

(1)

Opracowanie metody pomiaru średnicy naczyń siatkówkowych

The study of method to measure retinal vessels' diameter

Zofia Mariak¹, Grzegorz Rakowski¹, Jarosław Krejza², Sulyman Youns Jai¹

¹Z Kliniki Okulistyki Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: dr hab. n. med. Zofia Mariak

²Z Zakładu Radiologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jerzy Walecki

Summary: Purpose: To estimate the objective and repeatable method for measurements of the retinal vessels' diameter. The direct reason for creating this method was to use it to evaluate the influence of a exogenous estrogens on a retinal blood vessels.

Material and methods: Basing on a modern computer systems, using funduscamera Canon NF 505, the model of active matrix for repeatable method for estimating the changes in vessels' diameter, was elaborated.

Results: After statistical analysis of a material of 3000 measurements, the degree of objectiveness and recurrence and the potential scale for errors was acknowledged. This method enables the estimation of the changes in retinal vessels diameter caused by many different factors in comparison to initial observations (set as 100%) in every analysed case.

Conclusions: Presented method can be succesfully used for objective, reliable evaluation of changes in the blood vessels diameter caused by many different factors.

Słowa kluczowe: siatkówka, średnica naczyń.

Key words: retina, diameter of vessels.

Problem badań nad wpływem różnorodnych czynników oraz farmaceutyków na naczynia krwionośne w siatkówce oka wynika z braku skutecznych i wiarygodnych metod pomiaru rzeczywistych rozmiarów średnicy tych naczyń, szczególnie o małym kalibrze. Jak wynika z literatury, od dawna podejmowano wiele prób, by sprostać temu zadaniu, ale w praktyce nie doprowadziły one do osiągnięcia sukcesu. W związku z trudnościami w uzyskaniu rzeczywistych wymiarów naczyń siatkówkowych zaczęły się rozpowszechniać metody tzw. względne pomiaru naczyniowego.

Większość opisywanych w literaturze metod pomiarowych sprowadza się do oznaczania stosunku szerokości naczynia do średnicy tarczy nerwu wzrokowego. Zakładając *a priori* znajomość rozmiarów średnicy tarczy i przyjmując tu wartość 1,5 mm, wtórnie dopiero, w odniesieniu do tej wartości, obliczano rzeczywiste parametry naczynia. Takie pomiary obarczone były ogromnym błędem, ponieważ już Ishii obliczył, że, w zależności choćby od płci, średnica dysku może się wahać, osiągając rozmiar nawet 1,66 mm (informacja zaczerpnięta z podania E. Lobecka – 9). Z czasem spopularyzowało się raczej analizowanie stosunku tętniczko-żylnego, głównie od czasu rozpowszechnienia się fotografii dna oka.

W ciągu wielu lat, bazując na zasadach wspomnianej względności badania, pomiarów naczyń siatkówkowych dokonywano różnorodnymi sposobami (2). Na początku XX wieku Henriksson

opracował sposób heliometryczny, udoskonalony później przez Lobecka w 1935 r. (9). Metoda ta, w której wykorzystywano oftalmoskop Gullstranda oraz urządzenie Noniusza, pozwalała na określanie względnej do tarczy n. II średnicy mierzonego naczynia (1). W latach 40. Mikuni samodzielnie sporządził aparat, za pomocą którego prowadził badania nad kalibrem naczyń (10). Dollery i wsp. skonstruowali aparaturę, którą na bazie fotografii można było zmierzyć szerokość naczyń siatkówkowych w granicach od 25 do 110 mikronów. Natomiast jednym z pierwszych polskich badaczy, zajmujących się pomiarami naczyń, był Stanisław Rutkowski. Metoda jego nie była zbyt precyzyjna, zaletę jej natomiast stanowiło to, że nie wymagała specjalistycznego sprzętu, lecz jedynie wziernika (12). Inna ciekawa metoda, z wykorzystaniem wizuskopu firmy Oculus, zaproponowana została również przez polskich naukowców (4). Polegała ona na dobieraniu w aparacie odpowiednich do szerokości danego naczynia kwadracików i odczytywaniu z tabeli stosownych wartości w ułamkach milimetra. W innych pracowniach (powtórzone za E. Brykiem – 3) pomiarów dokonywano poprzez wykonywanie najpierw zdjęć dna oka na filmie diapozytywowym, a następnie rzutowanie ich na ekran ze ściśle ustalonej odległości. W taki sposób powtarzano pomiary w określonych odległościach od tarczy, co dawało możliwość porównania wyników z różnych okresów, np. przed leczeniem i po nim. Próbowano również wyko-

rzystania mikrodensytometrii w określaniu średnicy naczyń siatkówkowych (powtórzone za E. Brykiem – 3). Wszystkie spośród wymienionych metod charakteryzowały się, niestety, zbyt dużym błędem pomiaru. Określanie szerokości naczyń siatkówki podejmowała się również w swoich pracach D. Karczewicz ze szczecińskiej AM (6,7). Pomiaru naczyń wykonywano tam z fotogramów negatywowych za pomocą Stecometru C firmy Carl Zeiss Jena z automatyczną rejestracją danych na koordymetrze F. Aparat ten używany był w kartografii i geodezji do analitycznego określania położenia punktu na płaszczyźnie. Szerokość naczynia żylnego i tętniczego mierzono na odcinku między tarczą n. II a pierwszym jego rozgałęzieniem.

Dokładniejszą metodą badania naczyń na dnie oczu, w porównaniu z oceną bezpośrednią za pomocą oftalmoskopu, jest angiografia fluoresceinowa, która oprócz obrazowania tętnic umożliwia ocenę zaburzeń dynamiki krążenia krwi oraz płynu w siatkówce i naczyniówce (11). Jednak jest to metoda wyłącznie jakościowa i wysoce subiektywna. Próby z wykorzystaniem angiografii podejmowano m. in. w Klinice Okulistyki w Bydgoszczy (5). Stosowano tam metodę rzutowania obrazu na ekran. Wykorzystanie kontrastu w tego typu pomiarach poprawiło jakość i dokładność badania, jednak nie wyeliminowało błędów samego pomiaru naczyń.

Do trudności, związanych z brakiem dobrej i wiarygodnej metody precyzyjnej oceny średnicy naczyń siatkówkowych, dołącza się inny problem, tzw. powtarzalności badań. W ostatnich latach ogromny postęp w tym zakresie mógł się dokonać za sprawą sprzętu komputerowego. Próby takich powtarzalnych pomiarów podjęto w I Klinice Okulistyki w Warszawie (8). Pierwsza z proponowanych tam metod jest wprawdzie dokładniejsza, ale wymaga ogromnego nakładu pracy. Polega na wpisywaniu odcinka prostopadłe do osi naczyń i określaniu współrzędnych przecięcia tego odcinka z brzegami naczyń. Na podstawie uzyskanych współrzędnych przecięcia oblicza się średnicę. Drugi sposób polega na interaktywnym wpisaniu okręgu stycznie do brzegów naczynia i odczytaniu jego promienia w oknie pomiarowym monitora obrazowego systemu IPS Ophthalmic. Podwojona wartość promienia określa średnicę naczynia. Badania tego typu wykorzystywano u pacjentów z retinopatią cukrzycową. Porównywano stosunek tętnic do żył. W grupie kontrolnej różnica wynosiła od blisko 0,75 do 0,5, u osób z izolowaną cukrzycą <0,5, a z cukrzycą i nadciśnieniem – od 1 do 0,5 (8).

W Klinice Okulistyki Akademii Medycznej w Białymstoku podjęto próbę stworzenia nowych, obiektywnych standardów pomiaru naczyń dna oka. Konieczność taką stworzyła potrzeba oceny wpływu estrogenów na naczynia siatkówkowe oka. Badania nad działaniem tego hormonu jako nowego neuroprotektora już od 2 lat stanowią przedmiot naszych szczególnych zainteresowań, które realizowane są we współpracy z Kliniką Neurochirurgii, Zakładem Radiologii oraz Kliniką Ginekologii AMB.

Opis metody pomiaru średnicy naczyń siatkówkowych

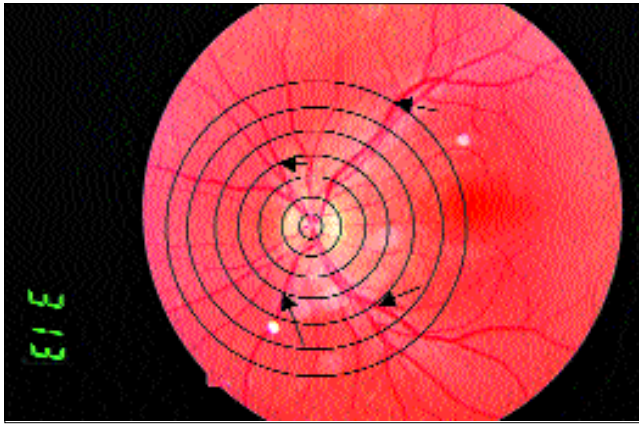
Obrazy siatkówkowe uzyskiwano za pomocą cyfrowego aparatu fotograficznego i funduskamery Canon NF505. Wprowadzano je do systemu komputerowego, korzystając z profesjonalnego oprogramowania komputerowego do retuszu i obróbki zdjęć Photoshop 5.0 oraz Corel Draw 9.0. Pozwoliło to na stworzenie „aktywnej matrycy”, przedstawiającej sześć współśrodkowych okręgów. Wielkość średnicy każdego z nich była ściśle określona, promień każdego kolejnego okręgu stanowił odpowiednio 10%, 20%, 30% itd.

w stosunku do okręgu środkowego, najmniejszego, który był obrysem tarczy nerwu wzrokowego u osoby badanej (ryc. 1).

Punktem wyjścia dla przyjęcia takiej koncepcji było poszukiwanie stałych miejsc odniesienia na dnie oka dla kolejnych pomiarów, gwarantujących powtarzalność i porównywalność pomiarów u danego pacjenta. Ważne było, aby poszczególne „punkty odniesienia” w danym układzie, w kolejno wykonywanych badaniach, nie zmieniały swoich cech, ograniczając do minimum błąd operatora i maksymalnie obiektywizując wynik. Oczywiście, godzono się z faktem, że niemożliwe jest całkowite wyeliminowanie błędów, ale dążono do tego, by nawet błędy były obiektywnie uwarunkowane, powtarzalne i zawsze takie same lub podobne. Na powstawanie błędów mogły się składać zarówno cechy konstrukcji funduskamery, jak i trudna do osiągnięcia idealna dokładność operatora podczas wykonywania kolejnych badań.

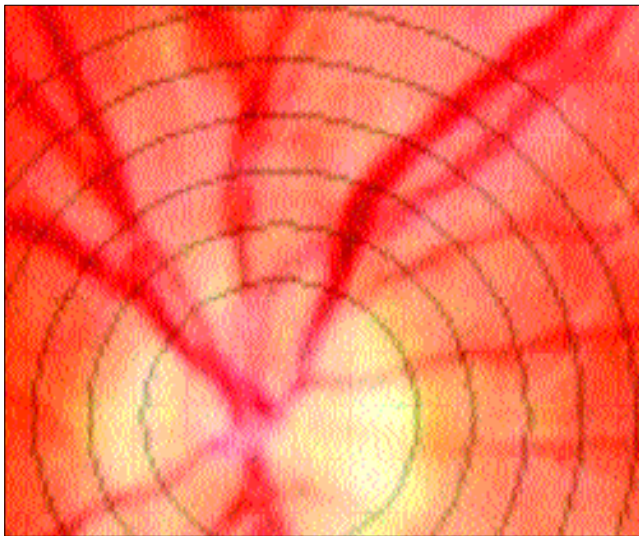
Każdej z badanych osób wykonywano po 10 zdjęć dna oka prawego i 10 zdjęć dna oka lewego, tak więc każda z nich miała wykonanych łącznie 20 zdjęć. Przetwarzanie zdjęć odbywało się na wysokiej klasy specjalistycznym sprzęcie fotograficznym, wykorzystywanym w profesjonalnych laboratoriach fotograficznych. Wszystkie pomiary były wykonywane w warunkach do siebie zbliżonych. W trakcie każdego badania, oglądając dno oka w funduskamerze, starano się tak ufi ksować wzrok pacjenta za pomocą celownika, aby tarcza nerwu wzrokowego znajdowała się w tym samym miejscu. Wszystkie badania wykonywano, stosując to samo powiększenie, oraz w identycznym oświetleniu. Miało to służyć precyzyjnej, maksymalnej powtarzalności badań. Kolejny etap stanowiły zeskanowanie uzyskanych zdjęć i ich komputerowa obróbka. Dążono przy tym do uzyskania jak największej rozdzielczości obrazu. Uzyskiwana przez nas rozdzielczość wynosiła ok. 1800 x 1200 pikseli. Badania przeprowadzano w taki sposób, by ani osoba badająca, ani niezależna osoba oceniająca nie miały żadnego wpływu na wyniki.

Przetworzone obrazy zostały odpowiednio posegregowane, z przyporządkowaniem ich do odpowiadających im oznaczeń liczbowych. Z serii 10 zdjęć, dotyczących jednego oka, po analizie i ocenie komputerowej zostały wybrane tylko te, na których szczegóły anatomiczne były najlepiej widoczne i najwyraźniejsze. Po dokonanej selekcji pozostały do oceny 2-3 komputerowo przetworzone obrazy dna oka każdej badanej ochotniczki. Na przygotowane w ten sposób obrazy nanoszono wcześniej opisaną „aktywną matrycę” ze współśrodkowymi okręgami. Najmniejszy okrąg tak dostosowywano komputerowo, aby pokrywał się z obszarem tarczy nerwu wzrokowego. Tym sposobem możliwe stały się pomiary średnic naczyń u danej osoby w jednakowej odległości od tarczy, zawsze w tych samych miejscach, z zachowaniem stałego punktu odniesienia. Minimalne przesunięcia na poszczególnych zdjęciach były weryfikowane komputerowo. Miejsca przecięć kolejnych okręgów z naczyniami odpowiednio oznaczano. Tak więc pierwszy, „zerowy” okrąg pokrywał się z tarczą nerwu wzrokowego, a następane, ponumerowane kolejnymi cyframi od 1 do 6, były okręgami, które przecinały się z naczyniami siatkówkowymi. Tym sposobem okrąg nr 1 rzutował się na stosunkowo duże naczynia dna ocznego, w pobliżu tarczy nerwu wzrokowego. Na powiększonym cyfrowo o 300% skanie dokładnie uwidaczniały się punkty przecięcia linii okręgu ze ścianami tych naczyń. W celu zwiększenia precyzji pomiarów ściany naczyniowe poddawano obróbce komputerowej, prowadzącej do podwyższenia kontrastowości pomiędzy ich krawędzią a tłem siatkówkowym. Czasami wykorzystywane były przy tym



Ryc. 1. Obraz dna oka z nałożoną matrycą; miejsca pomiarów oznaczono strzałkami.

Fig. 1. The image of the eye fundus catches a matrix; the places of measurements were marked with the arrows.



Ryc. 2. Obraz dna oka w powiększeniu 300% z nałożoną siatką okręgów.

również negatywy zdjęć. W celach pomiarowych oznakowywano wyłącznie takie punkty, co do których nie było wątpliwości i które były wyraźne i w pełni czytelne (ryc. 2, 3). W podobny sposób postępowano z kolejnymi, dalszymi okręgami matrycy.

Oznakowane punkty łączono linią prostą, prostopadłą do ściany naczynia, która jednocześnie wyznaczała wartość bezwzględną pomiaru z wykorzystaniem profesjonalnego oprogramowania graficznego Photoshop 5.0. Odczyty były automatycznie wprowadzane do pamięci komputera. Różnice w długości poszczególnych odcinków, odpowiadających średnicom badanych naczyń, zarówno przyrosty, jak i ubytki, określano w skali procentowej względem pomiaru pierwotnego, przyjętego za 100%.

Ocena wiarygodności metody za pomocą analiz statystycznych

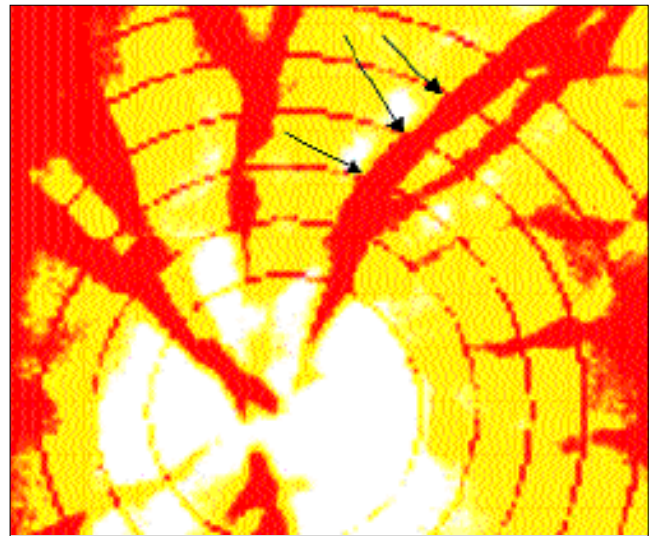
Zaplanowano ocenianie każdego skanu metodą „podwójnej próby”, czyli przez dwie niezależne osoby badające, by w ten sposób rozszyfrować rzeczywisty błąd pomiaru. Przed sesją pomiarową zeskanowane zdjęcia segregowano starannie, odróżniając w grupach oczy prawe i lewe poszczególnych ochotniczek. Każda z osób

badających otrzymała do opracowania taki sam zestaw obrazów komputerowych.

W celu oszacowania skuteczności zastosowanej metody wszystkie pomiary z oka prawego porównywano najpierw z odpowiadającymi im pomiarami oka lewego, uzyskanymi przez tę samą osobę badającą. Następnie wszystkie pomiary, wykonane przez jednego z badających, zestawiano z pomiarami drugiego badającego. Wyniki poddano analizie statystycznej (test t-Studenta dla zmiennych niepowiązanych), dzięki czemu możliwe stało się procentowe określenie średnich błędów, których nie udało się całkowicie wyeliminować w czasie stosowania opisywanej metody pomiarowej (tab. I).

Omówienie

O próbach poszukiwania standardów pomiaru naczyń krwionośnych wspomniano już we wstępie. W odniesieniu do oceny dużych gałęzi trudności zostały zażegnane, udało się bowiem wypracować określone techniki, służące do dokładnej oceny tych naczyń. Proble-



Ryc. 3. Obraz dna oka w powiększeniu 300% z nałożoną matrycą po komputerowym zwiększeniu kontrastu dla poszczególnych naczyń.

Fig. 3. The image of 300% magnification of eye fundus with a matrix after a computer intensification contrast for each vessels.

	A. OP/OL A. RE/LE ($p < 0,05$)	B. Cała badana grupa B. Total examine group ($p < 0,05$)
badający nr 1 searcher no 1	7,42%	11,33%
badający nr 2 searcher no 2	9,13%	11,33%

Tab. I. Test na błąd pomiaru średnic naczyń siatkówkowych.

- Średni błąd pomiaru wynikający z porównania wyników, uzyskanych z OP i OL tej samej ochotniczki, $p < 0,05$.
- Średni błąd pomiaru na podstawie porównania wyników, uzyskanych w badaniu całej grupy przez badającego nr 1 i nr 2, $p < 0,05$.

Tab. I. The test for error of the measurement of diameters of retinal vessels.

- The mean error as a comparison of results, obtained from RE and LE of the same volunteer, $p < 0.05$.
- The mean error of measurement based on the comparison of the scores, obtained in examination of total group by studying no. 1. and no. 2., $p < 0.05$.

mem nadal pozostaje pomiar naczyń małego kalibru, w tym także naczyń siatkówki oka, w których zmiany są często jednym z pierwszych, możliwych do oceny, objawów choroby. Tak więc opracowanie wiarygodnych technik pomiaru, które można by stosować w trakcie badań klinicznych czy naukowych, stanowi duże wyzwanie.

W metodzie, opracowanej do celów własnych w naszej klinice, posłużono się nowoczesnym oprogramowaniem komputerowym. Uzyskane wyniki świadczą o dużej obiektywności i powtarzalności pomiarów. Metoda ta umożliwia ocenę dynamiki naczyniowej w następstwie działania różnych czynników. Odnosi się to również do badań nad działaniem neuroprotektynowym różnych środków, w tym także ich wpływem na reakcje naczyniowe. To właśnie gra najdrobniejszych naczyń uchodzi zazwyczaj za istotę mechanizmu działania wielu farmaceutyków, a obiektywna ocena tego parametru wciąż stanowi największą trudność. W opracowaniach dotyczących tego zagadnienia nie spotkaliśmy się z analizą statystyczną ewentualnego błędu pomiaru. Są to dane określające najczęściej stosunek np. naczyń żylnych do tętnicznych czy ewentualnie porównania do średnicy tarczy nerwu wzrokowego.

PIŚMIENNICTWO:

1. Arkin W.: *O zastosowaniu uproszczonego wziernika Gülstranda do fotografii dna oka*. Klinika Oczna, 1956, 26 (3-4), 245-248.
2. Ballantyne A. J., Michaelson I. C.: *Textbook of the fundus of the eye*. Edinburgh & Londyn, 1962.
3. Bryk E.: *Dno oka w nadciśnieniu tętniczym*. PZWL, Warszawa, 1976, 24-26.
4. Janotka H.: *Pomiary szerokości naczyń krwionośnych siatkówki u osób zdrowych i w chorobie nadciśnieniowej*. Klinika Oczna, 1962, 32, 393-402.
5. Kałużny J., Mierzejewski A.: *Angiografia fluoresceinowa dna oczu u królików*. Klinika Oczna, 1982, 89 (4), 138-140.
6. Karczewicz D.: *Badanie układu naczyniowego w oczach z krótkowzrocznością wysoką*. Ann. Acad. Med. Szczecin, PZWL, Warszawa, 1987, 33, 229-259.
7. Karczewicz D.: *Pomiary szerokości naczyń siatkówki u ludzi narażonych na działanie CS 2*. Klinika Oczna, 1980, 82 (2), 77-78.
8. Kęcik T., Mencil-Bednarek I., Kasprzak J., Posepna A., Brydak-Godowska J.: *Cyfrowy pomiar naczyń siatkówki u pacjentów z retinopatią cukrzycową*. Nowa Medycyna, 1997, 32-33.
9. Lobeck E.: *Über Messungen Augenhintergrund*. Archivfur Ophthalmologie, 1935, 133-152.
10. Mikuni M.: *Eine Methode zur Messung der Netzhautgefässweite*. Klin. Mbl. Augenhk., 1959, 135, 205-211.
11. Nagin P., Schwartz B., Reynolds G.: *Measurement of fluorescein angiograms of the optic disc and retina using computerized image analysis*. Ophthalmology, 1985, 92 (4), 547-552.
12. Rutkowski S.: *Nowy sposób obliczania średnic naczyń siatkówki*. Pam. XXI Zjazdu PTO, PZWL, Warszawa, 1950.

Praca wpłynęła do Redakcji 3.06.2004 r. (602).
Zakwalifikowano do druku 17.11.2004 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
lek. med. Grzegorz Rakowski
Klinika Okulistyki AMB
ul. M. Skłodowskiej 24 a
15-276 Białystok

Polskie Towarzystwo Okulistyczne
www.pto.com.pl