karyoreksis geliştiği dikkati çekmekteydi. Özellikle Argon ve Dye 577 nm dalga boylarında iç retinal katlardaki hasar ganglion hücreleri sinir lifleri tabakasına kadar ulaşmaktaydı (Resim 7).

Tümünde ganglion ve Müller hücre çekirdeklerinde azalma ve yer yer sinir

liflerinde hasar ve yaygın vakuolizasyon izlenmekteydi. Argon lazer spotlarında iç limitan membranının bütünlüğünün bozulduğu dikkati çekmekteydi. Bu üç lazer arasında iç retinal katlarda en az hasar 630 nm ile oluşmaktaydı. Buna karşın koroidal penetrans ve dolayısıyla etki de en fazla 630 nm ile gelişmekteydi. Bu dalga boyu ile oluşturulan spotların altında koroid kalınlığının yaklaşık 2/3'üne varan vasküler oklüzyon alanları saptanabilmekteydi. Bu kadar derine inmekle beraber, Argon ve 577 nm'lik Dye lazerlere ait preparatlarda da, azalan derecelerde, koroidal tromboz izlenebilmekteydi.

30. ve 60. gündeki preparatlarda, lazer spotunun retino-koroidal skar dokusunun gelişmesiyle birlikte iyileştiği görülmekteydi. Bu iyileşme prosesi, diode lazerinkine uyumlu olmakla birlikte, iç limitan membranda kırışıklık ve duyu retina altında sıvı vakuollerinin geç dönemlerde de izlenmesi ile ayrıcalık kazanmaktaydı (Resim 8).

Elektron mikroskop!

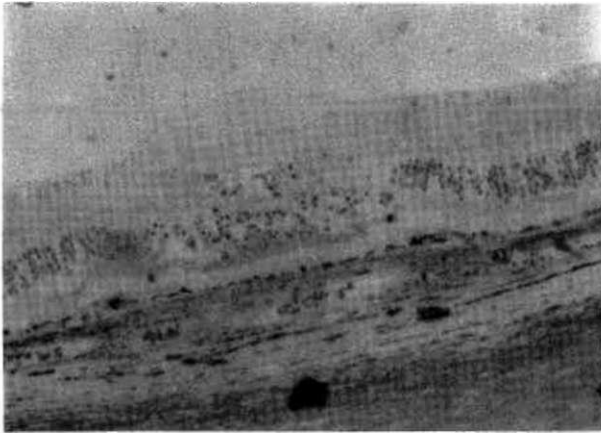
#### ***Diode Lazer***

Spot alanındaki RPE hücreleri yer yer büzüldüğü yer yer de hücre içinde ileri derecede vakuolizasyonun geliştiği izlendi. Hücrelerin içinde melanin granülleri dışında herhangi bir yapı tanımlanamamaktaydı. Elektron yoğun hale gelen hücrelerde özellikle dejenerasyon organel membranları üzerinde yoğunlaşan flokülan boyanma özelliği göze çarpılmaktaydı (Resim 9). Melanin granülleri bozulan hücre bütünlüğüne oranla yapısal olarak

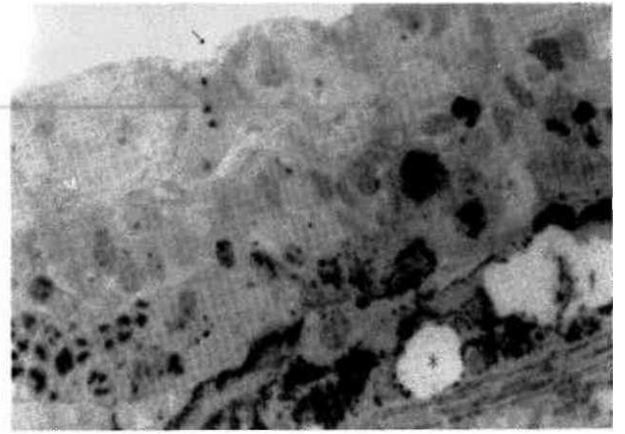
sağlam kalabilmişlerdi. Ne var ki, bunların da çevresinde yer yer vakuollerin olduğu izlenmekteydi. Vakuolizasyona rastlanan bir diğer alanı da hücrenin bazal yüzü oluşturmaktaydı. Bunlar bazen fokal RPE dekolmanlarına yol açabilecek büyüklüğe erişebilmekteydiler.

Bruch membranının bütünlüğü bozulmamakla beraber, iç ve dış kollajen laminalarda elektron yoğun boyanma özelliğinin ve vakuolizasyonun gelişmişti. Koriokapillarisde endotel hücrelere çekirdeklerinin piknotik olduğu ve yer yer hücrelerin dejenerasyon olarak ortadan kalktığı gözlemlendi. Bu alanda damar lümeninde fibrin tıkaçların olduğu ve kan akımı tamamen durduğu izlenmekteydi. Endotelial hasar ve tromboz baz preparatlarda koroidin ortalarına kadar inebilmekteydi (Resim 10). RPE hücreleri gibi koroidal melanositlerde de hücresel hasar ve yapısal bozulma gelişmişti. Koroidal ödem ve kollajende parçalanma RPE'e yaklaştıkça daha bariz olarak göze çarpılmaktaydı (Resim 10).

Fotokoagülasyon alanındaki fotoreseptör dış membranlarının RPE'den koparak uzaklaştıkları ve büzülerek düzensiz kıvrımlanmalar gösterdiği saptandı. Veziküler disorganizasyon ve flokülan tarzda, elektron yoğun boyanma özelliği gösteren iç segmentlerde mitokondrial detay seçilememekteydi (Resim 11). Hücre nükleuslarında ise piknozis belirgin olarak göze çarpılmaktaydı (Resim 12). Yer yer yapısal bütünlüğü bozulan fotoreseptör hücrelerinin iç-dış segmentleri birbirinden ve hücre çekirdeğinden koparak ayrılmıştı. Dış nükleer tabakada-



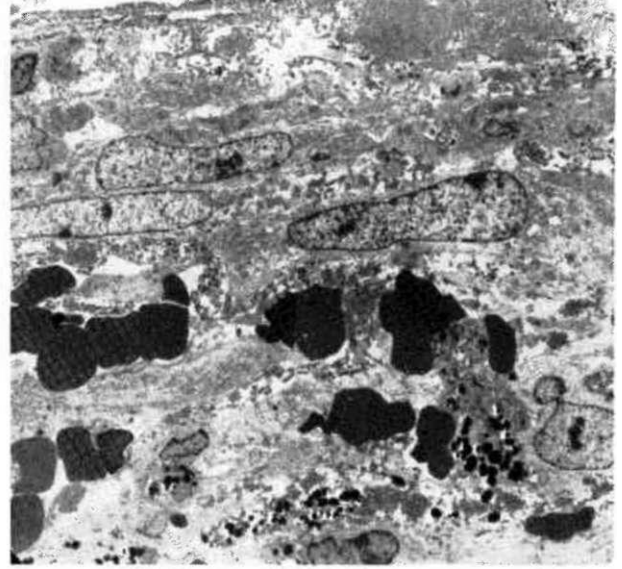
Resim 7. 1. günde argon lazer spotunda iç nükleer tabakadaki piknotik çekirdeklerin sayısındaki artışla ganglion hücrelerinde kayıp gözlenmektedir (100x).



Resim 8. 60. günde argon lazer spotu, iç limitan membran kırışıklığı (ok) ve duyu retina altında sıvı vakuoller (\*) izlenmektedir (400x).



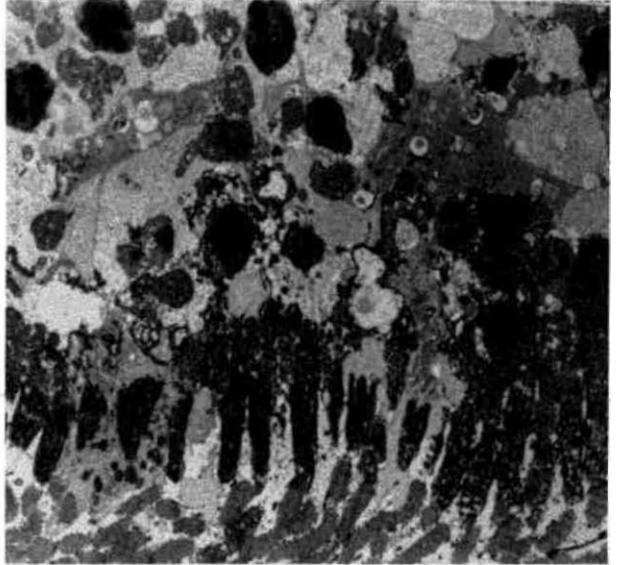
Resim 9. 24 saatlik diode lazer spotunun elektron mikrofotografı. RPE hücrelerinde melanin granülleri dışında ince detay kaybolduğu; hücre içi ve retina altı alanda yer yer vakuolizasyonun geliştiği izlenmektedir. Koriokapillariste tromboz ve endotel çekirdeğinde piknozis görülmektedir (1800x).



Resim 10. Fotokoagülasyondan 1 gün sonra diode lazer spotu. Koroidin orta katlarında gelişen tromboz görülmektedir. RPE tabakasına doğru ilerledikçe artan koroidal ödem dikkati çekmektedir (1350x).



Resim 11. 1. günde diode lazer fotokoagülasyon spotu. Elektron yoğun flokülent boyanma özelliği gösteren fotoreseptörün segmentinde, tüm intrasitoplazmik detayın kaybolduğu; hücre membranının bütünlüğünün bozulduğu ve çevresindeki ekstrasellüler matrisin bozulduğu görülmektedir (9500x).

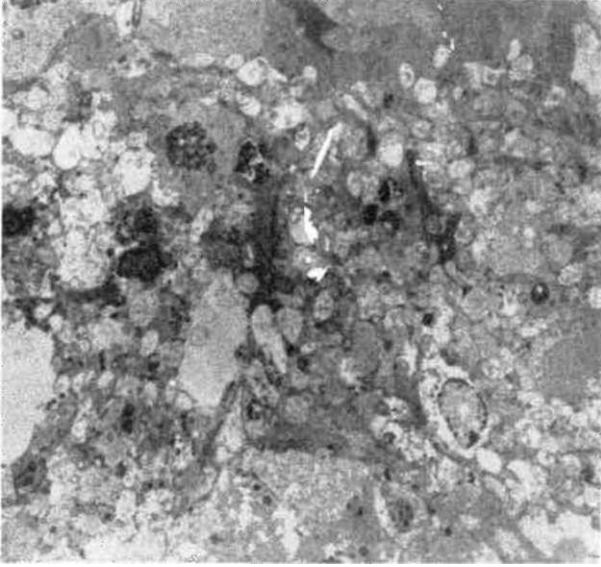


Resim 12. 24. saatte diode lazer spotunda fotoreseptör hücre çekirdeklerinde piknozis izlenmektedir (4500x).

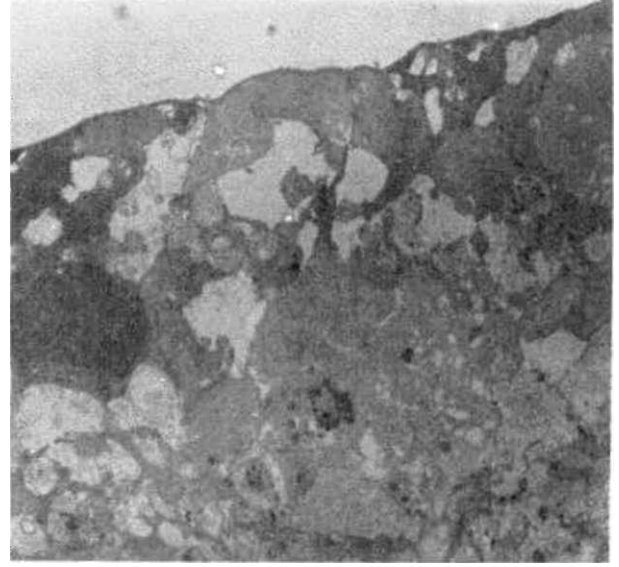
ki Müller hücre uzantılarının su aarak şişmesi dış nükleer tabakadaki elemanların birbirinden daha da uzaklaşmasına neden olmaktadır. Bozulan dış-kan reti-

na bariyerinden içeri giren sıvı yer yer iç nükleer tabakanını dış pleksiform kattan ayrılmasına neden olmuştur (Resim 13). Ganglion hücreleri ve sinir lifleri tabaka-

sında ekstrasellüler ödem dışında bir değişiklik izlenmemektedir. İç limitan membranın yapısal bütünlüğü korunmaktadır (Resim 14).



**Resim 13.** Dış pleksiform katla iç nükleer kat arasında bulunan vakuoller görülmektedir (4500x).



**Resim 14.** 1. günde diode lazer spotunda ganglion hücreleri ve sinir lifleri tabakasında ekstrasellüler ödem dışında patoloji görülmemektedir. İç limitan merobran yapısal bütünlüğü bozulmamıştır (4500x).

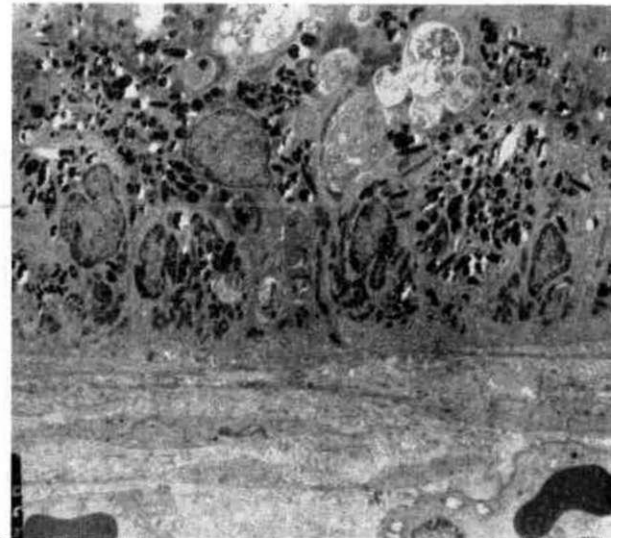
30. günkü preparatlarda lezyon kenarında proliferen olan RPE hücrelerinin Bruch membranı üzerinde hareket ederek bu membranın çıplak kalan alanlarını kapadıkları görülmekteydi. Önceleri tek sıralı ve yassı karakterdeki RPE

hücreleri (Resim 15) defekt kapandıktan sonra çok katlı epitel dizinleri oluşturmaktaydılar (Resim 16). Bu dönemde çoğalan hücreler arasında zonula okklüdenslerin oluştuğu ve dış kan-retina bariyerinin tekrar sağlandığı görülmekteydi

(Resim 17). Koriokapillaris birçok preparatta henüz rekanalize olmamışken daha derinde yer alan büyük çaplı damarlarda kan akımının tekrar başladığı görülmekteydi (Resim 16). Koroidal melanositlerde belirgin bir proliferasyon göze

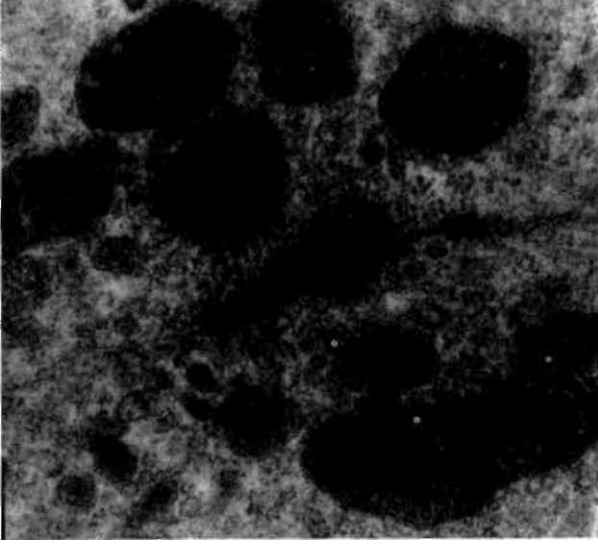


**Resim 15.** 30. günde diode lazer spotu görülmektedir. Fotokoagülasyon sonrası çıplak kalan Bruch membranı lezyon kenarındaki sağlam dokudan kayarak gelen RPE (ok) tarafından kapatılmaktadır (4500x).

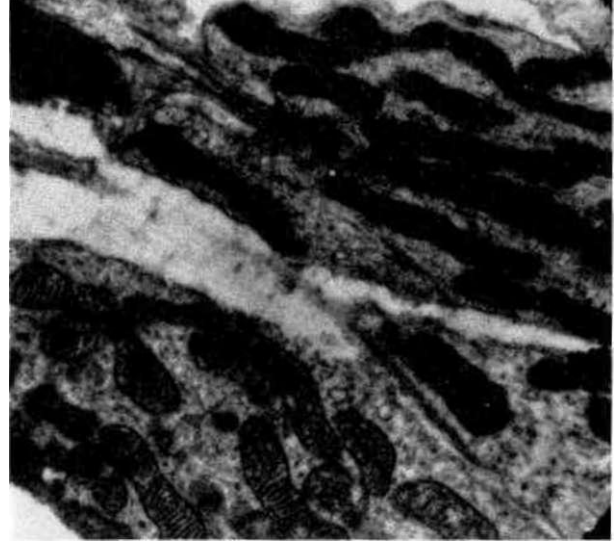


**Resim 16.** Fotokoagülasyonu izleyen 30. günde çoğalan RPE giderek çok katlı görünüm almaktadır (1800x).





Resim 17. Prolifere olan RPE hücreleri arasında gelişen zonula okludens görülmektedir (28000x).



Resim 18. Diode lazer fotokoagülasyonundan 1 ay sonra mitokondriyal detayları kaybolmuş dejenere fotoreseptör dış segmentleri arasında yer yer sağlam kalanlara da rastlanmaktadır (9500x).

çarpıyordu. Dış nükleer tabakadaki gıllal hücre miktarında artış ve tek tük sağlam kalmış fotoreseptör hücreleri izlenebilmekteydi (Resim 18). Ganglion hücreleri ve sinir lifleri tabakasındaki intersellüler lakünlerin ortadan kalktığı ve ganglion hücrelerinin yoğunluğunda azalma olmadığı görülmekteydi (Resim 19). İç limitan membran da herhangi bir patoloji bulunmamaktaydı (Resim 20).

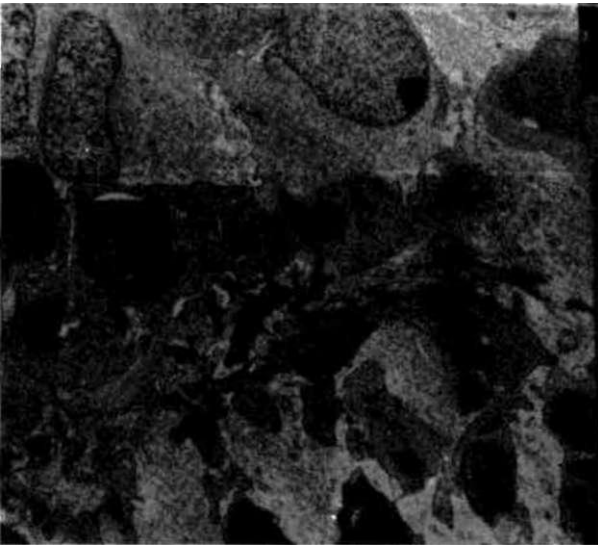
60. günde spot alanında çoğalarak çok katlı epitel haline gelmiş RPE hü-

releri ile glial hücrelerin oluşturduğu skar dokusu izlenmekteydi. Bruch membranında herhangi bir defekt izlenmemesine rağmen büyük büyütmelerde iç kollajen laminada daha yoğun olmak üzere her iki kollajen laminada kollajen fibrillerin yapısının bozulduğu ve elektron yoğun granüler depozitlerin biriktiği saptandı. Buna ilaveten, elastik laminada yer yer fenestrasyonlar izlenmekteydi (Resim 21). İncelenen tüm preparatlarda korio-

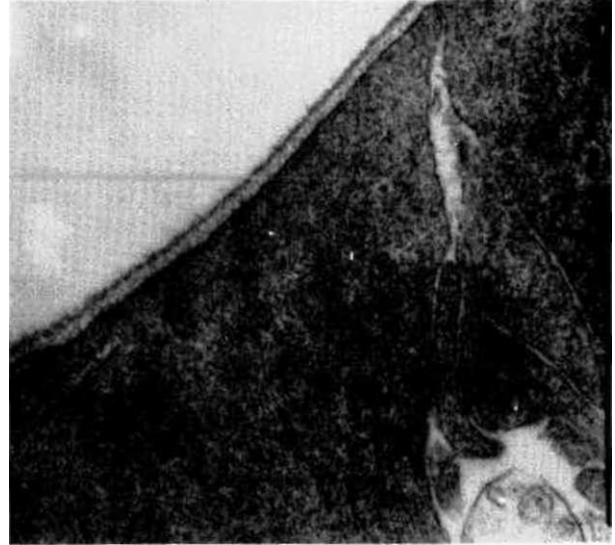
kapillarisin rekanalize olduğu görülmekteydi.

#### Diğer Lazerler

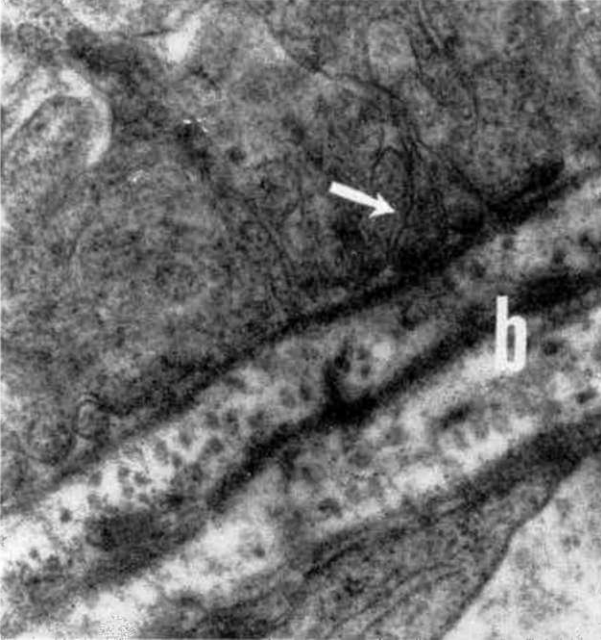
Argon ve Dye lazerin iki dalga-boyuyula oluşan lezyonların Diode lazerden en önemli ayırıcı yönü yanık sahasının iç retinal katları da içine almasıydı. Bu etkinin en açık olarak görüldüğü Argon lazer fotokoagülasyon sonrasında ganglion hücreleri ve sinir liflerinde hücresel hasar ve intrasellüler va-



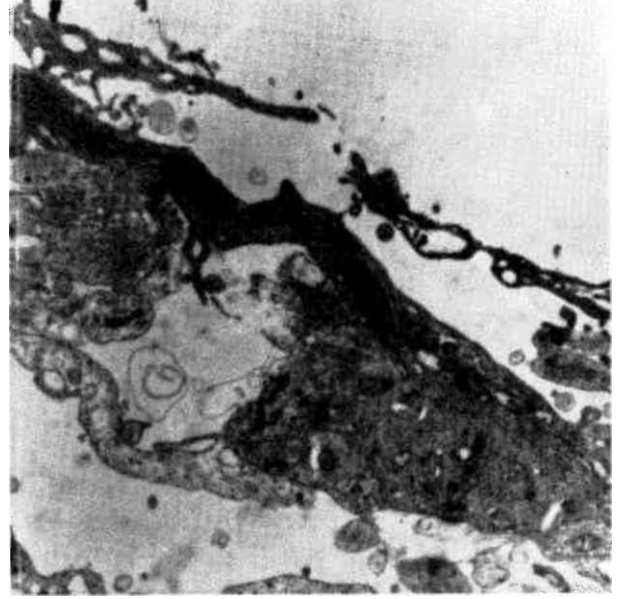
Resim 19. Diode lazer fotokoagülasyonunun 1. ayında iç retinal katlarda ganglion hücre kaybı izlenmemektedir (2250x).



Resim 20. Diode lazer ile fotokoagülasyon sonrası iç limitan membranda yapısal değişiklik oluşmamasıdır (28000x).



Resim 21. Diode fotokoagülasyonundan 60 gün sonra Bruch membranının (B) ince yapısında oluşan değişiklikler görülmektedir. RPE'nin bazal involüsyonlarının (ok) geliştiği izlenmektedir (28000x).



Resim 22. Argon lazer fotokoagülasyonundan 24 saat sonraki preparatta iç retinal katlarda ve iç limitan membranda ileri derecede hasar izlenmektedir (4500x).

kuolizasyon izlenmekteydi. Bazı preparatlarda iç limitan membranın bütünlüğünü bozacak derecede iç retinal hasar gelişmişti (Resim 22). Her 3 lazerin de hedef dokularını oluşturan RPE-koriokapillaris ve fotoreseptör hücre kompleksi düzeyinde etkileri arasında belirgin bir fark bulunmamasına karşın, Argon lazer fotokoagülasyonla Bruch membranında yer yer incelmeler ve kopukluklar geliştiği gözlemlendi (Resim 23). Her üç lazerle fotokoagülasyon sonrası koriokapiller tıkanıklık oluşmuştu. Kırmızı Dye'in neden olduğu oklüzyon, aynen Diode lazerde olduğu gibi, koroidin orta katlarında büyük çaplı damarları da etkilemekteydi.

30. günde çok katlı dizilim gösteren RPE hücreleri lezyon sahasına kaplamıştı. Yer yer subpigment epitelyal sellüler debris birikintileri içeren sahalar göze çarpmaktaydı. Bu debrislerin üzerinde yerleşen RPE hücrelerinin bazal kapantılarının kaybolduğu göze çarpmaktaydı (Resim 24). Argon lazer preparatlarında yer yer Bruch membranının ortadan kalkmış ve koroidal fibroblastların bu gediklerden RPE altı aralığa uzanmışlardı. Sarı (Resim 27) ve kırmızı (Resim 28) Dye lazerlerle de Bruch mem-

branında yer yer yapısal bozukluklar gözlenmekteydi,

İç retinal katlarda, sayıları azalan ganglion hücreleri arasında, dağılan pigment granüllerini fagosite etmiş olan mikroglyal hücreler bulunmaktaydı (Resim 29). Argon lazerde en belirgin olmak üzere, iç limitan membranda karışıklıklar geliştiği ve yer yer ortadan kalktığı gözlemlendi (Resim 30),

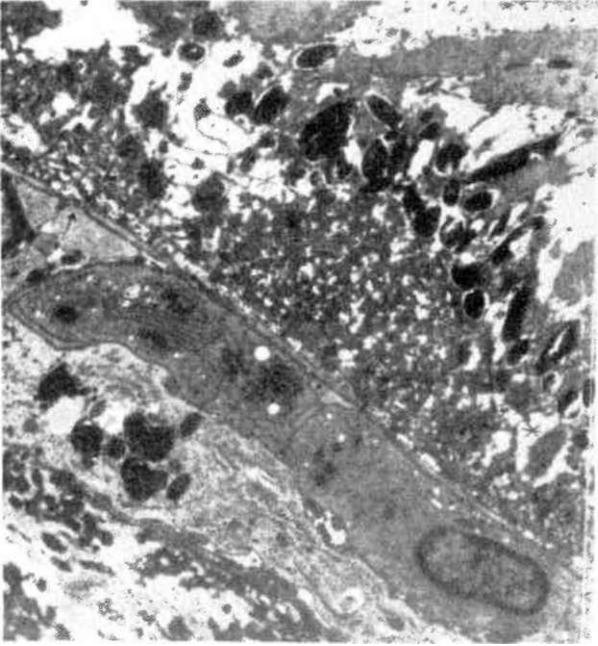
#### Simülasyon Modeli

Kullanılan lazerlerin, geliştirilen simülasyon modeli ile saptanan, hedef pigmentli dokularda oluşturdukları en yüksek ısılar Tablo 5'de görülmektedir. Görüldüğü gibi hem tavşanda hem de insanda, gerek lazer odağında gerekse de retinal yüzeyde en düşük ısı Diode lazerle oluşmaktaydı. Diode dışındaki lazerlerin oluşturdukları en yüksek ısılar arasında fark bulunmamaktaydı. Diode lazer ile diğer lazerler arasındaki bu fark cinsler arasında da farklılık göstermekteydi. Tavşanlarda diode lazerin düşük ısı oluşturma özelliği daha belirginleşirken, insanlarda bu fark azalmaktaydı.

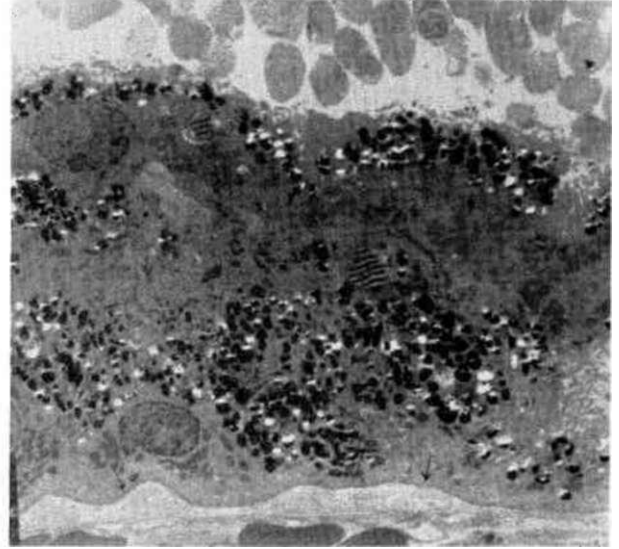
Kullanılan lazerlerin hedef dokuda oluşturdukları ısı artışı zamana bağımlı olarak Grafit 1-4'de verilmektedir. Görüldüğü gibi ısı hedef dokuda en yüksek değerine son derece kısa bir sürede çık-

makta ve bu düzeyden inmesi göreceli olarak uzun sürede olmaktadır, pigmentli oküler kompartmanlarda oluşturdukları ısının dağılımı da beklenildiği gibi lazerler arasında farklılık göstermekteydi. Diode lazer kullanıldığında, koroidde RPE'de oluşan ısının yaklaşık, tavşan modelinde 2.76 İnsan modelinde ise 2.79 katı fazla ısı oluşturmaktaydı (Grafik 5,6) (Tablo 4). Bu oran diğer lazerlerin hiçbirinde 1.2'den yüksek değildi. Zirve değerlerine ulaşım süreleri incelendiğinde her iki modelde de ısı artış pikine Diode lazerin diğer lazerlerden 50-<sup>^</sup>tOS-ms- sonra ulaştığı-%elMend (Tablo 5).

300 mikronluk spotların analizinde Diode lazer atımlarında RPE'de hesaplanan en yüksek ısı 4.187°C iken koroidde ulaşılan değer 12.69°C'a varmaktaydı. Bu değerler Argon lazer atımlarında RPE'de 29.97°C, koroidde ise 30.19°C idi. Her iki lazerlerinde koroid ve RPE'de oluşturdukları ısılar 100 mikronluk spotlar kullanıldığında oluşan ısılardan farklı değildir. Ne var ki, Diode lazerde spotun büyümesiyle RPE'de oluşan ısıya oranla koroidde 3.03 kat ısı oluşmaktaydı. Bu oran Argon lazer atımlarında değişmemekteydi.



Resim 23. 1. gündeki argon lazer totokoagülasyon odağında, RPE hücreleri içinde vakuolizasyon (\*) ve Bruch membranında yer yer incelmeler (ok) görülmektedir. Koriokapiller damarlarda tromboz izlenmektedir (1800x).



Resim 24. Dye 630 nm ile fotoakoagülasyondan 1. ay sonra çok katlı yapı kazanan RPE hücrelerinin altında depozitler (ok) izlenmektedir (1800x)



Resim 25. 1. aydaki argon lazer spotunda Bruch membranındaki detektten RPE altına uzanan koroidal fibroblast izlenmektedir (1800x) (ok).



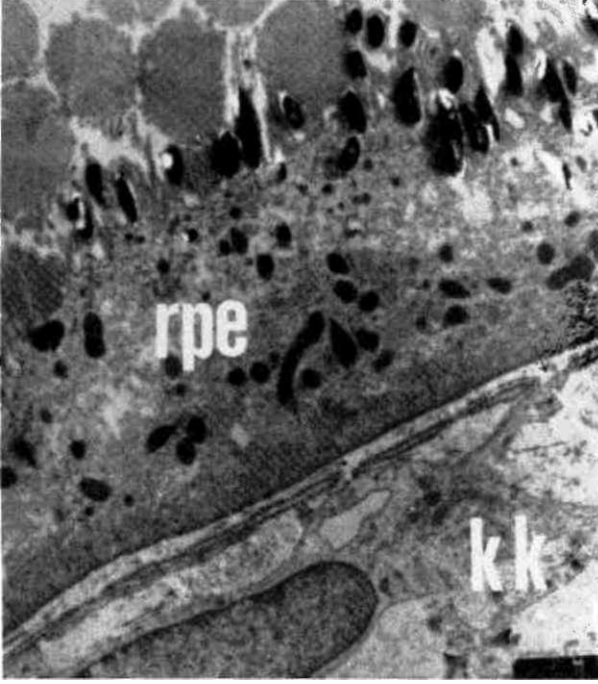
Resim 26. 60. gündeki argon lazer spotunda lameller yapı (ok) kazanan Bruch membranı (B) görülmektedir (9500x).

#### Klinik Kullanım

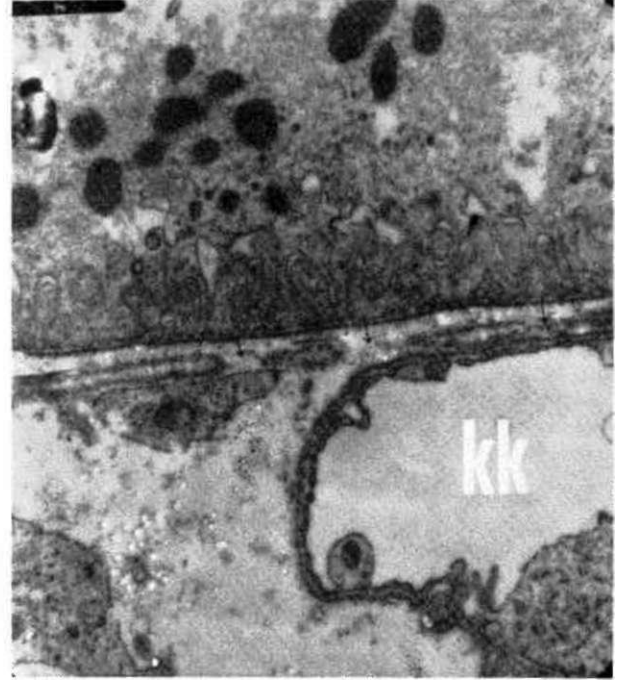
15 aylık klinik pratiğimiz süresince 168 hastanın 273 gözüne Diode lazer totokoagülasyon uygulandı. Bunlar arasında 83 hastanın 160 gözüyle diabetik retinopati olguları birinci sırada bulun-

> ydı (Tablo 3). Olguların klinik izlemlerinde, tedavi açısından diğer klinik kullanımdaki lazerinkine benzer olumlu etkiler gözlemlendi. Hiçbir olguda korneal veya lentiküler opasiteler gelişmedi. Tedaviye bağlı olarak RPE yırtığı gelişme-

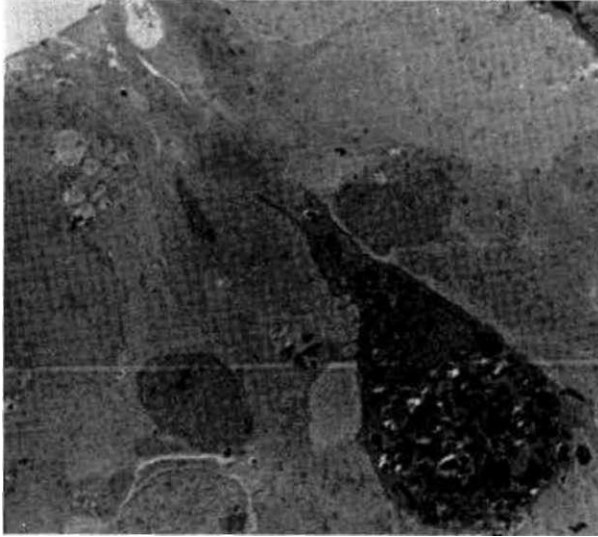
diği gibi özellikle kanamalı retinopatilerde veya retinal ödemü olgularda, Diode lazerin kırmızı ötesi emisyonunun diğer lazerlere oranla çok daha iyi nüfuz edebildiği gözlemlendi. Hastaların diğer lazerlerde atım esnasında kapanan mekanik diya-



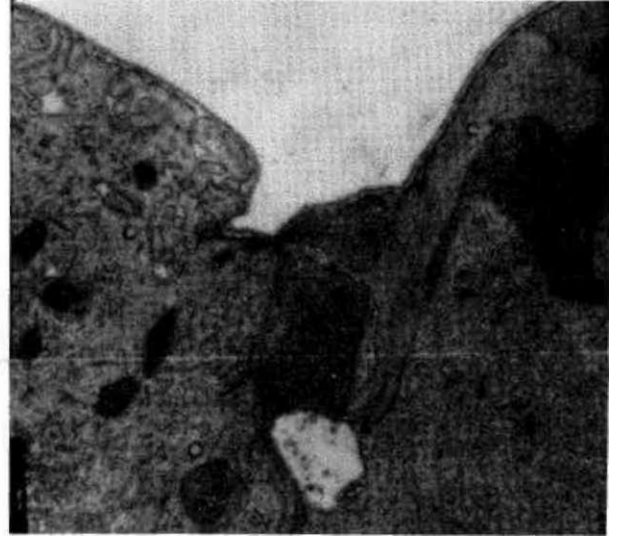
Resim 27. 630 nm'lik dye lazer spotunda 30 günde Bruch membran defekti izlenmektedir (ok) (9500x).



Resim 28. Dye 577 nm lazer spotunun 60. gününde kanalize korlokapillars (kk) ve Bruch membran defekti (ok) izlenmektedir (9500x).



Resim 29. 60. günde argon lazer odağında pigment yüklü mikroglia hücreleri görülmektedir (1800x).



Resim 30. Argon lazer sonrası iç limitan membranda oluşan kırıksıklık izlenmektedir (t 800x).

framin sesini duymadıklarından ve görünür spektrum dışındaki lazer ışığını fark etmediklerinden tedavili çok rahat tolere edebildikleri izlendi.

Yanıkların konvansiyonel iyon lazerlere oranla daha geç belirgin hale gel-

diği ve kullanıma alışma döneminde en büyük zorluğun güç titraji konusunda çıkabileceği gözlemlendi. Lazerin odaklanması ve spot çapının biyomikroskopun küçük hareketleri ile orantısız olarak değişmesi şeklinde bildirilen dezavantajların kullanı-

mına uyum sağlanması ile kısa sürede kalkabildiği gözlemlendi. Diğer iyon lazerlere oranla daha geniş kon açısına sahip diode lazer emisyonunun fundusa kesintisiz olarak yollanabilmesi için pupillanın tam dilatasyonu gerekmektedir. 168 ol-

Tablo 3.

	SAYI	GÖZ
Dia betik Retinopati	83	160
Ven Dal Tıkanıklığı	23	26
Ven Kök Tıkanıklığı	10	20
AMD'ye ikinci NVM	19	25
Retinal Yırtık	10	10
Eales Hastalığı	3	6
Myopik NVM	5	5
Angioid Streak (NVM)	3	7
Serpiginous koroidK	3	5
Behçet Hastalığı	3	3
SSPE	3	3
Retinoschisis	2	2
Toxoplasmosis	1	1
Toplam	168	273

NVM: Neovasküler Makülopati

AMD: Yaşlılığa bağlı Makula Dejeneransı

SSPE: Santral Seröz Pigment Epiteryopati

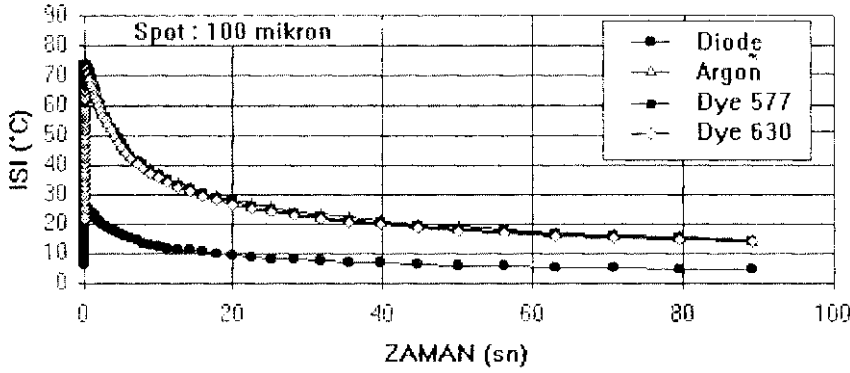
gudan 18 (%10.71)'inde ağrı yakınması oldu. Ağrı özellikle saat 3, 6, 9 ve 12 kadrantlarında ve mid-periferik alanda uzun süreli ya da yüksek güçte atımlarla oluşmaktaydı ve gücün düşürülmesi ile ortadan kalabilmekteydi. Bu olguların hiçbirinde ağır fotokoagülasyonun devamına engel olacak düzeyde değildi ve hiçbir olguda retrobulber anestezi gerekmedi. Düşük güçle fotokoagülasyona başlayıp eşik değeri saptamakla hem ağrı hem de hemoraji gibi komplikasyonlar kolaylıkla ortadan kaldırılabilmekteydi.

### TARTIŞMA

Bu çalışma hem hayvan modelinde hem de bilgisayar simülasyon ortamında diode lazerin iç retinal katlara hasar vermeden güvenli fotokoagülasyon amacıyla kullanılabilceğini göstermektedir.

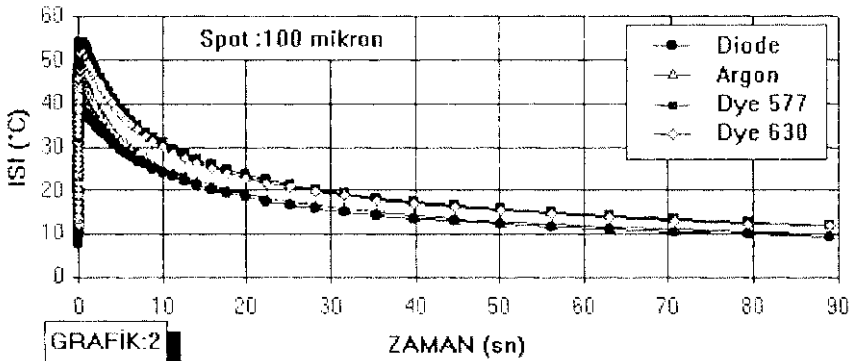
Diode lazerin 810 nm'lik emisyonu oküler ortamdaki en az kayıpla geçebilen ışık bandında bulunmaktadır (23, 26, 28). Bunun yanı sıra uzun dalga boyundaki ışınların sahip olduğu gibi, az saçılma uğrama ve hedef dokuya ulaşana kadar geçtiği dokular tarafından çok daha az emilebilme avantajlarına da sahiptir. Bu özellikleri uzun dalga boyundaki diode lazer enerjisinin, diğer lazerlere oranla, çok daha az kayıpla hedef doku üzerinde yoğunlaşabilmesine neden olmaktadır. Böylece, hedef dokuda istenen etkiyi yaratmak için gücü artırırken, istenmeyen korneal veya lentiküler absorpsiyona engel olunabildiği gibi, bu dokulardaki hasar riski de azalmaktadır. Bu deney modelinde kullanılan tavşanların optik ortamlarının saydam olması, diode lazerin diğer lazerlere oranla daha az saçılma uğrama ve daha iyi penetre olabilme özelliğinin belirgin olarak açığa çıkmasına engel olmuştur. Klinik kullanımda ise, pratiğimizin %67.7'sini oluşturan, diabetik ve yaşlılığa bağlı makula dejeneransı (AMD) hasta popülasyonunda bu özellik, diğer lazerlere karşı önemli avantaj olarak ortaya çıkmaktadır. Retinopati gelişmiş diabetik hastalarda sıklıkla tabloya eşlik eden diabetik lentopati ya da vitre veya retina önü kanamaların konvansiyonel lazer emisyonlarının hedefe ulaşmasına engel olabileceği bilinmektedir (29, 30). Aynı şekilde AMD'li olgularda sıklıkla gözlenen nükleer sklerozis de özellikle mavi-yeşil spektrumdaki emisyonların geçirgenliğini azaltmaktadır. Diode lazerin kırmızı ötesi emisyonunun kullanılmasıyla, bizim de klinikte gözlediğimiz gibi, geçirgenlikle ilgili bu tür dezavantajlar ortadan kalabilmektedir (11,16,17,31,32).

### ODAKTA OLUŞAN ISI (Tavşan)



Grafik 1.

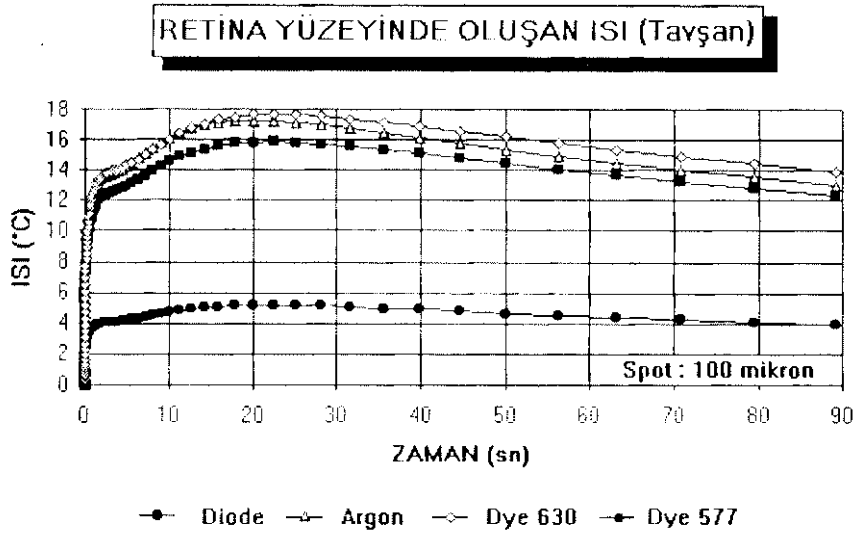
### ODAKTA OLUŞAN ISI (İnsan)



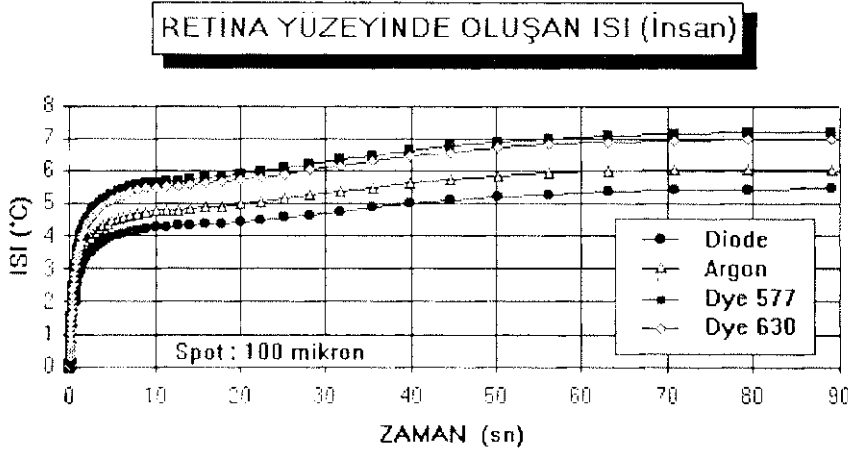
GRAFİK:2

Grafik 2.

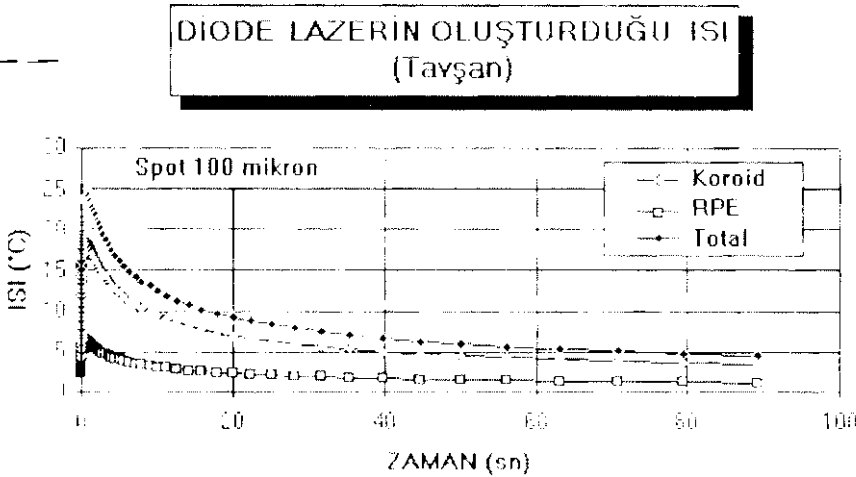
Lazerlerin retinal dokudaki etkileri, dalga boylarına ve retina kromatoforlarının dağılım yer ve yoğunluklarına bağlıdır. Panretinal fotokoagülasyonun simüle edildiği bu çalışmada kullanılan lazerlerin birincil derecede emilime uğradıkları retinal kromatofor, RPE ve koroidde yerleşik melanindir. Avasküler retinaya sahip tavşan etkisini ortadan kaldırmıştır. Kullanılan lazerlerin 100ms-1sn arasındaki atım sürelerinde etkilerini hedef kromatoforu içeren dokuda ısı artışı yoluyla gerçekleştirdikleri bilinmektedir (28). Bu ısı artışının 60-90°C arasında kalmasıyla hücresel "Koagülasyon" gelişmektedir (33). Hücresel anlamda koagülasyon enzimler ve kollajen gibi ısıya hassas yapılarda denatürasyona neden



Grafik 3.



Grafik 4.



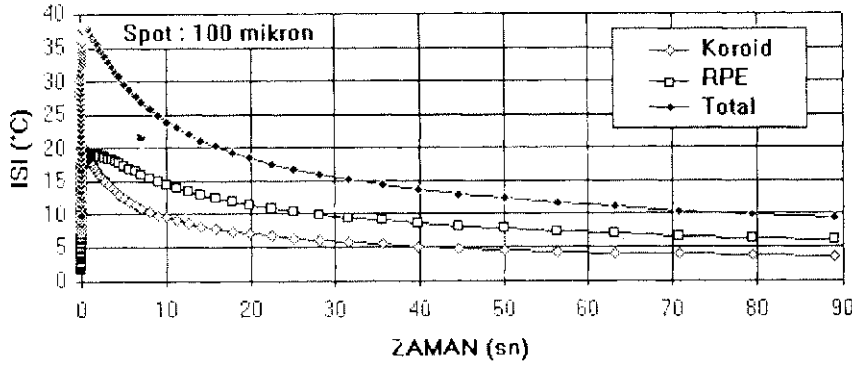
Grafik 5.

olmaktadır. Hasara uğrayan RPE'deki fokal yoğunlaşma ve üstünde bulunan duyu retinadaki mekanik distorsiyon, gözlem için fundusa yollanan ışığın diffüz olarak yansımaya ve spotun gri-beyaz renkli olarak görülmesine neden olmaktadır (34). Bu çalışmada eş güç ve spot çapı kullanılarak değişik lazerlerle aynı klinik görünümde, yani RPE'de aynı hasara yol açabilecek atımlar gerçekleştirilmiştir. Tek değişken olarak kullanılan zaman da göz önüne alınacak olursa, diode lazer emisyonları ile aynı derecede yanık oluşturabilmesi için argon lazerin ortalama 1.75-2.00 katı daha fazla enerji kullanılması gerektiği görülecektir. Bu oran dye lazerin her iki dalga boyuyla karşılaştırıldığında ise 1.25-1.5 olarak bulunmuştur. Kırmızı ötesi spektruma yaklaştıkça melanin absorpsiyonunun azaldığının bilinmesi, diode lazerle aynı derecede yanık oluşturabilmek için diğer konvansiyonel lazerlerden daha yüksek enerji kullanılması gerekliliğini açıklamaktadır, ne var ki, bu sonuç sadece diode lazerin kırmızı ötesi emisyonunun RPE'deki melanin tarafından az emilmesiyle açıklanamaz. Çünkü eğer bu emilim oranı birindi derecede rol oynasaydı eş derecede yanık oluşturabilmek için tavşanda argonun 10.23, insanda ise 5.16 katı enerji kullanılması gerekirdi. Diode lazer emisyonunun çok daha kayıpla hedef üzerinde yoğunlaşabilmesi emilimlerinin azlığından doğan bu farkı kapayan en önemli faktör olarak görülmektedir. Bu çalışmada saptanan ve 300 mikronluk spotlarda, argonla eş düzeyde yanık oluşturmak için gerekli olan 1.67 katlık enerji yoğunluğu oranının, Brancato ve arkadaşlarının saptadığı 1.6 oranına çok yakın olması, bu bulgunun değişik deney ortamlarında tekrarlanabilirliğini göstermesi bakımından dikkat çekicidir (935).

Hedef dokuda oluşan ısının RPE'ni tahrip etmesiyle:

- a. Sağlıksız RPE'nindebridmanı,
- b. Dış-kan retina bariyerinin ortadan kaldırılması ve böylece plasma kaynaklı metabolik faktörlerin etkileri için olanak yaratılması,
- o RPE'nin proliferasyonunun uyarılması ve böylece RPE büyüme faktörlerinin ortamda oluşması ve
- d. Sağlıklı pompa mekanizmasına sahip RPE hücrelerinin gelişmesi,
- e. RPE hücrelerin çoğalması ve retina altı yeni damar oluşumlarının inkarse-

## DIODE LAZERLE OLUŞAN ISI (İnsan)



Grafik 6.

Tablo 4. Laserlerle değişik emilim katlarında oluşan en yüksek ısılar (°C)

	DIODE	ARGON	DYE 577	DYE 630
<b>TAVŞAN</b>				
Odak				
RPE	6.71	37.69	33.69	29.83
Koroid 1	18.56	36.54	33.91	33.85
Koroid 2	—	—	—	9.243
TOTAL	25.164	74.11	73.38	72.641
Retina Yüzeyi				
RPE	1.38	8.59	7.43	6.51
Koroid 1	3.84	8.69	8.47	7.14
Koroid 2	—	—	—	4.06
TOTAL	5.21	17.28	15.87	17.68
<b>İNSAN</b>				
Odak				
RPE	20.12	34.8	35.75	33.64
Koroid	28.21	12.02	19.18	19.38
TOTAL	38.4	46.27	54.08	52.13
Retina Yüzeyi				
RPE	2.24	4.25	4.23	3.94
Koroid	3.21	1.81	2.6	3.05
TOTAL	5.44	6.06	7.19	6.98

Tablo 5. Odaktaki ısının en yüksek değerine ulaşması için gereken süre (sn)

	Diode	Argon	577	630
Tavşan	0.3162	0.25.12	0.2813	0.2512
İnsan	0.4467	0.3162	0.3548	0.3548

rasyonu gibi değişiklikler oluşur. Bunların sonucunda ise klinikte lazer fotokoagülasyon tedavisinin ana teröpatik etkileri gelişmektedir. Ne var ki, amaç bu yararları sağlarken, iç retinal katlara en az zararı vermektir. Isı hedef odağından hem aks/ye/ yönde retina yüzeyine hem de ra-

dya/ yönde yanlara doğru yayılır. Yayılma şekli çan eğrisi ile uyumlu olan ısı enerjisinin, (36) ulaştığı dokuda 10-25°C'lik ısı artışı sağlanmasıyla hücrelerde kalıcı hasar oluşmaktadır (37). Bizim çalışmamızda kullandığımız parametrelerle oluşturulan bilgisayar simülasyon ortamında argon ve

her iki dye lazerin retina yüzeyinde oluşturdukları ısı bu dokularda kalıcı hasar yapabilmek için yeterli bulundu. Nitekim histopatolojik incelemelerin de bu sonuçla uyumlu olması kurulan simülasyon modelinin pratikte de geçerli sonuçlar verdiğini göstermekteydi. Öte yandan aynı derecede yanık oluşturan diode lazer emisyonunda iç retinal katlarda kalıcı hasar yapmaktan uzak 5.21°C'lik bir ısı artışının olması ve incelenen spotlarda iç retinal katlarda hasar izlenmemesi, diode lazerin fotokoagülasyonun teröpatik etkilerinin sağlarken, istenmeyen etkilerine engel olabildiği kanısını doğrulamaktadır. Ne var ki, bu tür histopatolojik çalışmalarda sıkça yapılan hata hayvanlardan elde edilen sonuçların doğrudan insanlara uygulanmasıdır. Pigment dağılımı açısından insana en yakın hayvan olan şinşilla cinsi tavşanlarda bile lazer absorpsiyon karakteri insandan büyük farklılıklar göstermektedir (38). Örneğin insanlarda yeşil argonun kornea-RPE arasındaki transmisyonu 0.515 iken (23,26) tavşanda bu oran 0.93'tür (21). Benzer şekilde kullandığımız lazerlerle ilgili emilim katsayıları, yüzey sayı ve kalınlıkları da farklılık göstermektedir (21). Bu yüzden hayvan modelinde histopatolojik bulgularla güvenilirliğini gösterdiğimiz simülasyon modelinde, klinik pratiğimizle ilgili verileri kullanarak insanlarda oluşan ısıyı hesapladık. Tablo 3'de de görüldüğü gibi, çalışmada kullanılan tüm lazerlerin iç retinal katlarda neden oldukları ısı artışlarının 10°C'ye ulaşmadığını izledik. Bu, kimi insan çalışmalarında lazer fotokoagülasyon sonrası iç retinal katlarda ışık mikroskopisi düzeyinde histopatolojik defekt saptanamamasını açıklayabilmekteydi (39). Bununla birlikte, her ne kadar 10°C bir eşik gibi gösterilmişse de, bilinen, klinikte kullanılan lazer fotokoagülasyon uygulamaları koşullarında, dokudaki ısı artışına bağımlı hücre hasarının, ısı artışının miktarına ve süresine bağımlı olduğudur. Arrhenius Integrali ile ifade edilen bu ilişkiye göre ısı ne kadar çok ve ne kadar kısa sürede yükselirse o derece hasar oluşturmaktadır (21,34). Dolayısıyla eşik altında ısı oluştursalar da, en az ve en uzun sürede ısı artışına neden olan lazerin tercih edilmesi iç retinal katların korunması açısından önem taşımaktadır. Kullandığımız diğer lazerlerin ısı piklerine ulaşma sürelerinden yaklaşık 50-100 ms sonra pik değerine ulaşabilen ve retina yüzeyinde 5.44°C ile en düşük ısı artışı oluşturan diode lazer bu yüzden iç retinal tabakalara en az hasar veren lazer olarak görülmektedir.

Diode lazerin hedef dokularda oluşturduğu ısı miktarına bakılacak olursa, aynen 630 nm dalga boyundaki kırmızı dye lazer gibi, diğer dalga boylarının aksine koroid ve retinada hemen hemen eş ısı oluşturduğu görülecektir. Bu özellik dalga boyunun artmasıyla lazer ışının koroidde daha iyi penetre olabildiğini göstermektedir, histopatolojik incelemelerimizde de bu iki lazerin koroidde derin trombozlara neden olabildiklerini gözledik. Her ne kadar derine nüfuz ettiği için krypton kırmızısı fotokoagülasyonun uzun süreli koroid perfüzyon hasarına yol açtığı belirtilmiş olsa da, çalışmamızdaki lazerlerin tümünde 1. ay sonrasında koroid damarlarının rekanalize olduğunu gözledik. Diode lazerin koroidde oluşturduğu ısının diğer lazerlerin tümünden yüksek olması (Tablo 4), klinik kullanımda özellikle silyer sinir lokalizasyonlarında ısı artışına bağlı olarak hastaların ağrıdan yakınmalarına yol açmaktadır. Bununla birlikte ağrı hiçbir zaman fotokoagülasyona engel olacak düzeye erişmemektedir. Ayrıca bu bölgelerde yüksek güç ve süreden kaçınarak da ağrı şikayetlerine engel olunabilmektedir.

Diode lazer emisyonunun koroide penetre olması, lezyonun ve dolayısıyla ortamda oluşturduğu ısının büyük bir kısmının koroide gelişmesi, klinik görünümünün diğer lazerlerden farklı olmasına yol açmaktadır. Tipik argon lazer diode'un aksine RPE'inde koroidden çok daha yüksek ısılara ulaşabilmekte ve lezyon kısa sürede gri-beyaz görünüm almaktadır. Diode'da ise önceleri RPE'de oluşan ısı düşük olduğu için lezyon çok daha silik olarak izlenmekte, ancak bir süre sonra koroiddeki ısı dalgasının iç katlardaki dokulara ulaşarak hasar yaratmasıyla, spot argonunki ile eş yoğunluğa ulaşabilecektir.

Histopatolojik incelemelerde, diode'un aksine özellikle argon ve her iki dye lazerde saptanan Bruch membran defektleri de lazerlerin Bruch membranı üzerinde yerleşen RPE'de oluşturdukları ısı farkıyla açıklanabilir. Tavşanda RPE'inde 4 mikronluk bir mesafede yerleşmiş melanin oluşturacağı ısı, koroidde dağınık olarak bulunan melanine oranla Bruch membranını çok daha kolaylıkla hasarlayabilir.

Bu çalışmada saptayabildiğimiz diğer bir bulgu da, görünür spektrumdaki lazerlerin klinikte kullanılan güçlerde, retinal dokudaki etkilerinin birbirinden farklı

olmamasıydı. Bunun nedeni özgün etkiye sahip olduğu iddia edilen (40) değişik dalga boylarındaki lazerlerin, hedef odak ve emilim yüzdeleri arasında fark olmasına karşın, oluşan ısının retina gibi hem son derece ince (300 mikron) hem de yüksek elektro-termal iletim özelliğine sahip bir dokuda lokalize kalamamasıdır (39).

Çalışmamızda model olarak kullandığımız tavşanın avasküler retinası diode lazer emisyonunun retinal damarlar üzerindeki etkisini histopatolojik olarak incelememize imkan vermedi. Bununla birlikte, hemoglobinin diode emisyonunu düşük absorblamasından doğan dezavantajın selektif indosiyanın fotokoagülasyonu ile ortadan kaldırabildiği bilinmektedir (17,41).

Bu çalışma ile diode lazerin retinal fotokoagülasyon için yüksek ergonomik ve ekonomik etkinliğine ek olarak, hedef dokuya yüksek penetrans ve minimal yan etki gibi özellikleriyle klinikte kullanılagelen kovansiyonel iyon lazerlere güçlü alternatif oluşturabileceği gösterilmiştir. Ayrıca histopatolojik gözlemlerle uyumluluğunu gösterdiğimiz bilgisayar lazer simülasyon modelinin, lazerdoku ilişkisini incelemede yararlı olacağı kanısındayız.

#### TEŞEKKÜR

*Yazarlar bu çalışmanın elektron mikroskopik değerlendirmesindeki katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Histoloji Kürsüsü Öğretim Üyeleri Sn.Prof.Dr.Mahmut SAĞLAM ve Sn.Prof.Dr.Atilla TANYOLAÇ'a bilgisayar modelinin geliştirilmesindeki katkılarından dolayı Bilkent Üniversitesi Matematik bölümü başkanı Sn.Prof.Dr. Metin GÜRSES'e ve Fizik Bölümünden Sn.Doç.Dr.Atilla ERÇELEBİ'ye; elektron mikroskopi preparatlarının hazırlanmasındaki üstün gayretlerinden ötürü Sn.Elvan SOLMAZ'a teşekkürü borç bilirlir.*

#### KAYNAKLAR

1. Diabetic Retinopathy Study Group. Photocoagulation treatment of proliferative diabetic retinopathy: the second report of diabetic retinopathy study findings. *Ophthalmology* 1978; 85:82-106.
2. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Photocoagulation for diabetic macular edema: Report number. 1, *Arch Ophthalmol* 1985; 103:1796-1806.
3. Macular Photocoagulation Study Group. Argon laser photocoagulation for senile macular degeneration: Results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol* 1986; 104:694-701.

4. Macular Photocoagulation Study Group. Argon laser photocoagulation for ocular histoplasmosis: Results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol* 1983; 101:1347-57.
5. Macular Photocoagulation Study Group. Argon laser photocoagulation for idiopathic neovascularization: Results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol* 1983; 101:1358-61.
6. Branch Retinal Vein Occlusion Study Group. Argon laser scatter photocoagulation for prevention of neovascularization and vitreous hemorrhage in branch vein occlusion. *Arch Ophthalmol* 1986; 104:34-41.
7. Mc Hugh JDA, Marshall J, Ffytche T J, Hamilton AM, Raven A. Macular photocoagulation of human retina with a diode laser: A comparative histopathological study. *Lasers Light Ophthalmol* 1990; 3(1): 11-28.
8. Department of Health. Lasertek 40A and 41A ophthalmic argon and argon/krypton lasers failure of filter and shutter mechanisms. DHSS health circular, HC (Hazard) 1988; 88:18.
9. Medical Laser News. British team introduces first diode-laser system for surgery. *Laser Focus World* 1992 April: 37.
10. Hecht J. Diode-laser performance rises as structures shrinks. *Laser Focus World* 1992 May: 127-43.
11. Balles MW, Puiiafito C. Semiconductor diode lasers: A new laser light source in ophthalmology. *Int Ophthalmol* 1990; 30(2):77-83.
12. McHugh JDA, Marshall J, Capon M, Rothery S, Raven A, Naylor RP. Transpupillary retinal photocoagulation in the eyes of rabbit and human using a diode laser. *Laser Light Ophthalmol* 1988; 2(2): 125-43.
13. Geeraets GA, Berry ER. Ocular and spectral characteristics as related to hazards from lasers and other light sources. *Am J Ophthalmol* 1988; 66:15-20.
14. Woon WH, Ffytche T J, Hamilton AMP, Marshall J. Iris clipping of a diode laser beam when performing retinal photocoagulation. *Br J Ophthalmol* 1991;75:386-90.
15. Wallow IHL, Sponzel WE, Stevens TS. Clinicopathologic correlation of diode laser burns in monkeys. *Arch Ophthalmol* 1991; 109:648-53.
16. McHugh JDA, Marshall J, Ffytche T J, Hamilton AM, Raven A, Keeler CR. Initial clinical experience using a diode laser in the treatment of retinal vascular disease. *Eye* 1989; 3:516-27.
17. Balles MW, Puiiafito CA, D'Amico DJ, Lacobson J J, Bimgruber R. Semiconductor diode laser photocoagulation in retinal vascular disease. *Ophthalmology* 1990; 97:1553-61.
18. Mainster MA, Crossman JL, Erickson PJ, Heacock GL. Retinal laser lenses: Magnification, spot size and field of view. *Br JOphthalmol* 1990;74:177-9.
19. L'Esperance Jr FA. Diabetic retinopathy. In: *Ophthalmic Lasers*, The CV Mosby Comp St Louis 1983;9:235-308.
20. Carslaw HS, Jaeger JC. The flow of heat in an infinite circular cylinder. In: *Conduction of heat in solids*. 2nd edition, Clarendon Press Oxford 1988; 7:188-213.



21. Bimgruber R, Hillenkamp F, Gabel VP. Theoretical investigations of laser thermal retinal injury. *Health Phys* 1985;48(8):7B1-96.
22. Shahidi M, Zeimer RC, Mori M. Topography of the retinal thickness in normal subjects. *Ophthalmology* 1990; 97:11204.
23. White TJ, Mainster MA, Tips LH, Wilson PW. Choriorretinal thermal behaviour. *Bull Math Biophys* 1970;32:315-22.
24. Bridgeway D. Three-dimensional steady-state temperature distribution about cylinders and discs. *Bull Math Biophys* 1968; 30:701 -13.
25. Roulier A. Calculation of temperature increase in the eye produced by intense light. *Bull Math Biophys* 1970; 32:403-27.
26. Boettner EA, Wolter R. Transmission of the ocular media. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1962; 1(6):776-83.
27. White TJ, Mainster MA, Wilson PW, Tips LH. Choriorretinal temperature increases from solar observation. *Bull Math Biophys* 1971; 33:1 -17.
28. Hillenkamp F. Laser radiation tissue interaction. *Health Phys* 1989; 56(5):613-6.
29. Vincent GM, Fox J, Charlton G, Hill S, McClane R, Spikes JD. Presence of blood significantly decreases transmission of (330 nm. laser light. *Lasers in Surgery and Medicine* 1991; 11:399-403.
30. Obana A, Mikit. Dye laser photocoagulation through experimentally induced retinal hemorrhage. *Lasers in Surgery and Medicine* 1991;11:152-7.
31. Hassan TS, Johnson MW, Einer VM. Diode laser photocoagulation of the choroid through experimental subretinal hemorrhage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33(4): 146-6.
32. Smiddy WE. Retinal diode laser photocoagulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33(4):3089-15.
33. Spasov AY. *Lasers and their applications*. Singapore: World Scientific Publishing Co Pre Ltd, 1986:484.
34. Mainster MA. Wavelength selection in macular photocoagulation. *Tissue optics, thermal effects, and laser systems ophthalmology* 1986; 93:952-8.
35. Brancato R, Pratesi R, Leoni G, Trabucchi G, Vanni U. Histopathology of diode and argon laser lesions in rabbit retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30(7):1504-10.
36. Cam CP, Welch AJ. Measured and predicted laser-induced temperature rises in the rabbit fundus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1974; 13(1):60-70.
37. Marshall J. *Lasers in ophthalmology: The basic principles*. *Eye* 1988; 2(suppl):98-112.
38. Zhwiuv G, Glazkov V, PudoitZef A, Linnik L, Privalov A. Retinal damage from intense visible light. *Health Phys* 1989; 56(5):625-30.
39. Brooks HL, Eagle Jr RC, Schroeder RP, Annesley WH, Shields JA, Ausburger JJ. Clinicopathologic study of organic dye. *Laser in the human fundus*. *Ophthalmology* 1989; 96:822-34.
40. Vogel M, Schafer FP, Stuke M, Müller K, Theuring S, Morawietz A. Animal experiments for the determination of an optimal wavelength for retinal coagulation. *Graefe's Arch elm Exp Ophthalmol* 1989;227:277-80.
41. Obana A, Lorenz B, Eckert KG, Bimgruber R. Dye-enhanced diode laser photocoagulation using continuous injection of indocyanine-green. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33(4):144.