

(11) Nowe możliwości obrazowania siatkówki ludzkiego oka *in vivo* z zastosowaniem optyki adaptywnej

The new possibilities of the in vivo retinal imaging with the use of adaptive optics

Magdalena Ulińska, Anna Zaleska-Żmijewska, Jacek P. Szafflik

Katedra i Klinika Okulistyki II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jacek P. Szafflik

Samodzielny Publiczny Kliniczny Szpital Okulistyczny w Warszawie

Streszczenie:	Wiedza na temat anatomii siatkówki jest oparta na wynikach badań histologicznych. Ograniczeniem przyżyciowej analizy mikrostruktury siatkówki, w tym fotoreceptorów, a także drobnych naczyń krwionośnych, jest niewielka rozdzielczość wykorzystywanych technik obrazowych, które rozwinęły się pod koniec XX i w obecnym wieku. Aktualnie tworzy się wiele nowoczesnych, bardziej czułych, metod badania. W pracy analizujemy nowe urządzenie – rtx1, oparte na technologii optyki adaptywnej, pozwalające na ocenę mikrostruktury siatkówki, fotoreceptorów oraz naczyń kapilarnych, zarówno u osób zdrowych, jak i chorych na różne schorzenia siatkówki lub systemowe choroby naczyniowe.
Słowa kluczowe:	optyka adaptacyjna, obrazowanie fotoreceptorów, obrazowanie naczyń siatkówki.
Summary:	Knowledge of retinal anatomy has been closely related to histology studies. The analysis of retinal microstructures, including photoreceptor cells, and capillaries used to be limited due to the relatively poor resolution of retinal imaging techniques. Imaging modalities capable of detecting and monitoring pathological variations of retinal microstructures were only developed in late 20 th century and 21 st century. There is still a need for sensitive and accurate diagnostic tools, and a growing number of new diagnostic tools have become available in ophthalmology. In the current paper, we discuss a new diagnostic device rtx1, based on adaptive optics technology intended for an improved visualization of retinal microstructures, photoreceptors, and capillaries. We have reviewed adaptive optics technology for retinal imaging, both in healthy individuals and in patients with different retinal and systemic vascular diseases.
Key words:	adaptive optics, photoreceptor imaging, retinal vessels imaging.

Diagnostyka siatkówki stała się możliwa dopiero w połowie XIX wieku, gdy niemiecki fizjolog, pionier biofizyki – Hermann Helmholtz (1821–1894), zaprezentował „lustro oczne”, czyli pierwszy wziernik okulistyczny (oftalmoskop) służący do oglądania wnętrza oka (1). Wynalazek Helmholtza został entuzjastycznie przyjęty przez wielu światowej sławy okulistów i wkrótce stał się przyrządem niezbędnym w diagnostyce i leczeniu. Największe zasługi w dziedzinie opisywania siatkówki miał Albrecht von Graefe (1828–1870), który wprowadził lustro Helmholtza do diagnostyki chorób oczu i w latach 1854–1856 systematycznie przebadał i uszeregował obrazy oftalmoskopowe siatkówki, odkrywając nowe możliwości leczenia wielu chorób oczu (1). W Polsce badanie oftalmoskopowe wprowadził Wiktor Feliks Szokalski (1811–1891).

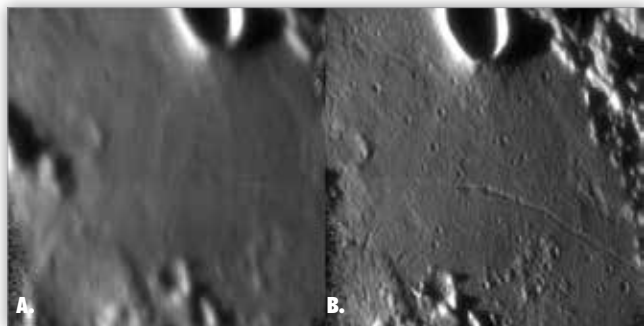
Wziernikowanie dna oka niewątpliwie było zaczątkiem retinologii, mikroskopijne wymiary tkanek jednak nie pozwalały w wielu przypadkach różnicować schorzeń siatkówki. Dopiero postęp technologiczny, który dokonał się w ostatnich dekadach, przyczynił się do rozwoju nieinwazyjnych metod obrazowania siatkówki ludzkiego oka *in vivo* i spowodował, że nasza wiedza

na temat chorób siatkówki znacznie się pogłębiła. Powszechnie stosowane badania, takie jak kolorowe zdjęcia dna oka, obrazu skaningowej laserowej oftalmoskopii (Scanning Laser Ophthalmoscopy – SLO) oraz, uważanej obecnie za złoty standard, optycznej koherentnej tomografii (Optical Coherence Tomography – OCT), umożliwiają dokładną diagnostykę schorzeń tylnego odcinka oka (2, 3).

Najnowsza technika obrazowania siatkówki pozwala obejrzeć jej strukturę nawet na poziomach komórkowym i mikro-naczyniowym. Jest to możliwe za pomocą aparatu rtx1 (Imagine Eyes, Orsay, France) – pierwszego na świecie optycznego mikroskopu służącego do obrazowania siatkówki ludzkiego oka *in vivo*, wykorzystującego technikę optyki adaptywnej. Bardzo wysoka rozdzielczość obrazów uzyskiwanych z tego urządzenia sprawia, że znacznie przewyższa ono inne znane dotąd narzędzia diagnostyczne (4).

Optyka adaptacyjna, której pomysłodawcą w 1953 roku był Horace Babcock (amerykański astronom), po raz pierwszy została zastosowana w teleskopach astronomicznych w celu wyeliminowania zaburzeń powodowanych drganiem atmosfery

ry. Polega na pomiarze zakłóceń czoła fali i kompensowaniu ich w czasie rzeczywistym za pomocą odkształcalnych lusterek. Różnicę jakości obrazu przedstawiono na rycinie 1. W okulistyce jakość obrazów siatkówki uzyskiwanych za pomocą dotychczas dostępnych aparatów jest ograniczona zniekształceniami czoła fali spowodowanymi nieregularnością optyczną struktur ludzkiego oka, m.in. rogówki i soczewki, indukującymi aberracje wyższego rzędu. Nowatorska technika optyki adaptatywnej pozwala udoskonalić jakość zdjęć, eliminując ww. zaburzenia czoła fali już w trakcie wykonywania badania (5–8).

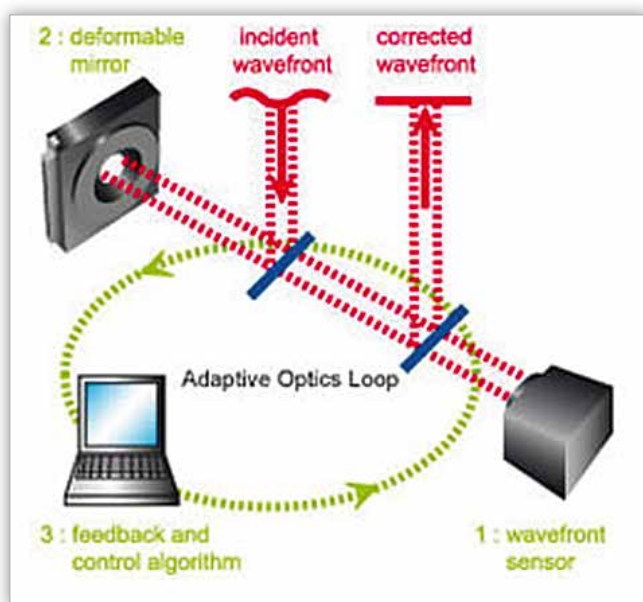


Ryc. 1. Zdjęcia dna oka o wysokiej rozdzielczości: A – bez użycia techniki optyki adaptatywnej, B – z użyciem techniki optyki adaptatywnej.

Fig. 1. High resolution fundus images: A – without adaptive optics technology, B – with adaptive optics technology.

Dane techniczne aparatu rtx1

W aparacie rtx1 wykorzystano obrazowanie reflektancyjne „en face” z błyskowym niekoherentnym światłem z zakresu bliskiej podczerwieni. Schemat działania urządzenia przedstawiono na rycinie 2. Typ detektora to niskoszumowa kamera CCD, a wielkość piksela kamery na dnie oka mierzy $1,6 \mu\text{m}$. Wykorzystywany sensor czoła fali rejestruje dane dotyczące ich zniekształceń, przekazuje je do komputera, który następnie programuje odkształcalne (deformowalne) lustro odbijające uporządkowane już fale świetlne. Dzięki temu w czasie rzeczywistym



Ryc. 2. Schemat działania aparatu rtx1.

Fig. 2. Rtx1 work diagram.

wistym badaniu są redukowane aberracje optyczne wynikające z nieregularności struktur ludzkiego oka, w szczególności rogówki i soczewki. Rozdzielczość optyczna na dnie oka wynosi 250 par linii na milimetr (lp/mm), z polem obrazowania $4^\circ \times 4^\circ$. Całkowity czas uzyskiwania obrazu to 4 sekundy, podczas których można uzyskać 40 pojedynczych ujęć (9, 10). Mikroskop rtx1 ma oprogramowanie do akwizycji i analizy obrazów ze szczególnym uwzględnieniem czopków i naczyń, pozwala ono na mapowanie obserwowanych struktur i ich analizę statystyczną. Wykonanie badania aparatem rtx1 warunkują szerokość źrenicy i przejrzystość ośrodków optycznych. Wymagany zakres szerokości źrenicy mieści się w przedziale 4–10 mm, w praktyce oznacza to sporadyczną konieczność stosowania mydriatyków. Jakość badania ograniczają zmiany przejrzystości rogówki, soczewki i ciała szklistego. Standaryzacja badania jest zależna od długości gałki ocznej i wady refrakcji. Pomiar długości gałki ocznej zatem jest potrzebny do spersonalizowanej analizy wyników badań. Możliwy zakres regulacji ogniskowej dla kompensacji wady refrakcji pacjenta wynosi $\pm 15,00$ dioptrii sferycznych.

Obrazowanie aparatem rtx1

Aparat umożliwia obrazowanie dowolnego fragmentu tylnego bieguna oka. Automatycznie są zapisywane współrzędne położenia wybranego miejsca, dzięki temu można powtórnie wykonać badanie tego samego obszaru. Jest to szczególnie przydatne do oceny progresji zmian siatkówkowych. Dodatkowo regulacji podlega głębokość obserwowanego regionu siatkówki. Dzięki temu można uwidocznic nawet pojedyncze fotoreceptory (czopki i pręciki) oraz ściany zarówno dużych, jak i drobnych naczyń krwionośnych (anatomicznie końcowych, które odpowiadają budowie arterioli krążenia mózgowego, sercowego i nerkowego) (5). Ostry i czysty obraz odsłania także inne, niedostępne wcześniej, mikrostruktury siatkówkowe, takie jak cienkie granice obszarów atroficznych, pory blaszki sitowej, drobne wysięki oraz mikrotętniaki.

Wybór naczyń krwionośnych do badania jest uzależniony od ich przebiegu – sugerowana jest analiza prostych odcinków naczyń, bez rozwidleń (11). Aby odróżnić naczynia tętnicze od żylnych, należy zwrócić uwagę na grubość ich ścian oraz przepływ krwi. W miejscach, w których łączą się naczynia żylna, początkowo można dostrzec dwa oddzielne strumienie.

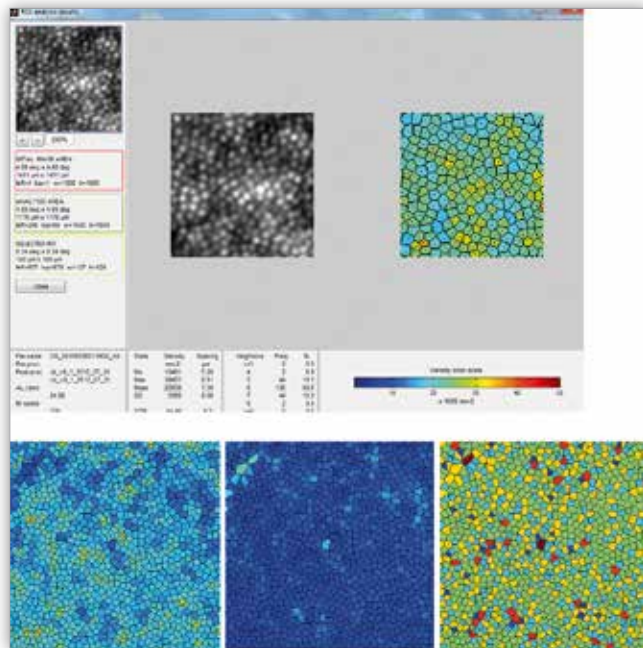
Wszystkie uzyskane obrazy są przypisywane do założonego wcześniej konta badacza, następnie mogą być grupowane w preferowane podgrupy.

Analiza wyników badań wykonanych aparatem rtx1

Do analizy wyników badań wykorzystuje się dwa programy udostępnione przez producenta: AODetect (analiza fotoreceptorów) i AODetectArtery (analiza naczyń). Do korzystania z obydwu konieczne jest wyeksportowanie, a następnie automatyczne przygotowanie zdjęcia wybranego z bazy danych. Jak wcześniej wspomniano, niezbędne jest uwzględnienie długości gałki ocznej pacjenta.

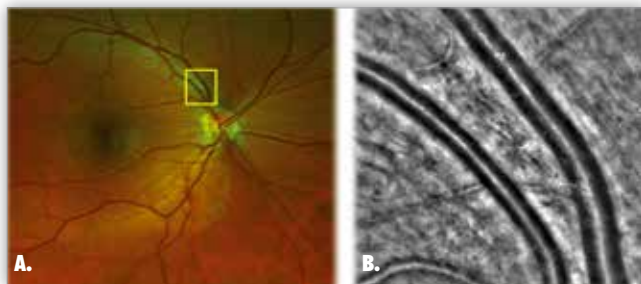
AODetect służy do określania gęstości fotoreceptorów, ich rozmieszczenia oraz morfologii. Do zaznaczenia wielkości obszaru szczegółowej analizy jest wykorzystywana ruchoma ramka – o jej szerokości i umiejscowieniu decyduje badacz.

Oprogramowanie umożliwia pomiar średniej, maksymalnej i minimalnej wartości ww. parametrów w zapisach liczbowym oraz procentowym, dodatkowo z obliczonym odchyleniem standardowym. Do każdej wizualizacji danych są dołączone barwne skale (np. im cieplejsze barwy, tym większa gęstość fotoreceptorów) (10, 12). Wyniki pomiarów są automatycznie eksportowane do arkusza Excel w formie tabeli. Analizę gęstości fotoreceptorów za pomocą aparatu rtx1 przedstawiono na rycinie 3.

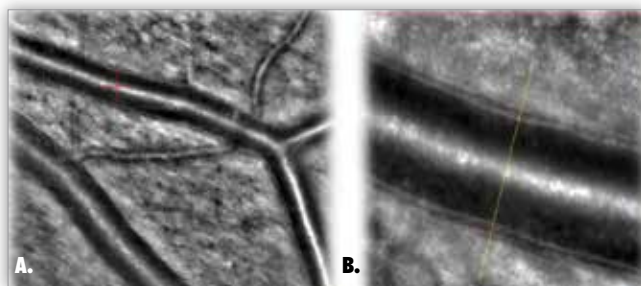


Ryc. 3. Analiza gęstości fotoreceptorów za pomocą aparatu rtx1 (A – D).
Fig. 3. Photoreceptor density analysis with rtx1 device (A – D).

A0detectArtery umożliwia ocenę następujących parametrów: grubości obu ścian naczynia (górną – „wall” 1, dolną – „wall” 2), średnicy jego przekroju i światła, stosunku grubości ściany do światła naczynia (WLR = „wall to lumen ratio”), a także wskaźnika WCSA („wall cross-sectional area”). Badacz manualnie zaznacza analizowany obszar. Program automatycznie identyfikuje struktury naczynia, możliwa jednak jest ręczna modyfikacja pomiarów. Dane liczbowe są zapisywane w formie tabeli w arkuszu Excel. Dodatkowo istnieje możliwość zapisu analizowanego obszaru w formie zdjęcia (3). Aparat rtx1 umożliwia uzyskanie bardzo dokładnego obrazu naczyń siatkówki (ryc. 4.). Przykładową analizę naczynia siatkówki za pomocą aparatu rtx1 przedstawiono na rycinie 5.



Ryc. 4. Unaczynienie siatkówki: A – zobrazowane na kolorowej fotografii dna oka, B – zobrazowane za pomocą rtx1.
Fig. 4. Retinal vessel imaging: A – color fundus photo, B – rtx1.



Ryc. 5. Przykładowa analiza naczynia siatkówki za pomocą aparatu rtx1 (A – w małym powiększeniu, B – w dużym powiększeniu).

Fig. 5. Example of retinal vessel analysis with rtx1 (A – small magnification, B – large magnification).

Zastosowanie aparatu rtx1

Wydaje się, że aparat rtx1 może być wykorzystywany do diagnostyki i monitorowania schorzeń, w przebiegu których dochodzi do uszkodzenia pojedynczych komórek siatkówki, w tym: chorób genetycznych z uszkodzeniem fotoreceptorów (choroby Stargarda, zwyrodnienia barwnikowego siatkówki, dystrofii czopkowych i czopkowo-pręcikowych), centralnej retinopatii siarowiczej, jaskry, suchej postaci zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem (5, 13, 14). Może być też przydatny do oceny stanu fotoreceptorów siatkówki po zabiegach chirurgii witreoretinalnej oraz do badania toksycznego wpływu niektórych leków na siatkówkę.

Tę metodę badania można wykorzystywać do oceny zmian naczyniowych w siatkówce (8, 11, 15). Dotyczy to schorzeń ogólnoustrojowych takich jak cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, miażdżyca naczyń i zapalenia naczyń. Parametry naczyń siatkówki można określać na wczesnym etapie rozpoznawania nadciśnienia tętniczego, miażdżycy i cukrzycy, ponadto można szacować, czy powikłania tych schorzeń mogą zająć narządy inne niż gałka oczna.

W Polsce pierwsze badania z użyciem aparatu rtx1 wykonano w połowie 2015 roku w Katedrze i Klinice Okulistyki II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Planowane są kolejne publikacje na temat standaryzacji badań z użyciem tego aparatu u zdrowych osób z różnych grup wiekowych, a także analiza odchyleń od normy w przypadkach wybranych chorób siatkówki i ogólnoustrojowych.

Piśmiennictwo:

1. Szumowski W: *Historia medycyny*. PZWL Warszawa 1961.
2. Bajwa A, Aman R, Reddy AK: *A comprehensive review of diagnostic imaging technologies to evaluate the retina and the optic disk*. International Ophthalmology. 2015 October; 35 (5): 733–775.
3. Ilginis T, Clarke J, Patel PJ: *Ophthalmic imaging*. Br Med Bull. 2014; 111(1): 77-88. doi: 10.1093/bmb/ldu022. Epub 2014 Aug 18.
4. Garnier MB, Flores M, Debellemanničre G, Puyraveau M, Tumahai P, Meillat M, et al.: *Reliability of cone counts using an adaptive optics retinal camera*. Clinical and Experimental Ophthalmology. 2014; doi: 10.1111/ceo.12356.
5. Kozak I: *Retinal imaging using adaptive optics technology*. Saudi Journal of Ophthalmology. 2014; 28: 117–122.
6. Lombardo M, Serrao S, Devaney N, Parravano M, Lombardo G: *Adaptive optics technology for High-Resolution retinal imaging*. Sensors. 2012; 13 (1): 334–366.

7. Beckers JM: *Adaptive optics for astronomy: principles, performance, and applications*. Annu Rev Astronomy Astrophys. 1993; 31(1): 13–62.
8. Godara P, Dubis AM, Roorda A, Duncan JL, Carroll J: *Adaptive optics retinal imaging: emerging clinical applications*. Optom Vis Sci. 2010; 87: 930–941.
9. Meixner E, Michelson G: *Measurement of retinal wall-to-lumen ratio by adaptive optics retinal camera: a clinical research*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2015; 253: 1985–1995. DOI 10.1007/s00417-015-3115-y.
10. Muthiah MN, Gias C, Chen FK, Zhong J, McClelland Z, Sallo FB, et al.: *Cone photoreceptor definition on adaptive optics retinal imaging*. Br J Ophthalmol. 2014; 98(8): 1073–1079. doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-304615. Epub 2014 Apr 11.
11. Kocha E, Rosenbaum D, Brolly A, Sahela JA, Chaumet-Riffauda P, Girerd X: *Morphometric analysis of small arteries in the human retina using adaptive optics imaging: relationship with blood pressure and focal vascular changes*. Journal of Hypertension. 2014; 32 (4): 890–898. doi: 10.1097/HJH.000000000000095.
12. Li KY, Roorda A: *Automated identification of cone photoreceptors in adaptive optics retinal images*. J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis. 2007; 24: 1358–1363.
13. Nakamura T, Ueda-Consolvo T, Oiwake T, Hayashi A: *Correlation between outer retinal layer thickness and cone density in patients with resolved central serous chorioretinopathy*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmology. 2016; 254(12): 2347–2354.
14. Querques G, Kamami-Levy C, Georges A, Pedinielli A, Capuano V, Blanco-Garavito R, et al.: *Adaptive optics imaging of foveal sparing in geographic atrophy secondary to age-related macular degeneration*. Retina. 2016; 36(2): 247–254. doi: 10.1097/IAE.0000000000000692.
15. Rosenbaum D, Kachenoura N, Koch E, Paques M, Cluzel P, Rêdheuil A, et al.: *Relationships between retinal arteriole anatomy and aortic geometry and function and peripheral resistance in hypertensives*. Hypertens Res. 2016; 39(7): 536–542. doi: 10.1038/hr.2016.26.

Praca wpłynęła do Redakcji 15.09.2016 r. (KO-00084-2016)
Zakwalifikowano do druku 03.02.2017 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

dr n. med. Magdalena Ulińska
Samodzielny Publiczny Kliniczny Szpital Okulistyczny
w Warszawie
ul. Sierakowskiego 13
03-709 Warszawa
e-mail: magdalena.ulinska@onet.pl

Polskie Towarzystwo Okulistyczne

e-mail: pto@pto.com.pl