

# Laser Fototérmico e sua Interacção com a Retina Humana

José Henriques<sup>1,2,6</sup>, João Nascimento<sup>1,3,6</sup>, Paulo Caldeira Rosa<sup>1,2</sup>, Fernando Trancoso Vaz<sup>1,4,6</sup>, Miguel Amaro<sup>1,5,6</sup>

<sup>1</sup>IRL – Instituto de Retina de Lisboa; <sup>2</sup>IOPG – Instituto Oftalmologia Gama Pinto; <sup>3</sup>HBA – Hospital Beatriz Ângelo; <sup>4</sup>Hospital Doutor Fernando da Fonseca, EPE; <sup>5</sup>Hospital Vila Franca Xira; <sup>6</sup>SPILM – Sociedade Portuguesa Interdisciplinar do Laser Médico

## RESUMO

Há vários efeitos resultantes da interacção da luz laser com os tecidos biológicos que podemos classificar em 5 tipos: efeito fotoquímico, fototérmico, fotoablativo, fotoablação induzida por plasma e fotodisrupção. Estes efeitos biológicos são modelados pelas propriedades ópticas dos tecidos: reflexão, absorção e dispersão e pelas características do feixe laser, nomeadamente o seu comprimento de onda (cdo) que influencia a absorção da energia pelos pigmentos biológicos, bem como pela energia do feixe e do tempo da interacção do laser com os tecidos.

Na retina humana usamos principalmente o laser de efeito fototérmico na banda do verde-amarelo (532nm), amarelo (577nm) ou diodo (810nm), obtidos actualmente a partir de um laser de estado sólido (Nd:YAG-KTP) ou diodo e dispensado em modo contínuo ou micropulsado ( $\mu$ P).

Na retina humana pretende-se que o feixe laser atravesse os meios ópticos “transparentes” ao cdo do laser em utilização e a sua energia seja absorvida pelos dois pigmentos: melanina do EPR e corio-capilar (CC) ou pela hemoglobina (microaneurismas). O calor gerado está dependente da energia do feixe por área do spot (fluência) e seu tempo de interacção com o EPR, do modo de saída em onda contínua ou micropulsos. O aquecimento induzido ao complexo EPR-CC pode ficar confinado a um volume próximo do local do spot ou aumentar no sentido da coroideia e muito mais no sentido da retina interna, lesando tecidos e células nobres da retina causando lesão térmica com desnaturação proteica e do DNA – fotocoagulação.

Vários estudos realizados permitem-nos considerar os seguintes mecanismos de acção terapêutica do laser térmico: (i) Diminuição do consumo de O<sub>2</sub> pelos fotorreceptores (FR) destruídos pelo laser. Tem-se considerado desde há muito como o único mecanismo de acção. (ii) Aumento da oxigenação da retina – “pontes de O<sub>2</sub>” retinocoroideias (iii) Aumento da produção de mediadores químicos pelas células do EPR (PEDF e outros mediadores com expressão genética aumentada ou diminuída de determinados genes envolvidos no processo de reparação dos organelos celulares) (iv) Activação da renovação celular e remodelação dos tecidos retinianos (v) Diminuição das Metallo Proteinases da Matriz (MMP's) (vi) Aumento das proteínas de shock térmico (HSP's) (vii) Migração de células HSC da medula óssea com efeito reparador.

O laser térmico na retina humana pode ser usado na área macular ou na retina periférica. No primeiro caso a lesão deverá ser a menor possível de forma a preservar os tecidos e células responsáveis pela função visual, sendo importante personalizar e combinar a terapêutica (corticóides e anti-VEGF). Podemos descrever 12 técnicas diferentes para abordar o edema macular diabético (EMD) com laser térmico, preferencialmente usando cdo amarelo 577nm e verde 532nm, podendo no entanto ser usado krypton 657nm ou diodo 810nm. Quando falamos em laser temos que ter presente que podemos estar a referir-nos apenas a uma ou duas das técnicas descritas mas, o rigor científico, obriga-nos a conhecer as várias possibilidades técnicas e a descrever com precisão aquilo a que nos estamos a referir.

### **Palavras-chave**

Laser fototérmico, laser estado sólido, laser micropulsado, interação laser-tecido, fotocoagulação laser, Nd:YAG-KTP, PEDF, VEGF, HSP, MMP, edema macular diabético, terapêutica combinada

---

### **ABSTRACT**

There are several effects resulting from the interaction of laser light with biological tissues which can be classified into 5 types: photochemical, photothermal, photoablation, photoablation induced by plasma and photodisruption. These biological effects are modeled by the optical properties of the tissues: reflection, absorption and dispersion, and the characteristics of the laser beam, in particular its wavelength (cdo) that influences the absorption of energy by organic pigments, as well as by the energy beam and the time for interaction of the laser with the tissue.

In the human retina we mainly use laser photothermal effect in the green-yellow band (532nm), yellow (577nm) or diode (810nm), currently obtained from a solid state laser (Nd: YAG-KTP) or diode, and dispensed in a continuous or micropulsed ( $\mu$ P) mode.

In the human retina the laser beam is expected to cross the optical means which are “transparent” to the laser cdo used and its energy is absorbed by two pigments: melanin of EPR and chorioretinal capillary (CC), and hemoglobin (microaneurysms). The heat generated depends on the energy of the beam by spot area (fluence) and its time of interaction with the EPR, of output mode in continuous wave or micropulse. Induced heating of the complex EPR-CC can be confined to a volume near the site of the spot or increased towards the choroid or the inner retina, damaging tissues and cells and causing protein denaturation and DNA - photocoagulation.

Several studies allow us to consider the following mechanisms of action of phototermic laser in human retina: (i) the decrease of O<sub>2</sub> consumption by photoreceptors (FR) destroyed by the laser. It has long been regarded as the only mechanism of action. (ii) increasing the oxygenation of the retina - chorioretinals “O<sub>2</sub> bridges” (iii) Increased production of chemical mediators by RPE cells (PEDF and other mediators with gene expression increased or decreased in certain genes involved in the repair of cellular organelles) (iv) Activation of cell renewal and retinal tissue remodeling (v) Reduction of matrix metallo-proteinases (MMPs). (vi) Increase of shock thermal proteins (HSPs ) (vii) migration of HSC cells from bone marrow with a reparative effect.

The laser heat in the human retina can be used in the macular area or the peripheral retina. In the first case the lesion should be as small as possible in order to preserve tissues and cells responsible for visual function and is important to customize and combine therapy (corticosteroids and anti-VEGF). We describe 12 different techniques to address diabetic macular edema (DME) with thermal laser, preferably using cdo yellow 577nm and 532nm green, but krypton 657nm or 810nm diode may be used as well. When we talk about laser we usually refer to one or two of the techniques described, but the scientific rigor, requires us to know the various technical possibilities and accurately describe what they are referring to.

### **Key-words**

Photothermal laser, solid-state laser, micropulse laser, laser-tissue interaction, laser photocoagulation, Nd:YAG-KTP, PEDF, VEGF, HSP, MMP, diabetic macula edema, combined therapy

---

## ASPETOS GERAIS DA FÍSICA DO LASER

Há vários efeitos resultantes da interação da luz laser com os tecidos biológicos. Múltiplos factores intervêm na variabilidade destes efeitos. Referimo-nos, em primeiro lugar, às propriedades ópticas dos tecidos: reflexão, absorção e dispersão. Outro factor de peso diz respeito às características da radiação luminosa, nomeadamente: comprimento de onda ( $\lambda$ ), tempo de exposição, densidade de potência ou Irradiância ( $W/cm^2$  – relaciona a intensidade da luz com o diâmetro do spot) e densidade de energia ou Fluência ( $J/cm^2$  – relaciona a energia com o diâmetro do spot).

Os fótons monocromáticos colimados e de elevada densidade de potência saem da cavidade laser e seguem uma direcção determinada pela fibra óptica, espelhos e lentes terapêuticas. Se não fossem direccionados para o nosso alvo terapêutico, seguiriam em conjunto uma direcção rectilínea como a luz. O feixe além de colimado (todo compacto e direccionado, sem desvio de fótons da sua trajectória) tem elevada energia comparativamente à luz difusa.

Desde a invenção dos lasers por Maiman em 1960, têm sido investigados os possíveis efeitos da interacção dos lasers com os tecidos<sup>1</sup>. Podemos classificar em 5 tipos: efeito fotoquímico, efeito fototérmico, efeito fotoablativo, efeito fotoablativo induzido por plasma e efeito fotodisruptivo.

### COMO PRODUZIR EFEITO LASER



**Fig. 1 |** Um laser é constituído fundamentalmente por um meio activo que permita a transmissão de luz no seu seio (Ex.: Nd:YAG, Argon, Rubi, CO<sub>2</sub>), um sistema de espelhos colocados nas extremidades do meio activo, habitualmente com forma cilíndrica, a fim de permitir construir uma cavidade óptica ressonante, um sistema de fornecimento de energia ao meio activo ou seja um sistema de bombagem laser ( Ex.: uma lâmpada de flash, um outro laser, um diodo, um arco eléctrico) e um sistema de saída com mecanismos de regulação da saída do feixe laser. Convém referir que o espelho posterior é 100% reflector e levemente côncavo e o anterior é menos do que 100% reflector.

O laser que usamos na retina para obter efeito terapêutico é o laser com acção térmica (laser fototérmico). O laser é produzido na cavidade laser e de acordo com o meio laser podemos ter laser gasosos (Argon 514nm, Kripton 647nm, CO<sub>2</sub> 10,6 $\mu$ m e Excimer 193nm) e lasers de estado sólido (Nd: YAG 1064nm, Nd:YVO<sub>4</sub> 1064nm - neodýmium-doped yttrium orthovanadate, Nd:YAG-KT 532nm, Er:YAG 2940nm, Ho:YAG 2120nm) ou diodos.

Actualmente, o laser fototérmico mais comumente usado em Oftalmologia é o laser Nd:YAG-KTP (vulgarmente chamado de laser KTP) que tem por base um laser Nd:YAG 1064nm, um “rod” de cristal incolor Y<sub>2</sub>Al<sub>3</sub>O<sub>12</sub> (yttrium aluminum-garnet = YAG) onde 1% dos átomos de ítrio são substituídos por iões de neodímio com carga eléctrica +3. Os iões de neodímio são a fonte de luz laser (espécie lasserante). O cristal sólido de YAG é o “host”, sendo o suporte para as impurezas iónicas de neodímio<sup>2</sup>.

O laser Nd:YAG produz um feixe laser infra-vermelho próximo, de 1064nm. Para se conseguir um feixe na faixa do visível, verde-amarelo 532nm, é interposto um cristal não linear de KTP (Potassium Titanil Fosfato). Este cristal não linear diminui para metade o comprimento de onda passando o feixe laser de 1064nm, na faixa do infra vermelho próximo, para 532nm na faixa do verde amarelo.

A maioria dos laser fototérmicos usados actualmente em oftalmologia usam como meio de bombagem laser um diodo laser infra-vermelho ou um conjunto de diodos (array) e são chamados de DPSS – diodo-pumped solid-state laser.

O laser é normalmente definido pela constituição do meio laser, o seu modo de saída (contínuo, pulsado, micropulsado ou superpulsado) e o seu comprimento de onda (cdo). O seu comprimento de onda (cor do laser) está dependente do meio laser. De acordo com o modo de saída: contínuo, pulsado ou superpulsado, assim varia a sua acção nos tecidos. Contudo, interacção do laser nos tecidos está dependente, em primeiro lugar, do comprimento de onda que influencia a sua absorção pelos tecidos e que, por sua vez, está relacionado com a profundidade de penetração nos tecidos do feixe laser.

### Profundidade de penetração nos tecidos e a absorção da energia laser

Esta capacidade de penetrar em profundidade nos tecidos está dependente da absorção da energia laser por pigmentos biológicos endógenos (por ex. hemoglobina, melanina, água) que fazem de ecran ao feixe laser. Assim, tecidos ricos nestes pigmentos, absorvem a energia laser se usarmos o comprimento de onda adequado, e o tecido aquece. Assim para o laser verde ou amarelo, por exemplo, os tecidos com hemoglobina ou melanina (vasos e EPR ou

coróide) absorvem muito bem estes cdo. Já a córnea, o cristalino, o vítreo e a retina são “transparentes” a estes cdo tal como ao espectro da luz visível. Mas se usarmos laser de Er: Yag com cdo de 2940nm, a córnea ou outro tecido rico em água, absorve toda a energia à sua superfície<sup>3</sup>.

Também podemos variar os efeitos laser variando a densidade de potência e os tempos de exposição do feixe laser. Tempos longos da ordem dos segundos a minutos e baixa potência são típicos do laser de efeito fotoquímico, laser de potência intermédia e tempos da ordem dos segundos a milissegundos são responsáveis pelo efeito fototérmico, laser com potências elevadas e tempo de exposição da ordem dos milissegundos a micro segundos causam efeito fotoablativo, laser de potência muitíssimo elevadas da ordem de MW e TW têm efeito fotodisruptor ou ablação induzida por plasma, com tempos de acção da ordem nano, pico ou femtosegundos. Ver a figura 2.

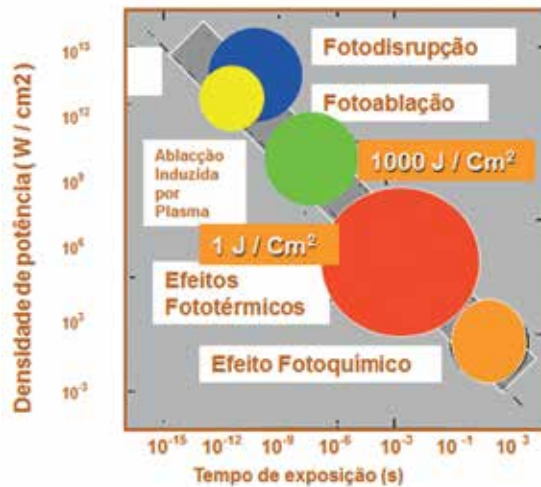


Fig. 2 | Relação entre a densidade de potência e o tempo de exposição ao efeito laser.

### Modos de saída do laser fototérmico

O feixe laser poderá, no caso do laser fototérmico, ter dois modos de saída:

- CW ou onda contínua. O feixe laser exerce o seu efeito continuamente desde que premido o mecanismo de activação do laser e o feixe é interrompido a intervalos de tempo definidos (com efeito “on” durante 10, 20, 50, 100, 200, 500ms ou 1 segundo) ou pode manter-se sempre em “on” enquanto estiver a ser premido o mecanismo de activação.
- pulsado ou micropulsado: no pulsado um sistema electrónico faz com que, de cada vez que é feita a activação do laser no pedal, o sistema faz um período

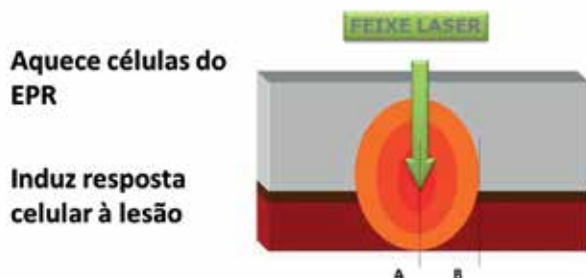
“on”, de duração previamente definida pelo operador. Se seleccionado o modo repetitivo, enquanto o pedal estiver a activar o laser, este faz períodos “on” e períodos “off”, ambos modelados e previamente seleccionados pelo operador. No laser  $\mu$ P (micropulsado) quando se activa o laser, este dispensa um “envelope” laser de, por exemplo, 200ms composto por períodos de 100microsegundos em que o laser está “on” e 1900microsegundos em que o laser está “off” correspondendo a 5% Duty Cycle, ou seja, em 200ms (=200 000 $\mu$ s) haverá 100 micropulsos de 100 microsegundos, intervalado por outras tantas pausas da acção do laser de 1900 $\mu$ s, duração muito maior para arrefecimento dos tecidos. (200000 $\mu$ s = (100x100 $\mu$ s)+(100x1900 $\mu$ s)) Este é o chamado laser micropulsado ou laser sublimar porque atua abaixo do limiar da lesão das estruturas nobres retinianas<sup>4</sup>.

### Interação laser tecidos

No laser de onda contínua (CW) os fotões são absorvidos pelos “pigmentos endógenos”. Estes podem ser a melanina, a hemoglobina ou a água, como vimos. Para cada comprimento de onda (cdo) varia a absorção da radiação, varia a capacidade de captar os fotões pelos pigmentos endógenos. A melanina ou o sangue são “pigmentos endógenos” que absorvem muito bem a gama do verde ou amarelo, têm o seu pico de absorção neste cdo. Desta forma, quando usamos laser com cdo 532nm (verde) ou 577nm (amarelo) ou com o diodo 810nm, a melanina do EPR e/ou coróideia absorve os fotões e a sua energia é transmitida às moléculas de melanina que aumentam a sua vibração. Ver figura 3.

Esta agitação molecular corresponde ao aumento da temperatura. No local de impacto do feixe laser cria-se um foco de tecido aquecido, **foco de aquecimento primário** que se dissipa por difusão térmica adjacente e está dependente da condutividade térmica dos tecidos (maioritariamente água). Este aumento da temperatura, ou seja, o efeito fototérmico, está também dependente do tempo de duração da acção laser. Se o laser continuar a actuar (laser CW), o aquecimento mantém-se, aumenta a temperatura no foco de aquecimento primário (**volume aquecido primário**) mas vai-se dissipando a temperatura, aumentando o volume de tecido aquecido (**volume aquecido final**). Na retina este aquecimento vai atingir a coróideia e a retina interna, tanto mais quanto maior for a temperatura atingida no foco de aquecimento primário e maior a duração do impulso laser. Se o impulso foi muito curto não haverá tempo para a difusão térmica adjacente e o volume aquecido final, ou seja a lesão no tecido, fica quase só limitada ao local de impacto laser<sup>5</sup>. Ver figura 3.

## Como actua o laser térmico?



**Fig. 3 |** O feixe laser é absorvido maioritariamente pelo EPR rico em melanina. Durante o tempo de acção do impulso laser, difunde o calor pelos tecidos adjacentes, atingindo um volume aquecido final maior do que o volume primário aquecido no início do impacto laser.

O EPR é aquecido no local de impacto. Se continuar a actuar o feixe laser por maior duração de impulso, o calor vai-se dissipando e um maior volume de tecido é aquecido. Assim a coagulação dos tecidos atinge mais e mais as camadas internas da retina e também a coroideia, embora esta seja arrefecida pela circulação coroideia de alto fluxo. Posteriormente haverá uma resposta de reparação à lesão celular mas as células nobres da retina, fotoreceptores e camadas mais internas da retina ficam lesadas definitivamente. Esta lesão à periferia não causa dano funcional significativo mas na área macular será perdida a função das áreas de cicatriz laser.

Podemos chegar ao ponto em que a duração do impulso seja inferior ao tempo que o tecido demora a difundir o calor (tempo de relaxamento térmico) e então há confinamento térmico, ou seja, o calor permanece somente no local de impacto laser, não sofre difusão adjacente. Precisando melhor, quando usamos CW a duração do impulso é crucial para o efeito nos tecidos adjacentes. Dito de outra forma, impulsos curtos limitam o efeito laser somente ao local de impacto e de absorção da energia dos fotões. Convém não esquecer que, para além do tempo de exposição ao laser (duração do impulso), temos que contar com outro parâmetro do feixe laser, a sua densidade de potência, que significa, a potência do feixe por unidade de área medida em  $W/cm^2$ . Quanto maior a densidade de potência maior o efeito térmico. Se o tempo de duração do impulso for suficientemente curto, uma elevada densidade de potência poderá aquecer de tal forma o tecido que, sem tempo para a difusão térmica, a água que o compõe, entra em ebulição e há um efeito de vaporização. Maior densidade de potência chega a carbonizar os tecidos<sup>5</sup>.

## Densidade de potência do feixe laser medida da sua energia

Como vimos a densidade de potência está relacionada com a área do feixe. Assim, se diminuir ou aumentar o diâmetro do spot, aumentaremos ou diminuiremos exponencialmente a densidade de potência, de acordo com a área do círculo. Assim, spots pequenos são susceptíveis de provocarem mais facilmente rotura de M. Bruch (esta ao romper faz um som de rebentar de pipoca e causa hemorragia) do que com diâmetros grandes. Isto acontece frequentemente com a utilização dos laser tipo Pascal que usam densidades de potência elevadas e tempos de exposição curtos<sup>5</sup>.

## EFEITOS DO LASER NA RETINA HUMANA

Desde as primeiras observações empíricas de que os doentes com coriorretinopatia miópica e diabetes não apresentavam uma evolução tão rápida para RDP, se pensou em usar a luz para provocar uma cicatriz coriorretiniana. Começou-se então por usar, primeiro a luz solar concentrada, e depois a fotocoagulação por arco de Xenon (Gerd Meyer-Schwicherath 1956, oftalmologista alemão) que provocava lesões extensas devido ao grande diâmetro de spot, semelhante às lesões da crio. Com o advento do laser de Rubi (Maiman 1960) passou-se a usar, de forma mais controlada, a técnica da fotocoagulação. Mais tarde o laser Argon Azul-Verde 488nm-514,5nm, equipamento de grandes dimensões continuamente refrigerado a água e com uma eficiência energética de 3%, passou a ser o laser padrão em patologia retiniana até há cerca de uma década atrás. Posteriormente surgiu o diodo 810nm de elevada eficiência energética, leve e compacto e finalmente os lasers atuais de estado sólido Nd:YAG-KTP 532nm, amarelo 577m, micropulsado ou de onda contínua (CW) muito compactos, portáteis e de baixo consumo.

Diversas formas de interação do laser com os tecidos resultam em diferentes aplicações terapêuticas em oftalmologia. Para o tratamento da retinopatia diabética (RD) e outras patologias vasculares da retina ou para realizar retinopexia laser, usamos o efeito fototérmico. Qualquer que seja o comprimento de onda utilizado, a interação com o tecido retiniano e corioideu resulta da absorção da energia ao nível do epitélio pigmentado da retina (EPR), rico em melanina, e ao nível do pigmento melânico da coriocapilar (CC). Os tecidos aquecem e sofrem hipertermia ou desnaturação térmica (fotocoagulação), seguindo-se um processo de reparação das células e tecidos lesados termicamente<sup>5,6</sup>.

### Acção terapêutica do laser térmico

Vários estudos realizados permitem-nos considerar os seguintes mecanismos de acção do laser:

- I. Diminuição do consumo de O<sub>2</sub> pelos fotorreceptores (FR) destruídos pelo laser. Tem-se considerado desde há muito como o único mecanismo de acção.
- II. Aumento da oxigenação da retina – “pontes de O<sub>2</sub>” retinocoroideias<sup>7</sup>
- III. Aumento da produção de mediadores químicos pelas células do EPR (PEDF e outros mediadores com expressão genética aumentada ou diminuída de determinados genes envolvidos no processo de reparação dos organelos celulares)<sup>8,9,10,11,12,13</sup>
- IV. Activação da renovação celular e remodelação dos tecidos retinianos<sup>14,15,16</sup>
- V. Diminuição das Metallo Proteinases da Matriz (MMPs)<sup>17</sup>
- VI. Aumento das proteínas de shock térmico (HSPs)<sup>18,19</sup>
- VII. Migração de células HSC da medula óssea com efeito reparador<sup>20,21,22,23</sup>

#### I. Diminuição do consumo de O<sub>2</sub> pelos dos fotorreceptores

Na realidade, a lesão dos foto-receptores e a consequente diminuição do consumo de O<sub>2</sub> tem sido a principal explicação para o efeito terapêutico do laser térmico e foi a primeira teoria para justificar o efeito benéfico da acção do laser na RDP.

#### II. Aumento da oxigenação da retina – “pontes de O<sub>2</sub>” coróide-retinianas

Com efeito, E. Stefánsson (2006)<sup>7</sup> defende que são criadas “pontes de O<sub>2</sub>” nos locais da cicatriz laser que facilitam a difusão do O<sub>2</sub> da coróideia para a retina interna. Na realidade, após a realização de pan retino fotocoagulação (PRP), verifica-se uma melhoria da oxigenação da retina interna, objectivada pela oximetria dos vasos retinianos. A explicação para essa melhoria da oxigenação passa pela diminuição do consumo de oxigénio pelos foto-receptores periféricos que foram destruídos mas também e, particularmente, pela difusão a partir da coróideia, exactamente através das “pontes de oxigénio” que constituem as cicatrizes do laser. Esta acção explica a diminuição do VEGF conseguida com a fotocoagulação laser mediada, entre outros mecanismos de acção, pela melhoria de oxigenação da retina.

#### III. Produção de mediadores químicos pelo laser

Em geral, tem sido considerado como tendo efeito terapêutico a área de fotocoagulação do “spot” laser ou

seja, a lesão laser visível. Contudo, algumas observações realizadas e estudos levados a cabo demonstraram ser um pouco mais complexa a explicação para a acção do laser.

Em primeiro lugar, e como vimos anteriormente, num spot laser há uma área central onde é maior a hipertermia. Esta área fica esbranquiçada por ter sofrido fotocoagulação das proteínas das células das camadas externas da retina. Mas há outra área envolvente ao local do impacto do “spot” laser que sofreu hipertermia. Sofreu um aumento de temperatura que não causou fotocoagulação visível mas lesou membranas celulares, organelos intracelulares e DNA.

Estas microestruturas vão então sofrer um processo de reparação do DNA e das proteínas desnaturadas ou deformadas pela acção térmica, com libertação de mediadores químicos locais, intracelulares e no meio intercelular. Estes mediadores estão implicados no “signalling” intra e intercelular que desencadeiam reacções inflamatórias, de reparação celular e/ou tecidual, com particular destaque para as células do EPR e as células endoteliais, responsáveis pela saúde dos capilares e sua permeabilidade luminal e contenção transparietal<sup>10</sup>.

O PEDF – inibição activa da neovascularização (e do edema?)

O PEDF é considerado como o mais provável responsável pela acção inibidora da neovascularização e o factor que contrabalança a acção activadora das células endoteliais, no sentido da proliferação, migração e aumento de permeabilidade, induzidos pelo VEGF<sup>25</sup>. Nos doentes com RD e tanto mais quanto maior a gravidade da RD, o PEDF encontra-se diminuído enquanto o VEGF se encontra aumentado<sup>24</sup>. Podemos dizer que se trata de um equilíbrio entre PEDF e VEGF que permite a homeostasia da vascularização da retina e que, em caso de doença vascular retiniana que leve a isquémia, o VEGF aumenta e surge quer neovascularização quer edema, sendo a sua acção contrariada pelo PEDF. Por seu turno, após o tratamento com laser térmico, inicia-se uma expressão aumentada de PEDF<sup>8</sup>, principalmente pelas células do EPR que sofreram hipertermia e é reposto o equilíbrio homeostático.

Inicia-se assim um processo activo de apoptose das células endoteliais induzido pelo PEDF com inibição da neovascularização (ou efeito positivo na diminuição do EMD)<sup>25,26,27,28</sup>.

O PEDF está diminuído quando está aumentado o VEGF na RDP e no EMD e encontra-se aumentado a seguir à fotocoagulação<sup>29</sup>. Nas membranas fibrovasculares da RDP encontra-se diminuído enquanto o VEGF se encontra aumentado<sup>35</sup>.

Os trabalhos de Aiello em 1994 revelaram que há uma diminuição em 75% da concentração do VEGF no vítreo após a fotocoagulação<sup>30</sup>.

#### Estudos do Perfil da Expressão Genética

Os estudos de análise “microarray” para avaliar a expressão genética desencadeada pela acção térmica subletal do laser na célula do EPR têm sugerido que esta expressão genética reflecte a proliferação das células do EPR, foto-receptores lesados e células da coroideia afectadas pela acção térmica não letal do laser<sup>10</sup>.

De acordo com os trabalhos de Wilson, existem genes que aumentam ou diminuem a sua expressão. Sabemos que há uma alteração da microestrutura retiniana no local da lesão térmica com proliferação e hiperplasia das várias células lesadas, nomeadamente EPR, diminuição da expressão genética de vários factores, entre eles o Agtr2 – Angiotensina II type 2 receptor, aumento da expressão genética do CRLR, IL-1 $\beta$ , FGF-14 e FGF-16, PAI-2 e aumento muito relevante do PEDF, como vimos.

Estes factores funcionam no curto prazo.

No longo prazo, de acordo com o trabalho Binz<sup>14</sup>, existem alterações de proteínas estruturais que se mantêm no tempo e que serão, muito provavelmente, responsáveis pela acção mantida do laser e pelo seu efeito de estabilizações da RD no longo prazo, ao contrário dos fármacos que actuam enquanto o fármaco estiver presente.

#### IV. Acção de regeneração/renovação celular

Assistimos pois a uma acção de regeneração, renovação dos organelos intracelulares e de células lesadas mas não mortas, com produção de HSPs e factores implicados na homeostasia da angiogénese e da permeabilidade vascular, com destaque para o PEDF<sup>9</sup>.

Mas por sua vez, as áreas de fotocoagulação com necrose celular, vão sofrer renovação celular e remodelação do tecido, reorganização da microarquitatura, alguma fibrose e retracção e marcada migração pigmentar do EPR. Estes processos de reparação celular e remodelação são mediados por genes que se expressam após a acção do laser<sup>10</sup>.

Os trabalhos de Nicolette Binz (2006)<sup>14</sup> mostraram existir em localizações específicas na microestrutura retiniana, após um período de 90 dias da acção laser, 5 cristalininas (CRY $\alpha$ A2 e CRY $\beta$ B2), Keratin 1-12, Tsp1 – Trombospondina - factor anti-angiogénico, Tkt - transketolase - uma enzima chave na via da pentose fosfato, TULP1 – o putativo factor de transcrição da tubby-like protein 1 específico da retina e cérebro<sup>14</sup>. Pensa-se que poderão ser estas alterações estruturais as responsáveis pelo efeito de manutenção a longo prazo da acção laser.

#### V. As metaloproteinases da matriz (MMPs)

Trabalhos recentes referem também uma acção do laser ao nível do equilíbrio das MMP/TIMP (metaloproteinases da matriz extracelular e inibidor tecidual das metaloproteinases) da membrana basal. O EPR produz MMPs após terapêutica laser<sup>17</sup>. Após laser térmico em padrão PRP detectaram-se MMP-2, MMP-3 e TIMP-1. Neste estudo, a secreção de MMP-2 e MMP-3 aumentou o dobro em relação ao valor dos controlos. O TIMP diminuiu até dia 4 e depois aumentou pelo dia 6. A captação da Tritiated thymidine aumentou 2,5 vezes até dia 6 voltando ao valor baseline pelo 8º dia. Sugere-se que a eficácia da PRP se deva também ao balanço entre as MMPs e as TIMPs e não só à acção sobre o VEGF e outros factores relacionados com a isquemia<sup>17</sup>.

#### VI. Proteínas de choque térmico

Outra acção interessante do laser é o aumento das proteínas de choque térmico (HSPs), nomeadamente a HSP27, HSP70 e HSP47<sup>18</sup>. que deverão ter algum efeito na acção laser, provavelmente relacionado com a termotolerância da retina após a acção do laser e serem protectores da retina numa segundo tratamento laser. É de todos conhecido o efeito do laser menos visível com os mesmos parâmetros num retratamento. É um campo para investigação.

#### VII. A activação das células STEM

Outro local de acção laser tem a ver com a estimulação de células “stem” a partir da leão retinocoroideia que fazem migrar da medula óssea células “stem” para repararem os tecidos retinianos lesados, nomeadamente as células endoteliais. De acordo com Chag-Ling, estes estudos sugerem que as HSCs (hematopoietic stem cells) possam servir como fonte para a regeneração no longo prazo das células lesadas da retina e coroideia<sup>20,21,22,23</sup>.

**Em resumo** a acção terapêutica do laser térmico pode ser sumarizada da seguinte forma: (I) Diminuição consumo de O<sub>2</sub> pelos foto-receptores; (II) Aumento da oxigenação da retina – “pontes de O<sub>2</sub>” coroido-retinianas; (III) Aumento da produção de mediadores químicos (PEDF); (IV) Activação da renovação celular e remodelação dos tecidos retinianos, (V) Diminui MMP (VI) Aumenta proteínas shock térmico; (VII) Migração células HSC da medula óssea com efeito reparador.

#### NOVAS TÉCNICAS LASER NO TRATAMENTO DO EMD

Podemos descrever 12 técnicas diferentes para abordar o edema macular diabético (EMD) com laser térmico,

preferencialmente usando comprimento de onda amarelo 577nm e verde 532nm, podendo no entanto ser usado krypton 657nm ou diodo 810nm. Quando falamos em laser temos que ter presente que podemos estar a referirmo-nos apenas a uma ou duas técnicas das atrás descritas mas, o rigor científico, obriga-nos a conhecer as várias possibilidades técnicas e a descrever com precisão aquilo a que nos estamos a referir<sup>32</sup> (Ver tabela 1).

**Tabela 1 | 12 técnicas diferentes para abordar o edema macular diabético (EMD) com laser térmico**

1.	Laser focal <sup>32</sup>
2.	Padrão de Grelha focal no interior de circinados, IRMAS ou pequenas áreas de edema focal <sup>33</sup>
3.	Grelha clássica ETDRS 100-200ms <sup>34</sup>
4.	Grelha ETDRS modificada (mETDRS) – com parâmetros um pouco mais suaves e spots de menor dimensão até 200micra do centro da fóvea <sup>35,36,37</sup>
5.	Grelha ETDRS “mild” (MMG) – levemente visível, spot 50micra mas de menor densidade. <sup>38,39</sup>
6.	Microgrelha 10ms (µETDRS) tipo PASCAL <sup>40</sup>
7.	µETDRS + focal nos microaneurismas
8.	Laser micropulsado (µPLT – micro pulse laser treatment) com HD <sup>41,42</sup>
9.	µPLT em Sandwich (J. Augusto Cardillo) – utilizando a grelha mETDRS até às 500µ e o µPLT deHD dentro de 500µ. <sup>43</sup>
10.	µPLT em Sandwich associado a laser focal
11.	Laser 4+ (µETDRS + focal + µPLT HD fóvea + PRP à periferia da retina)
12.	Terapêutica combinada com anti-VEGF e corticóides de acção prolongada e laser minimamente lesivo

### O QUE SE PRETENDE COM A ACÇÃO TERAPÊUTICA DO LASER TÉRMICO NA ÁREA MACULAR E NA RETINA PERIFÉRICA

A técnica laser a usar deverá ser adequada ao local da retina a tratar. Assim, a fotocoagulação capaz de induzir pontes de O<sub>2</sub> e melhorar a Pa O<sub>2</sub> da retina<sup>7</sup> está indicada à periferia e média periferia no caso do tratamento da retinopatia diabética proliferativa (RDP). Já o laser suave, poupador dos tecidos e capaz de induzir factores homeostáticos no microambiente retiniano, está indicado na área macular, particularmente na área foveal e perifoveal para tratar o EMD. Nesta última situação poderá ser necessário usar laser com parâmetros um pouco mais agressivos<sup>44</sup>

embora de forma “cirúrgica”, para ocluir os microaneurismas causadores de edema e, desta forma, inverter o processo de exsudação lipoproteica e difusão e/ou permitir a fragmentação das placas lipídicas e sua mobilização pelos macrófagos.

#### a. Principal Acção do Laser Térmico na Área Macular (Laser Estimulador Celular) - Lesão Subletal das Células do EPR

Porque estamos a tratar a área macular, a fototerapia laser no EMD não pretende lesar irreversivelmente os FR<sup>45</sup>. Temos como objectivo, causar hipertermia nas células do EPR<sup>46</sup> e, desta forma, estimulá-las a produzir mediadores químicos que provoquem a resolução do EMD, nomeadamente o PEDF. Pretende-se obter, com o impacto do laser térmico, um efeito local de ligeira alteração do EPR<sup>47</sup>, por vezes difícil de observar na retinografia. Este efeito só é objectivado na autofluorescência, retinografia por infra-vermelhos ou angiografia, ou mesmo invisível com estes exames se for usado o laser micropulsado (µP)<sup>48,49,50,51,52,53</sup>. A interacção térmica lesa as células do EPR ricas em melanina e por vezes os segmentos externos dos FR se a lesão se tornar visível. Evitamos lesar os segmentos internos FR e células da camada nuclear externa. Este objectivo é atingido com os 2 tipos de laser referidos:

- a) Com µGrelha, usando baixas densidades de potência e um curto tempo de exposição (10milisegundos), de forma a evitar a difusão térmica adjacente a partir do volume primário aquecido<sup>1</sup>.
- b) Com laser µP, com impulsos da ordem dos 100 microsegundos e tempos de arrefecimento longos<sup>1</sup>.

Com a MMG a lesão térmica uma vez que é tenuemente visível, já atinge as camadas externas da retina (foto-receptores) que irão sofrer um processo de reparação que não é total<sup>54</sup>.

Naturalmente, se forem usados outros parâmetros laser que provoquem um maior aumento da temperatura, poderemos provocar cicatrizes retinocoroideias com lesão dos FR e retina interna. Neste caso teremos escotomas centrais ou paracentrais com degradação progressiva da função visual, tanto mais que essas lesões tendem a aumentar com o tempo e a aproximarem-se da fóvea<sup>55</sup>.

#### b. Maior Densidade de Potência (padrão PRP) fora da Área Macular –“Pontes O<sub>2</sub>, Morte e Renovação Celular.

Efectivamente, o laser fototérmico, se actuar com maior densidade de potência, provoca lesão do EPR com morte celular que se pode estender à coroideia e à retina

interna. Se a duração do impulso for maior, irá existir difusão térmica adjacente ao volume primário aquecido pela acção directa do laser, e será ainda maior a área da lesão provocada pelo laser e também maior o volume do tecido lesado<sup>5</sup>.

Neste caso, o tecido retiniano lesado e morto vai sofrer renovação e remodelação tecidual. Não será só renovação dos organelos celulares, como acontece na hipertermia. O tecido retiniano sofrerá uma alteração na sua composição celular, controlada pela expressão genética dos mediadores de inflamação, da vascularização e inibição de neovascularização, da reparação e crescimento celular, com especial destaque para a proliferação das células gliais e do EPR. Estas sofrem algum processo de metaplasia com migração pigmentar. Os FR verão o seu número diminuído no local da cicatriz com conseqüente diminuição do consumo de O<sub>2</sub>.

## CONCLUSÃO

Após a teoria unitária do Oxigénio na retina de Stefánsson<sup>7</sup> diríamos que existem, efectivamente, dois principais mecanismos de acção pela qual o laser actua da RD<sup>57</sup>:

1. **A melhoria da oxigenação da retina** quer por provável diminuição do consumo de O<sub>2</sub> pelos FR lesados na fotocoagulação quer por abertura de “pontes de oxigénio” entre a coroideia e a retina interna. Convém lembrar que a lesão dos FR só é significativa no caso de PRP, não nos afigurando importante para a diminuição do consumo de O<sub>2</sub> no caso da grelha macular, dado que, na mácula, não é objectivo do tratamento lesar os FR, mas somente o EPR. Muito menos se farão “pontes de O<sub>2</sub>”. Quando muito lesamos os segmentos externos dos FR.

2. **Modificação da expressão genética e produção de mediadores da homeostase da vascularização e de permeabilidade vascular**, nomeadamente, aumento PEDF e diminuição do VEGF, directamente ou induzido pelo PEDF, metaplasia ou hiperplasia das células da retina (glia, CE, EPR), com remodelação dos tecidos retinianos envolvidos no processo de cicatrização da lesão térmica. Associamos o aumento da MMPs, e das HSPs, a estimulação da migração das stem cells para a retina e a renovação celular e reestruturação da microarquitECTURA com determinado número de proteínas estruturais. Estas serão, muito provavelmente, também responsáveis pelo efeito de longo prazo do efeito terapéutico do laser.

## BIBLIOGRAFIA

1. Niemz MH – Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications Spring-Verlag Berlin Heidelberg New York 1996.
2. Dias, JM Os vários lasers médicos in Manual do Curso Pós Graduado do Laser Médico – SPILM-Sociedade Portuguesa Interdisciplinar do Laser Médico 1998.
3. Brito LX, Henriques J, Neves CM, Vaz FT Interação laser tecidos, efeito fototérmico in Manual do Curso Pós Graduado do Laser Médico – SPILM-Sociedade Portuguesa Interdisciplinar do Laser Médico 1998.
4. Dorin G. Subthreshold and micropulse diode laser photocoagulation. *Semin Ophthalmol.* 2003;18(3):147-153.
5. Henriques J, Nascimento J. Interação laser tecidos na retina humana in Manual do Curso Laser em Oftalmologia – Curso Pós Graduado do Laser Médico – SPILM – Sociedade Portuguesa Interdisciplinar do Laser Médico 2006.
6. Niemz MH – Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications Spring-Verlag Berlin Heidelberg New York 1996.
7. Stefánsson E. Ocular oxygenation and the treatment of diabetic retinopathy. *Review. Surv Ophthalmol.* 2006 Jul-Aug;51(4):364-80.
8. Zhang NL, Samadani EE, Frank RN. Mitogenesis and retinal pigment epithelial cell antigen expression in the rat after krypton laser photocoagulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993 Jul;34(8):2412-24.
9. Ogata N, Tombran-Tink J, Jo N, Mrazek D, Matsumura M. Upregulation of pigment epithelium-derived factor after laser photocoagulation. *Am J Ophthalmol.* 2001 Sep;132(3):427-9.
10. Wilson AS, Hobbs BG, Shen WY, Speed TP, Schmidt U, Begley CG, Rakoczy PE. Argon laser photocoagulation-induced modification of gene expression in the retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003 Apr;44(4):1426-34.
11. Ogata N, Wada M, Otsuji T, Jo N, Tombran-Tink J, Matsumura M. Expression of pigment epithelium-derived factor in normal adult rat eye and experimental choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:1168-1175.
12. Glaser BM, Campochiaro PA, Davis JL, et al. Retinal pigment epithelial cells release inhibitors of neovascularization. *Ophthalmology.* 1987;94:780-784.
13. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, Pasquale LR, Thieme H, Iwamoto MA, Park JE, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy

- and other retinal disorders. *N Engl J Med*. 1994 Dec 1;331(22):1480-7.
14. Binz N, Graham CE, Simpson K, Lai YK, Shen WY, Lai CM, Speed TP, Rakoczy PE. Long-term effect of therapeutic laser photocoagulation on gene expression in the eye. *FASEB J*. 2006 Feb;20(2):383-5. Epub 2005 Dec 14.
  15. Barak A, Goldkorn T, Morse LS. Laser induces apoptosis and ceramide production in human retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:2587-2591.
  16. Wallow I Clinicopathologic Correlation of Retinal Photocoagulation in the Human Eye, in Wiengeist TA, Sneed SR *Laser Surgery in Ophthalmology Practical Applications* Appleton and Lange Connecticut 1992
  17. Flaxel C, Bradle J, Acott T, Samples JR. Retinal pigment epithelium produces matrix 2. metalloproteinases after laser treatment. *Retina*. 2007;27:629-634.
  18. Desmettre T, Maurage CA, Mordon S. Heat shock protein hyperexpression on chorioretinal layers after transpupillary thermotherapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42:2976-2980.
  19. Mainster MA, Reichel E. Transpupillary thermotherapy for age-related macular degeneration: long- pulse photocoagulation, apoptosis, and heat shock proteins. *Ophthalmic Surg Lasers*. 2000;31:359-373.
  20. Chan-Ling T, Baxter L, Afzal A et al. Hematopoietic stem cells provide repair functions after laser-induced Bruch's membrane rupture model of choroidal neovascularization. *Am J Pathol*. 2006;168:1031-1044.
  21. Harris JR, Brown GA, Jorgensen M et al. Bone marrow-derived cells home to and regenerate retinal pigment epithelium after injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:2108-2113.
  22. Wang HC, Brown J, Alayon H, Stuck BE. Transplantation of quantum dot-labelled bone marrow-derived stem cells into the vitreous of mice with laser-induced retinal injury: survival, integration and differentiation. *Vision Res*. 2010;50:665-673.
  23. Butler JM, Guthrie SM, Koc M, Afzal A, Caballero S, Brooks HL, Mames RN, Segal MS, Grant MB, Scott EW. SDF-1 is both necessary and sufficient to promote proliferative retinopathy. *J Clin Invest*. 2005 Jan;115(1):86-93.
  24. Funatsu H, Yamashita H, Nakamura S, Mimura T, Eguchi S, Noma H, Hori S. Vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2006 Feb;113(2):294-301.
  25. Ogata N, Nishikawa M, Nishimura T, Mitsuma Y, Matsumura M. Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2002 Sep;134(3):348-53.
  26. Ogata N, Wang L, Jo N, Tombran-Tink J, Takahashi K, Mrazek D, Matsumura M Pigment epithelium derived factor as a neuroprotective agent against ischemic retinal injury. *Curr Eye Res*. 2001 Apr;22(4):245-52.
  27. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, Takeuchi M, Imaizumi T. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) prevents diabetes- or advanced glycation end products (AGE)-elicited retinal leukostasis. *Microvasc Res*. 2006 Jul-Sep;72(1-2):86-90.
  28. Tombran-Tink J, Barnstable CJ. Therapeutic prospects for PEDF: more than a promising angiogenesis inhibitor. *Trends Mol Med*. 2003 Jun;9(6):244-50.
  29. Xiao M, Khaliq A, Moriarty P, McLeod D, Cranley J, Boulton M. The effect of scatter laser photocoagulation on intravitreal levels of growth factors in the miniature pig. *Curr Eye Res*. 1996 Sep;15(9):923-31.
  30. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, Pasquale LR, Thieme H, Iwamoto MA, Park JE, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med*. 1994 Dec 1;331(22):1480-7.
  31. Henriques J, Qual o papel dos lasers na terapêutica da Retinopatia Diabética e como actuam? In 25 Perguntas e respostas: Retinopatia Diabética -novo paradigma de cuidados. Lisboa, Henriques J, Nascimento J, Silva F, coordenadores. Grupo de Estudos da Retina, Portugal. 2012, p103-10. Accessed November 14, 2012: WWW.GER-PORTUGAL.COM
  32. Hamilton, AMP, Ulbig, MW, Polkinghorne P – Management of Diabetic Retinopathy *BMJ London* 1996.
  33. Bresnick GH, Davis MD Clinical applications of Diabetic Retinopathy Studies in Wiengeist TA, Sneed SR *Laser Surgery in Ophthalmology Practical Applications* Appleton and Lange Connecticut 1992
  34. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology*. 1991 May;98(5 Suppl):766-85.
  35. Akduman L, Olk RJ. Subthreshold (invisible) modified grid diode laser photocoagulation in diffuse diabetic macular edema (DDME) *Ophthalmic Surg Lasers*. 1999 Nov-Dec;30(9):706-14.
  36. Lee CM, Olk RJ, Akduman L. Combined modified grid and panretinal photocoagulation for diffuse diabetic macular edema and proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmic Surg Lasers*. 2000 Jul- Aug;31(4):292-300.

37. Lee CM, Olk RJ. Modified grid laser photocoagulation for diffuse diabetic macular edema. Long-term visual results. *Ophthalmology*. 1991 Oct;98(10):1594-602.
38. Lavinsky D, Cardillo JA, Melo LA Jr, Dare A, Farah ME, Belfort R Jr. Randomized clinical trial evaluating mETDRS versus normal or high-density micropulse photocoagulation for diabetic macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Jun 17;52(7):4314-23. Print 2011 Jun.
39. Olk RJ, Akduman L. Minimal intensity diode laser (810 nanometer) photocoagulation (MIP) for diffuse diabetic macular edema (DDME). *Semin Ophthalmol*. 2001 Mar;16(1):25-30.
40. Blumenkranz MS, Yellachich D, Andersen DE, et al. Semiautomated patterned scanning laser for retinal photocoagulation. *Retina*. 2006;26(3):370-376.
41. Lanzetta P, Dorin G, Piracchio A, et al. Theoretical bases of non-ophthalmoscopically visible endpoint photocoagulation. *Semin Ophthalmol*. 2001;16(1):8-11.
42. Lavinsky D, Cardillo JA, Melo LA Jr, Dare A, Farah ME, Belfort R Jr. Randomized clinical trial evaluating mETDRS versus normal or high-density micropulse photocoagulation for diabetic macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Jun 17;52(7):4314-23. Print 2011 Jun.
43. Cardillo JA 577 nm MicroPulse Laser Therapy: Addressing the Immediate Need of Our Patients With DME Retina Today May 2012.
44. Mainster MA, White TJ, Tips JH, Wilson PW. Retinal-temperature increases produced by intense light sources. *J Opt Soc Am*. 1970;60:264-270.
45. Dorin G. Subthreshold and micropulse diode laser photocoagulation. *Semin Ophthalmol*. 2003;18(3):147-153.
46. Mainster MA, White TJ, Allen RG. Spectral dependence of retinal damage produced by intense light sources. *J Opt Soc Am*. 1970;60:848-55.
47. Mainster MA. Decreasing retinal photocoagulation damage: principles and techniques. *Semin Ophthalmol* 1999;14:200-9
48. Vujosevic S, Bottega E, Casciano M, Pilotto E, Convento E, Midena E. Microperimetry and fundus autofluorescence in diabetic macular edema: subthreshold micropulse diode laser versus modified early treatment diabetic retinopathy study laser photocoagulation. *Retina*. 2010;30:908-916.
49. Luttrull JK, Musch DC, Mainster MA. Subthreshold diode micropulse photocoagulation for the treatment of clinically significant diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol*. 2005;89:74-80.
50. Sivaprasad S, Elagouz M, McHugh D, Shona O, Dorin G. micropulsed diode laser therapy: evolution and clinical applications. *Surv Ophthalmol*. 2010;55:516-530.
51. Figueira J, Khan J, Nunes S et al. Prospective randomized controlled trial comparing subthreshold micropulse diode laser photocoagulation and conventional green laser for clinically significant diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol*. 2009;93:1341-1344.
52. Ohkoshi K, Yamaguchi T. Subthreshold micropulse diode laser photocoagulation for diabetic macular edema in Japanese patients. *Am J Ophthalmol*. 2010;149:133-139.
53. Kumar V, Ghosh B, Mehta DK, Goel N. Functional outcome of subthreshold versus threshold diode laser photocoagulation in diabetic macular oedema. *Eye (Lond)*. 2010;24:1459-1465.
54. Deak GG, Bolz M, Prager S, Ritter M, Kriechbaum K, Scholda C, Schmidt-Erfurth U. Photoreceptor layer regeneration is detectable in the human retina imaged by SD OCT after laser treatment using sub-threshold laser power. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Sep 6. [Epub ahead of print]
55. Bandello F, Lanzetta P, Furlan F, et al. Non visible subthreshold micropulse diode laser treatment of idiopathic central serous chorio retinopathy. A pilot study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(5):E-abstract 4858
56. Wolf MD, Folk JC, Rivers MB Proliferative Diabetic Retinopathy in Wiengeist TA, Sneed SR Laser Surgery in Ophthalmology Practical Applications Appleton and Lange Connecticut 1992.
57. Henriques J. Retinopatia Diabética - A Síndrome do Edema Macular Diabético. Knowlwdge. ed Alcon 2006 IV(6) Lisboa
58. Xiao M, Khaliq A, Moriarty P, McLeod D, Cranley J, Boulton M. The effect of scatter laser photocoagulation on intravitreal levels of growth factors in the miniature pig. *Curr Eye Res*. 1996 Sep;15(9):923-31.

Os autores não têm conflitos de interesse a declarar.

## CONTACTO

jose.henriques@irl.pt

## Abreviaturas:

PEDF - Pigment Epithelium Derived Factor  
 PRP - fototerapia laser térmico da retina com padrão de fotocoagulação panretinial dispersa  
 RD - Retinopatia Diabética  
 RDP - Retinopatia Diabética Proliferativa  
 EPR - Eritélio Pigmentado da Retina

Cdo - comprimento de onda

CW - onda contínua

CRLR - Calcitonin Receptor-like Receptor

IL-1b- Interleucina 1 beta

FGF-1 - Fibroblast Growth Factor 1

PAI -2 - Plasminogen Activator inhibitor-2

MMP-2 - Metaloproteinase da membrane -2

TIMP-1 - Tecidual Inibitor Metalo Proteinase-1

FR- foto-receptores