

Principi tecnologici e imaging degli *Angio-OCT*

di Amedeo Lucente

Introduzione

La recente e innovativa tecnologia Split-Spectrum Amplitude-Decorrelation Angiography (SSADA) permette di misurare il flusso ematico retinico e del nervo ottico in modo non invasivo eseguendo le comuni scansioni tomografiche. Il tentativo di indagare senza mezzi di contrasto (dyeless) la vascolarizzazione neuro-corio-retinica non è recente.

La diffusione e lo sviluppo tecnologico degli Spectral Domain OCT SDOCT, l'implementazione di algoritmi e il miglioramento dei software, hanno permesso in poco tempo di realizzare questo difficile ed ambizioso obiettivo. Esistono sostanzialmente tre modalità d'indagine vascolare: i metodi non ottici (RaggiX/Computed Tomography, Risonanza Magnetica MRI, Ultrasuoni, PET), i metodi ottici (OCT, Fluorescenza, Microscopia a Fluorescenza Multiphoton, Laser Speckle Contrast Imaging LSCI) e infine i metodi ibridi (Imaging Fotoacustico PAI). I metodi ottici, che ci interessano direttamente, a loro volta possono essere ad alta risoluzione e bassa penetrazione nel tessuto (~2 mm) come gli OCT, o con migliore penetrazione (qualche centimetro) e minore risoluzione, come la Tomografia Ottica Diffusa DOT[1].

La riflettività che i tomografi rilevano è dovuta alla luce a bassa coerenza di ritorno dal tessuto indagato. Nessuna distinzione è possibile tra strutture statiche e dinamiche, tra ciò che sta fermo e ciò che si muove, tra i voxel corio-retinici statici e dinamici. Gli angio-OCT OCTA ora permettono questa distinzione, offrendo un'imaging dei vasi retinici senza mezzo di contrasto, in modo efficace e con grande effetto iconografico (Fig. 1a, 1b, 1c). Per avere maggiore capacità di interpretare i

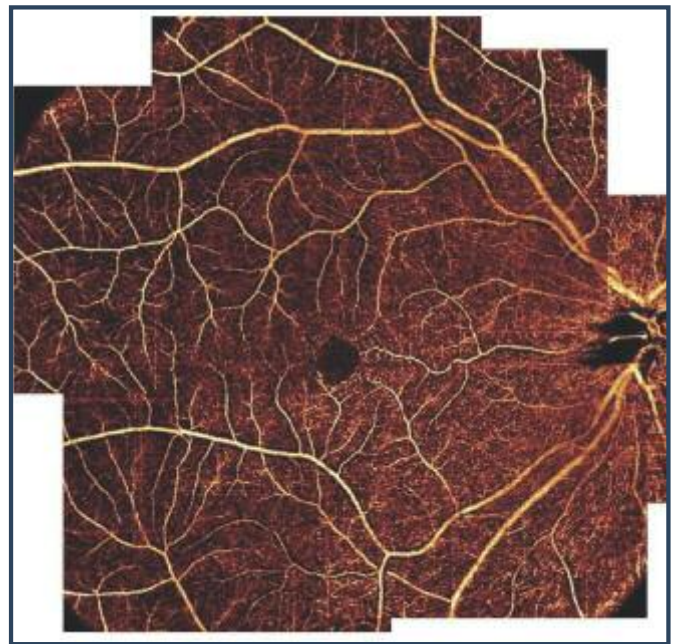


Fig. 1a - Mosaico angio-OCT en face di 7 immagini 6x6 mm con Optovue RTVue XR e SSADA. (American Society of Retina Specialists).

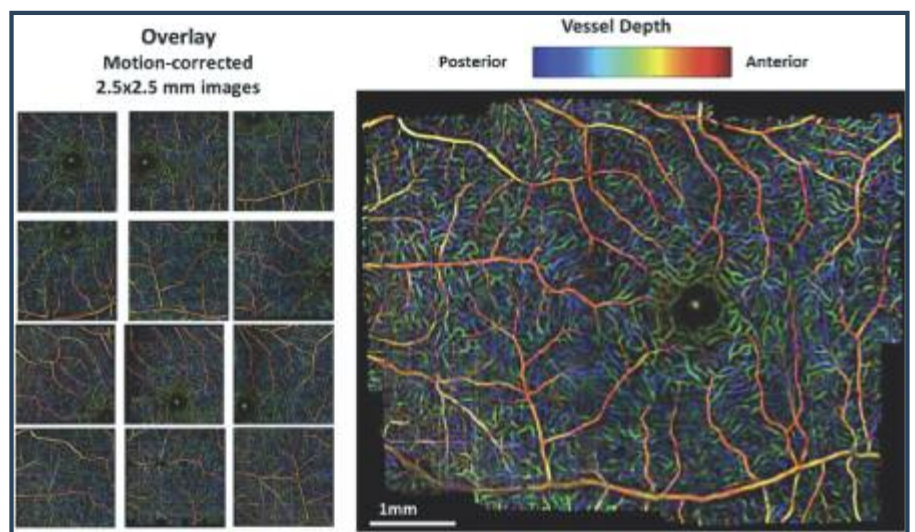


Fig. 1b - Wide-field dei plessi principali dei vasi retinici con colori codificati per profondità (color encoded depth). In rosso i vasi superficiali e in blu i più profondi. Retina nasale a sinistra e temporale a destra. Mosaico costruito dalle singole immagini con Speckle Variance OCT. (Hansford C. Hendargo).

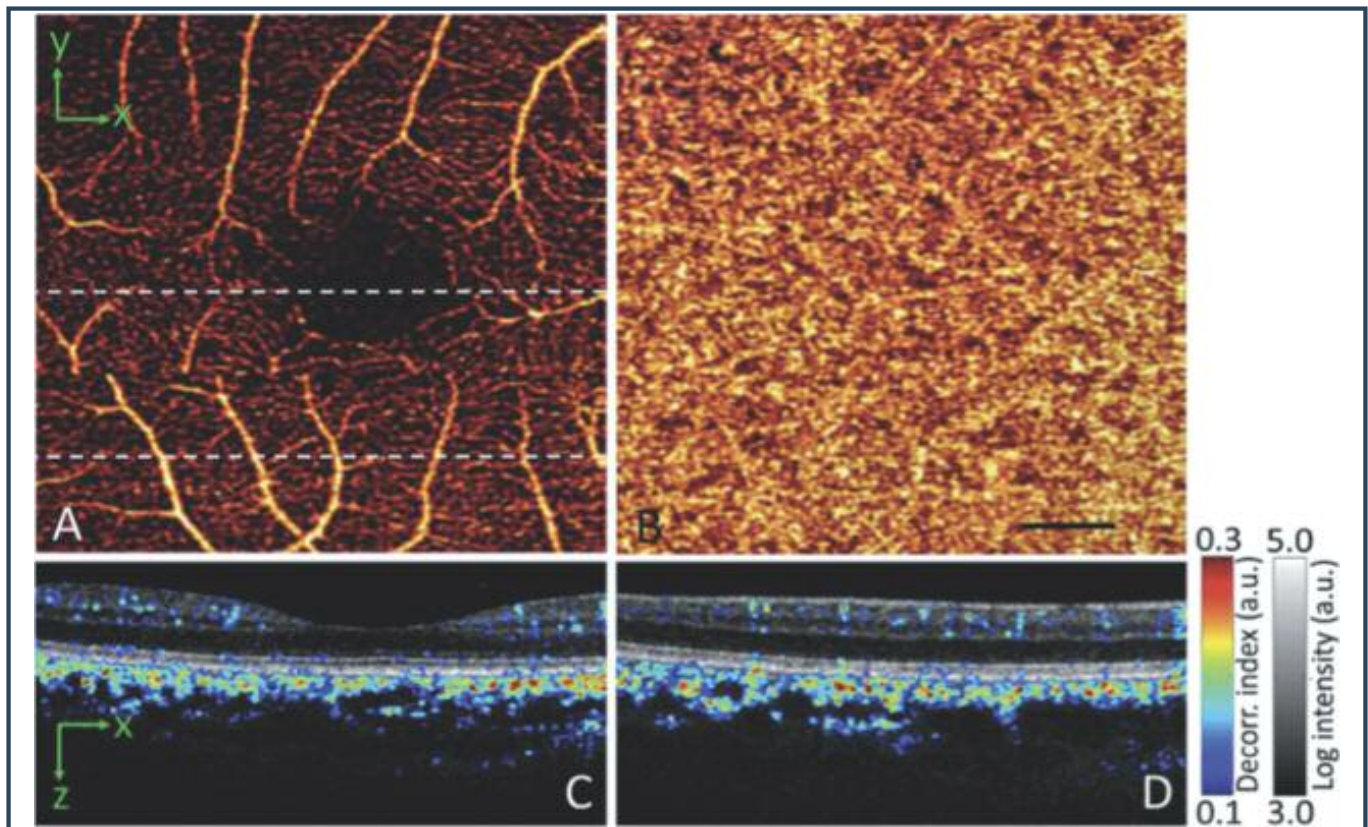


Fig. 1c - A) Circolazione retinica in face dopo decorrelazione con SSADA del segnale tomografico; B) Circolazione coroideale in face dopo decorrelazione con SSADA del segnale tomografico, barra nera = 500 μm ; C) Cross Section orizzontale passante per la fovea (linea tratteggiata superiore in A) con informazioni sul flusso (scala dei colori) e sulla struttura (scala dei grigi); D) Cross Section orizzontale passante per la linea inferiore in A (Yali Jia et al.).

risultati angio-tomografici e familiarizzare con questa nuova modalità d'indagine, è necessario chiarire alcuni concetti generali d'informatica e di fisica dei segnali, alla base dell'angiografia dyeless. Quest'articolo si propone, per quanto è possibile, di offrire una chiave di lettura per questa rivoluzionaria tecnologia sempre più apprezzata e diffusa.

Angiografia dyeless con OCTA

Il voxel (volumetric pixel, volumetric picture element) è l'equivalente in 3D del pixel bidimensionale (pixel, picture element, elemento d'immagine) e indica ciascuno degli elementi puntiformi che compongono la rappresentazione di un'immagine raster digitale su un dispositivo di visualizzazione [2]. Gli OCTA permettono scansioni sia bi che tridimensionali. La rappresentazione finale delle immagini dipende dal numero dei pixel/voxel per campo che ne determinano la qualità. La storia dell'imaging nella diagnostica biomedica non è recente. Ha inizio con la scoperta dei raggi X (W. C. Röntgen 1845-1923) e, segnatamente, con l'avvento della tomografia assiale computerizzata (TAC in seguito TC) da parte di due scienziati indipendenti alla fine degli anni Settanta, Godfrey N. Hounsfield e Cormack McLeod,

entrambi premi Nobel per la Medicina nel 1979 [3]. Il ruolo dell'informatica è stato essenziale per lo sviluppo della medicina, e non esiste disciplina scientifica dove il digitale e i software non siano fondamentali per la qualità finale dell'imaging. I nuovi OCTA hanno beneficiato di questi recenti progressi, e permettono la visualizzazione dei plessi vascolari neuro-retinici non realizzabile fino a poco tempo fa senza mezzo di contrasto. Questi nuovi device, attraverso modifiche migliorative del software e l'utilizzo di algoritmi studiati specificamente, riescono a selezionare per sottrazione dal back-scattering complessivo il segnale dinamico nella sezione di tessuto in scansione.

E' possibile, infatti, rilevare mappe bi-tridimensionali del flusso emoreologico neuro-retinico dal contesto della riflettività tomografica globale. La ripetizione sequenziale delle scansioni è necessaria per distinguere la riflettività dinamica ed eliminare gli artefatti dovuti ai movimenti del tessuto, che inficerebbero la qualità finale dell'imaging [4-6]. Gli OCTA sono caratterizzati da una velocità di campionatura maggiore (A-scan) rispetto alla maggioranza degli SD-OCT in commercio, condizione necessaria per una proficua elaborazione del segnale (*decorrelazione*). Affinché possa essere rilevato tomografi-

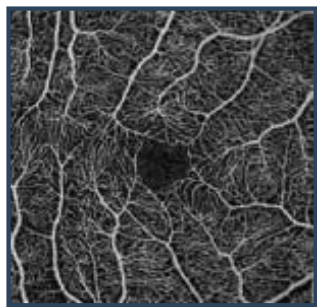


Fig. 2a - Plesso capillare superficiale (Superficial Capillary).

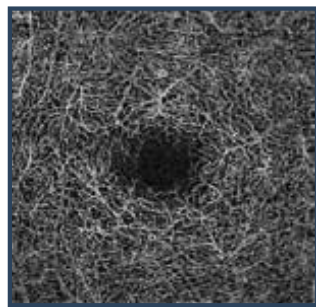


Fig. 2b - Plesso capillare profondo (Deep Capillary).

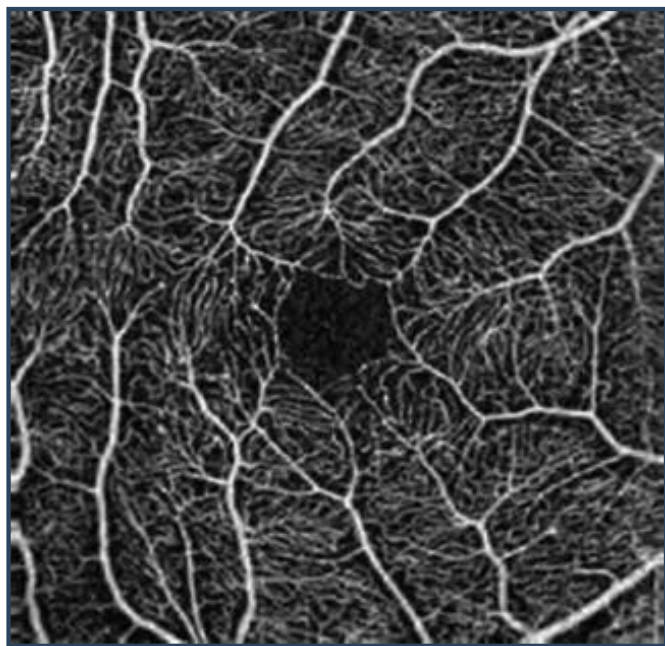


Fig. 3a - Immagine AngioVue della fovea 3 x 3 mm.

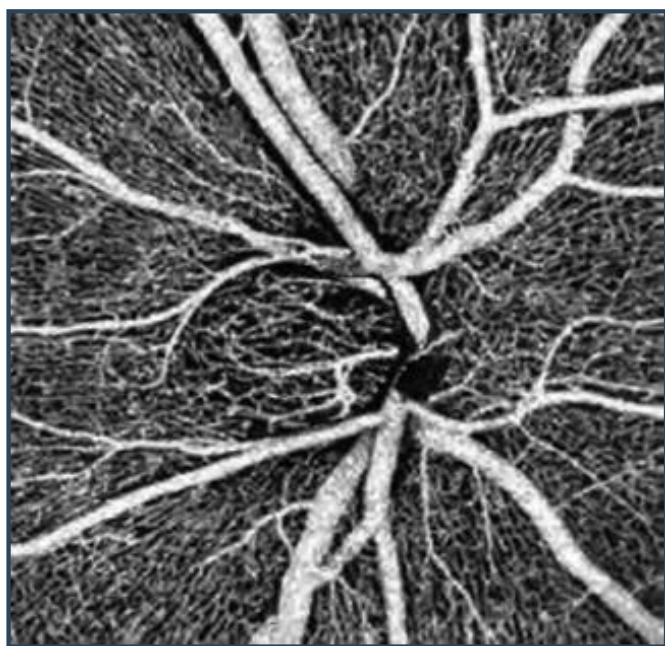


Fig. 3b - Immagine AngioVue del disco ottico 3x3mm.

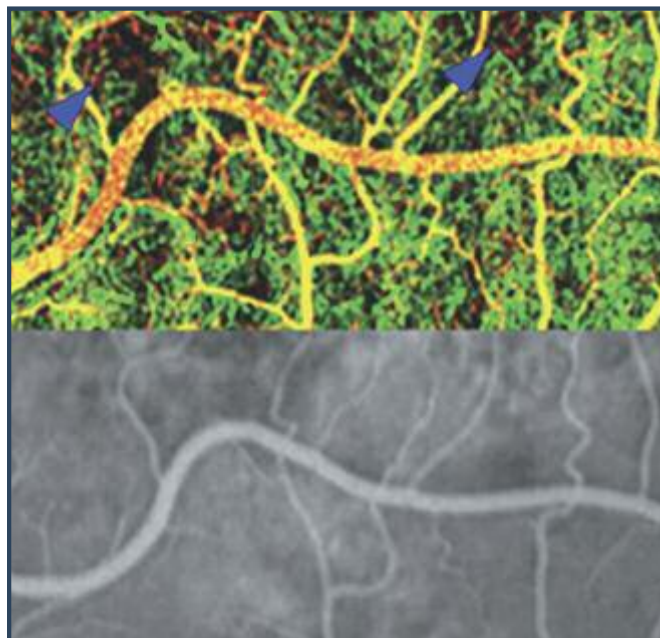


Fig. 4 - Phase-Variance OCT(sopra) vasi retinici in giallo e rosso, coriocapillare in grigio. Frecche blu aree prive di coriocapillare. La Fluoro(sotto) non rileva i dettagli vascolari evidenti in PV-OCT. Paziente con AMD. (Republished from Kim et al.).

camente il movimento dovuto al flusso ematico, è necessario, infatti, che l'algoritmo rilevi e scarti i pixel (o voxel in 3D) statici e riesca a evidenziare, per sottrazione, i pixel dinamici, variabili nel tempo, attraverso un processo informatico-matematico di decodificazione dei segnali denominato *decorrelazione*.

La velocità minima di scansione richiesta è di 70.000 A-Scan al sec (70KHz, 1kHz = 1000Hz). L'algoritmo, in questa fase di sviluppo suddivide le scansioni in più bande spettrali (split spectrum), per riuscire a decorrelare efficacemente il segnale. I risultati sono iconograficamente meno brillanti se si procede su un unico spettro (full spectrum). Lo split spectrum, infatti, consente di migliorare di oltre 100% il rapporto segnale/rumore (signal-to-noise ratio SNR) rispetto all'indagine full spectrum. Tale caratteristica d'applicazione sarà ulteriormente migliorata e modificata negli OCTA di seconda generazione in fase avanzata di progettazione, aumentando essenzialmente la velocità di scansione fino a 400KHerz. Del resto il miglioramento del rapporto SNR è stato affrontato con successo in ultrasonografia dalla fine degli anni Ottanta [7].

Gli angiogrammi OCT, partendo dalla Membrana Limitante Interna MLI fino all'Epitelio Pigmentato Retinico EPR e alla coroide, individuano separatamente il plesso vascolare superficiale, Superficial Vascular Plexus SVP, e quello profondo Deep Vascular Plexus DVP (Fig. 2a, 2b).

Il SVP, costituito dai grossi vasi retinici più interni tra le cellule ganglionari e le fibre ottiche, ha uno spessore medio di 120 micron; il DVP, individuato nello strato plessiforme esterno ha, invece, uno spessore medio di 60 micron. Attualmente il limite di risoluzione di flusso degli OCTA è di circa 25-30 micron. Lo studio dell'anatomia della retina ci ha insegnato che i vasi retinici sono divisi in tre plessi, il superficiale con vasi di grande/medio calibro, l'intermedio con vasi di piccole dimensioni a livello dello strato nucleare interno e il plesso profondo esternamente allo strato plessiforme esterno [8]. Gli attuali OCTA non riescono a distinguere questi due ultimi plessi che considerano insieme in un unico plesso. La risoluzione degli OCTA è ora possibile in retina per aree di 3mm x 3mm, 6mm x 6mm e 8mm x 8mm, mentre sul disco ottico le aree possibili d'indagine sono di 3mm x 3mm e 4.5mm x 4.5mm (Fig. 3a, 3b). Anche se le aree sono di diverse dimensioni, i pixel totali rimangono gli stessi, per cui la risoluzione diminuisce in modo evidente all'aumentare dell'estensione del campo d'indagine e i dettagli di flusso possono sfuggire (RTx Optovue 304 x 304 pixels). In pratica si utilizza di routine solo il campo 3mm x 3mm. Sono in arrivo nuovi device che promettono indagini ad ampio campo (wide-field) fino a 12mm x 12mm e una completa visione della vascolarizzazione corio-retinica, conservando

una risoluzione finale accettabile, cosa possibile con l'aumento dei pixel totali [9]. Per verificare la validità di questa nuova metodica il confronto con l'indagine invasiva si è resa necessariamente obbligatoria. In uno studio Matsunaga et al. hanno dimostrato la sovrappo-

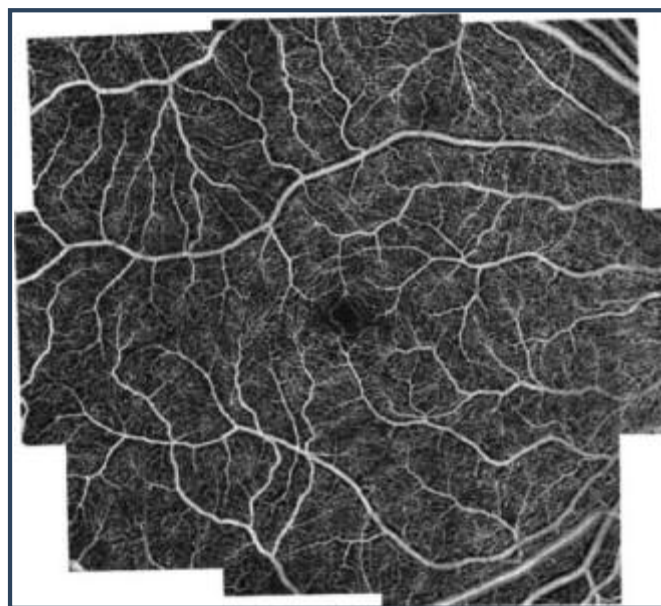


Fig. 5a - OCTA Wide-field di retina normale con RTVue XR Avanti, montaggio con Adobe Photoshop (San Jose, CA). (de Carlo TE et al.).

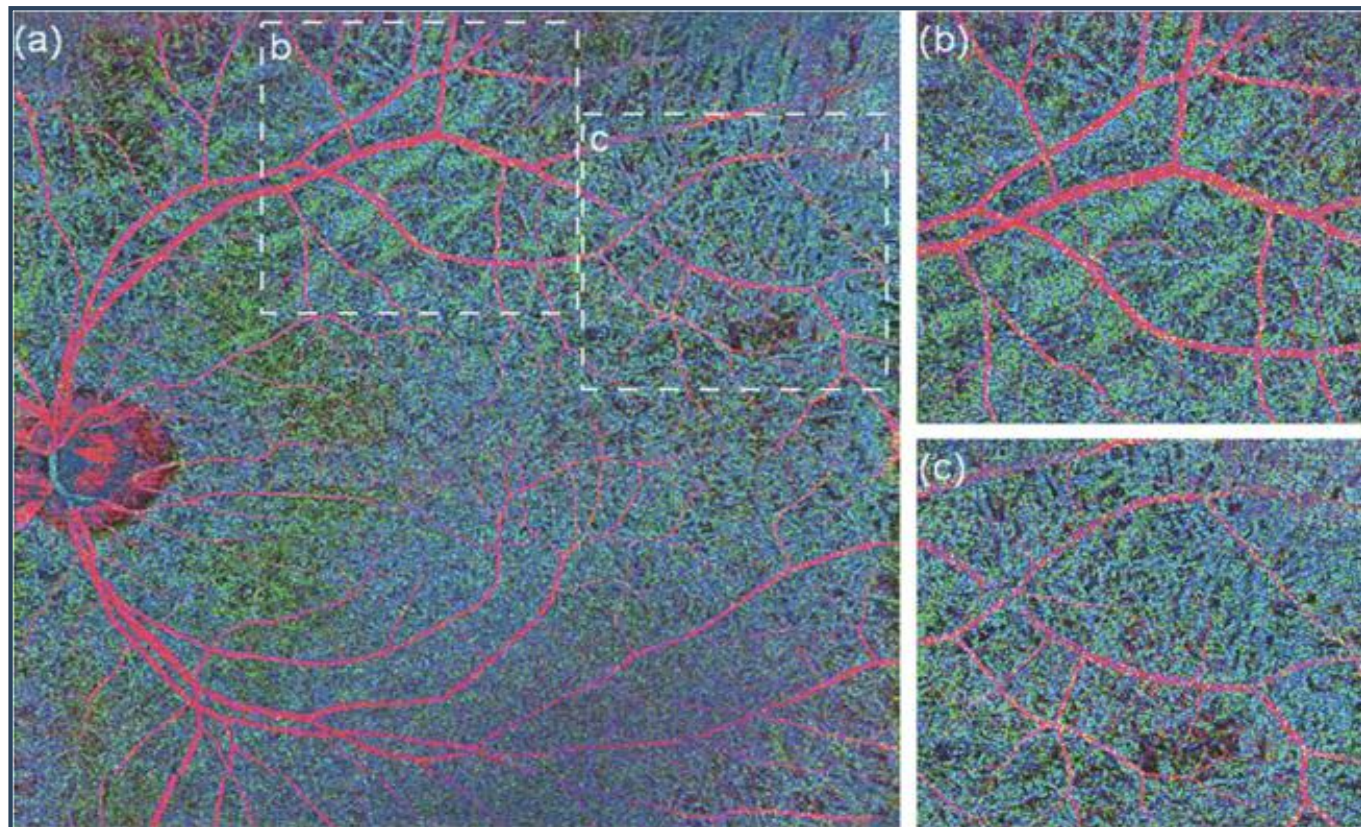


Fig. 5b - En-face color-coded della vascolarizzazione corio-retinica per 48° circa d'apertura angolare in a; zoom in b e c. (Cedric Blatter J. Biomed. Opt. July, 2012).

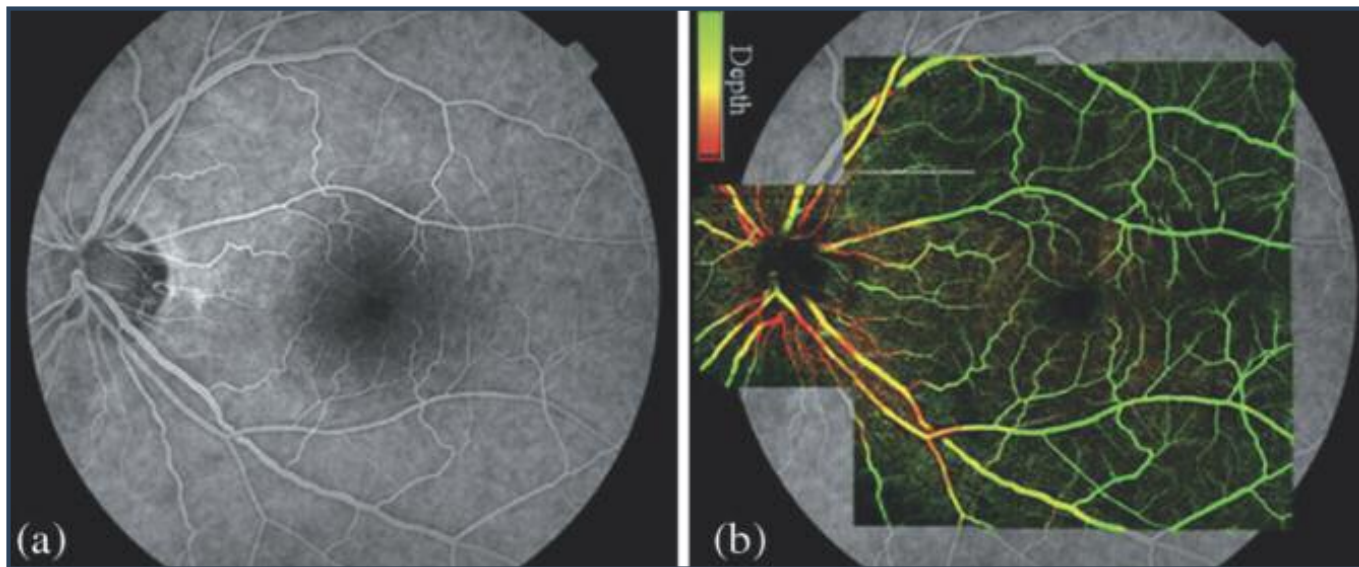


Fig. 6 - Immagine FA in (a) e PV-OCT di 10 riquadri sovrapposto a FA in (b). (Mohammad Sultan Mahmud).

nibilità e confrontabilità tra l'indagine OCTA dyeless e la fluoroangiografia/indocianina FA/ICGA [10]. Spaide et al. hanno confrontato e attentamente osservato la vascolarizzazione peripapillare con OCTA in 12 occhi normali. La sovrapponibilità nelle immagini tra FA/ICGA e OCTA dell'architettura dei plessi vascolari era evidente, con punti a favore dell'angio-OCT per i capillari peripapillari e quelli profondi, vantaggi riscontrati anche per la retina in altre ricerche [11] (Fig. 4). Questi studi, se da un lato avvalorano l'attendibilità dell'angio-OCT o addirittura ne tracciano una certa supremazia, dall'altro giustificano ulteriormente la marginalità diagnostica delle metodiche invasive. Le immagini wide-field, che tanto successo hanno nell'imaging oftalmologica FA/ICGA, com'è stato riferito, saranno presto possibili anche con gli OCTA (Fig. 5a, 5b).

La Zeiss ha sviluppato recentemente un software di montaggio automatico e indiretto delle singole immagini wide-field in modo veloce ed efficace, che potrebbe interessare anche agli OCTA [12]. A un simile risultato è arrivata anche la Heidelberg con un sistema ottico applicato agli SD-OCT Spectralis che permette di coprire un campo retinico di 105°, da equatore ad equatore [13,14] (Fig. 6).

Il montaggio indiretto delle immagini potrebbe superare il limite della risoluzione, permettendo di mettere insieme immagini 3mm x 3mm ad alta definizione. La novità della tecnologia dyeless, come riferito, è dovuta essenzialmente all'applicazione di algoritmi capaci di modificare l'imaging tomografica. La ricerca biomedica da più tempo si è dedicata all'elaborazione e modifica dei segnali biomedicali per migliorare i dati in uscita. Gli algoritmi matematici sono lo strumento per arrivare

a questo obiettivo, mentre l'informatica e l'elaborazione dei segnali elettromagnetici sono il terreno su cui questi modelli matematici agiscono con grandi performance se adeguatamente e opportunamente applicati.

L'algoritmo Split-Spectrum Amplitude-Decorrelation Angiography SSADA

Un *algoritmo* (ant. algorismo) è un procedimento di semplificazione matematica per la risoluzione di problemi complessi attraverso un numero finito di passaggi elementari. Il termine algoritmo deriva dalla trasformazione latina del nome del matematico persiano *al-Khwarizmi* (780-850dc circa), padre dell'algebra e dell'introduzione del numero zero. Gli algoritmi sono alla base dei calcoli complessi, indispensabili nella programmazione e nello sviluppo informatico dei software, specie nelle sequenze automatizzate. La definizione di Wikipedia ne riassume bene le caratteristiche: "Una sequenza ordinata e finita di passi (operazioni o istruzioni) elementari che conduce a un ben determinato risultato in un tempo finito" [15].

In definitiva sono processi di spaccettamento di operazioni complesse in forma più elementare come lo sono, del resto, i FEM Finite Element Method nel calcolo biomeccanico delle superfici a geometria variabile, più volte citati in altri miei articoli in questa Rivista. Il SSADA, algoritmo che permette la visualizzazione del flusso ematico retinico e del nervo ottico, superando gli ostacoli e i limiti dovuti al rumore (phase noise), è stato presentato per la prima volta al Congresso ESCRS di Londra nel settembre del 2014. Gli OCT Fourier domain, Spectral a 840nm e Swept-Source a 1050nm, pur essendo molto performanti rispetto ai Time domain,

$$X(f) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) \cdot e^{-j2\pi ft} dt$$

$$x(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} X(f) \cdot e^{+j2\pi ft} df$$

Fig. 7 - Trasformata di Fourier $X(f)$ nel dominio della frequenza e antitrasformata $x(t)$ nel dominio del tempo.

non consentono un'indagine flussimetrica diretta. Da più tempo studi e ricerche sono stati portati a termine allo scopo di cercare la visualizzazione dei plessi retinici senza ricorrere alla fluoroangiografia/indocianina, gold standard per uno studio dei vasi

neuro-retinici. Chen et al. nel 1997 descrivevano la possibilità non invasiva e dyeless di valutare il flusso ematico retinico con il Doppler OCT attraverso A-Scan line [16,17]. White B et al. evidenziavano i limiti di tale metodica, che permette di vedere solo i vasi di maggior calibro e con incidenza angolare critica, perpendicolare al beam dell'OCT [18]. Queste limitazioni del Doppler-OCT, accentuati dalla scarsa ripetibilità degli esami, hanno spinto verso soluzioni alternative, meno operatore-dipendente. Oltre al miglioramento della tecnologia tomografica, lo sviluppo dell'elaborazione del segnale digitale ha permesso di risolvere le molteplici difficoltà incontrate nel far emergere dal segnale di ritorno ciò che "si muove" da "ciò che sta fermo". Sono state trovate e provate nel corso degli studi varie soluzioni.

La trasformata di Hilbert (David Hilbert matematico tedesco 1862-1943) è stata utilizzata da Lin An e Rui-kang K Wang dal 2008 per l'elaborazione del segnale digitale, applicabile anche alla trasformata di Fourier [19]. Questi ricercatori per ottenere una valida microangiografia ottica dyeless hanno utilizzato l'algoritmo OMAG Optical Microangiography con la trasformata di Hilbert [20,21]. L'algoritmo SSADA, utilizzato dall'Optovue per RTx Avanti, ha permesso di identificare abbastanza facilmente il flusso ematico intravascolare utilizzando la trasformata di Fourier. La tecnologia applicata all'algoritmo OMAG è *Phase-based* mentre quella utilizzata dal SSADA è *Amplitude-based*.

Questi dettagli tecnici, apparentemente poco importanti per noi oculisti, sono essenziali per gli ingegneri informatici nel determinare la qualità finale dell'immagine. Gli studi sugli OCTA sono in costante accelerazione e tutte le case costruttrici promuovono studi per entrare in questo business [22,23]. I punti da migliorare, come avviene per ogni nuova tecnologia, sono molteplici: la

sfida tutta aperta è appena all'inizio. Un passo in avanti è l'ultimo modello di OCTA Topcon, il Triton (DRI OCT Triton/Triton Plus) che utilizza la tecnologia Swept Source, con informazioni più in profondità, utili per lo studio della coroide nelle patologie neovascolari e della lamina cribrosa nel glaucoma. I vantaggi che si ottengono con i tomografi a lunghezza d'onda di 1μ ($\sim 1050\text{nm}$; $1000\text{nm}=1\mu$) sono notevoli. Allo stato attuale i nuovi scenari diagnostici che si stanno aprendo sono solo in parte intuibili. Sicuramente la possibilità di scelta tra gli OCTA sarà, tra non molto, più ampia e articolata. La risposta tecnologica da parte delle altre case costruttrici già incominciata è solo all'inizio. Il Triton SS-OCT Topcon, oltre ad utilizzare una lunghezza d'onda a 1μ , ha una velocità di 100.000 A-Scan (100KHerz) al secondo. A breve anche la Zeiss uscirà con due OCTA, uno Spectral Domain della famiglia Cirrus implementato con un angio-algoritmo e un innovativo OCTA Swept-Source Phase Variance (PV-SSOCTA) con promettenti performance. La stessa Optovue affiancherà tra non molto al RTx-Avanti un OCTA a 1μ , lunghezza d'onda che rappresenta la nuova sfida tecnologica degli SD-OCT e degli OCTA in particolare.

Segnali elettromagnetici e trasformata di Fourier

Per capire come un algoritmo possa favorire l'imaging del flusso ematico retinico dyeless, bisogna chiarire alcune nozioni sulla teoria dei segnali elettromagnetici. Caratteristica di un segnale elettrico è la possibilità di trasmettere un'informazione, definita come funzione matematica nel tempo. La teoria dei segnali studia le proprietà matematiche e statistiche dei segnali e delle loro variazioni. In statistica per correlazione s'intende una relazione tra due variabili tale che a ciascun valore nella prima variabile corrisponda, con una "certa regolarità", un valore nella seconda (Wikipedia). La correlazione dei segnali è alla base degli algoritmi negli OCTA. Non si tratta di un semplice rapporto causa-effetto ma della relazione tra due variabili.

La *decorrelazione* (decorrelation) è un processo matematico utilizzato nell'elaborazione dei segnali per modificare l'*autocorrelazione* (comparazione del segnale con se stesso) o le *correlazioni incrociate* (cross-correlazioni, comparazione delle immagini nel tempo), al fine di preservare alcune caratteristiche ed esaltarle, come avviene per esempio con un filtro (sbiancamento). L'uso di algoritmi è indispensabile, tra l'altro, ai device biomedicali per la cosiddetta "registrazione d'immagini" (*image registration*). Questa tecnica è utilissima in radiologia (TAC e RMN) nelle ricostruzioni 3D, nel contrastare le modificazioni dovute alla respirazione e/o ai movimenti del corpo du-

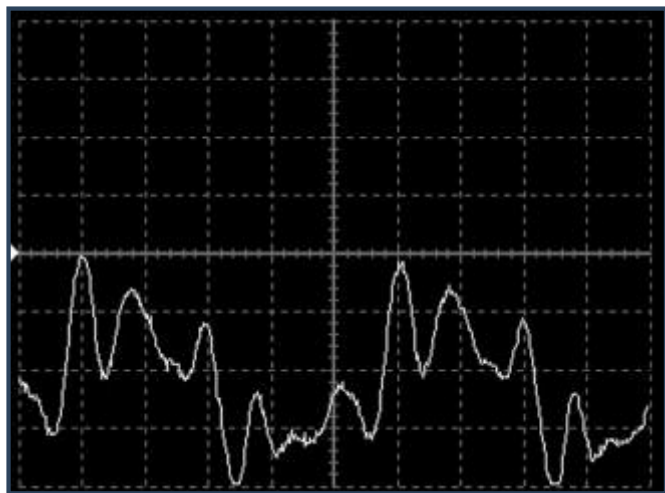


Fig. 8a - Nota "La" del clarinetto che varia nel dominio del tempo registrata con oscilloscopio (www.clarinet.it).

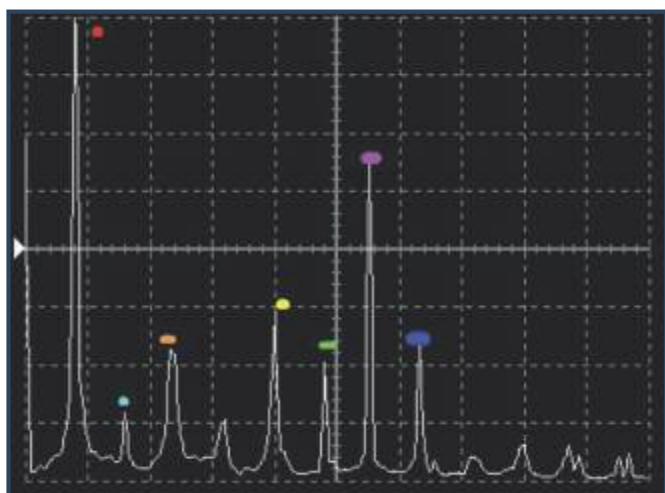


Fig. 8b - Nota "La" del clarinetto scomposta in sotto-onde nel dominio delle frequenze (www.clarinet.it).

rante l'esecuzione dell'esame e per poter utilmente confrontare le immagini nel tempo attraverso la sovrapposizione automatica di nuove scansioni ad altre di riferimento, strategia informatico-algoritmica denominata *co-registrazione multi-modale*[24].

Decorrelazione e co-registrazione spesso si sovrappongono e si sommano per aumentare la qualità finale nell'imaging. Esistono fondamentalmente due modi per acquisire immagini biomedicali: uno finalizzato ad avere informazioni strutturali/anatomiche, possibili ad alta risoluzione (Tomografia Computerizzata CT, Risonanza Magnetica MR), e un modo per ottenere informazioni funzionali, fruibili solo a più bassa risoluzione (PET Positron Emission Tomography, SPECT Single Photon Emission Computed Tomography, fMRI functional Magnetic Resonance Imaging). L'angio-OCT è da con-

siderarsi, con ogni diritto, una *Neuroimaging Funzionale (Functional Neuroimaging)*, tecnologia in grado di misurare il metabolismo cerebrale al fine di analizzare e studiare la relazione tra l'attività di determinate aree dell'encefalo e le sue specifiche funzioni. Da questo punto di vista l'oftalmologia arriva con un certo ritardo tecnologico. Considerate però le dimensioni tissutali d'analisi, si comprende bene che il gap temporale è più che giustificato[25]. Per visualizzare il flusso vascolare retinico e del nervo ottico, com'è stato anticipato, si possono utilizzare algoritmi che implementano la fase *Phase-based*, o l'ampiezza del segnale digitale *Amplitude-based*.

Gli algoritmi utilizzano a loro volta la trasformata di Fourier, che ha reso possibile, d'altra parte, il passaggio dalla tecnologia Time Domain (dominio del tempo) allo Spectral o Fourier Domain (dominio delle frequenze). L'utilizzo delle formule matematiche trovate e descritte dallo scienziato francese Jean Baptiste Fourier (Auxerre 1768 - Parigi 1830) sono, infatti, alla base dell'imaging in biomedicina e uno degli strumenti matematici più utilizzati nell'ambito delle scienze applicate in generale. Senza entrare troppo nel merito, questa formula (coppia di formule reversibili, trasformata e antitrasformata o trasformata inversa di Fourier) consente di scomporre un'onda sinusoidale complessa in onde più semplici e calcolarne le componenti, ampiezza, fase e frequenza. Applicando la trasformata di Fourier si passa dallo studiare il segnale (una funzione), dal dominio del tempo $x(t)$ al dominio della frequenza $X(f)$, misurabile in Hertz e denominata spettro delle frequenze (Fig. 7). Si seziona così l'onda nelle sue componenti, in modo che siano più facilmente caratterizzabili e determinabili (Fig. 8a, 8b). In sostanza anche la trasformata di Fourier, e la sua forma veloce FFT Fast Fourier Transform, sono processi matematici di semplificazione, indispensabili nell'elaborazione di segnali digitali[26].

Imaging funzionale Angio-OCT

Il SSDA è l'algoritmo di applicazione sviluppato da David Huang, Yali Jia e il gruppo del Casey Eye Institute (Portland Oregon) che l'Optovue ha applicato sullo Spectral Domain OCT RTVue XR Avanti (Optovue, Inc, Fremont, CA) primo OCTA in commercio a permettere la visione angiografica neuro-retinica in modo non invasivo e dyeless (brevetto WO 2014040070 A1, priorità 10 set 2012, David Huang et al.) [27].

Gli OCTA sono SD-OCT e SS-OCT che permettono di ottenere contemporaneamente imaging strutturali e funzionali evidenziando l'aspetto vascolare neuro-retinico tramite la decorrelazione del segnale. Questa iniziale fase di ripulitura tomografica effettuata dall'algoritmo permette l'identificazione delle riflettenze dovute al flus-

so non identiche, non statiche e in movimento a causa della circolazione ematica. Potremmo definire l'algoritmo SSADA come un procedimento matematico-digitale di sottrazione, decorrelazione digitale dei segnali statici, che restano invariati nel tempo, e di amplificazione dei segnali dinamici, in movimento e variabili nel tempo (segnale di flusso). Per amplificare e rilevare in modo iconograficamente accettabile la riflettività dinamica, l'algoritmo ha necessità che il supporto tecnologico del device operi in bande spettrali a bassa risoluzione e con scansioni veloci.

Per decorrelare e ottimizzare il SNR i tempi d'acquisizione di un angiogramma funzionale sono inevitabilmente più lunghi di un tomogramma strutturale tradizionale. Questo limite è ora oggetto di studio per essere migliorato. Ci sono ricerche in fase molto avanzata che fanno prevedere tempi d'acquisizione molto più rapidi degli attuali 14 secondi, fino a 2-4 secondi, con vantaggio per gli artefatti da movimento del bulbo e per la pulsazione corio-retinica.

Gli algoritmi SSADA e OMAG portano allo stesso risultato ottenendo una visualizzazione finale bi-tridimensionale della vascolarizzazione neuro-corio-retinica (network), dove invece il Doppler-OCT è limitato alla sola dimensione assiale dei grossi vasi. Dai dati finora a disposizione l'algoritmo SSADA sembra offrire migliori performance d'imaging rispetto all'algoritmo OMAG [28]. I percorsi di miglioramento dei due algoritmi sono ancora, però, solo all'inizio, ed è prematuro dare un giudizio definitivo sulla loro effettiva applicabilità. Inoltre sono in arrivo OCTA Phase Variance che offrono ottimi risultati decorrelando la fase del segnale piuttosto che l'ampiezza.

Lo sviluppo tecnologico degli OCTA, come s'intuisce, è solo all'inizio e altre novità sono in cantiere, con migliore qualità e più alta definizione.

Fluoroangiografia e OCTA

Per comprendere pienamente le nuove possibilità di diagnosi degli OCTA, evidenziati sommariamente i principi fisici e il ruolo degli algoritmi, è necessario precisare le caratteristiche più importanti di questi device. Il confronto con la FA è spontaneo, immediato e inevitabile, anche se l'approccio tecnologico tra le due metodiche è assolutamente diverso e, per molti versi, antitetico, così come differente è la lettura complessiva dei risultati. La FA, ancora gold standard per le diagnosi vascolari corio-retiniche, è un esame invasivo di superficie full thickness, a tutto spessore.

Con l'indocianina si arriva fino in coroide ma gli strati neuro-retinici restano indagati in modo sovrapposto, le lesioni di uno strato sono viste in modo non selettivo,

a volte confuso, senza poter individuare realmente l'esatta posizione della lesione, cioè l'off-set. In angio-OCT il segnale che emerge è dovuto solo al flusso ematico ed è il frutto dei *voxel di movimento* filtrati dai *pixel statici* bidimensionali presenti nelle scansioni veloci riunite in sequenze spettrali (4 o 5 spettri). Ogni spettro è elaborato dall'algoritmo che *pulisce e decorrela* ogni segnale dalla staticità strutturale, dagli speckles, le ombreggiature, uguali nel tempo, per rilevare i segnali variabili, indice di flusso (speckle variance optical coherence tomography) [29].

Il network vascolare che emerge può essere visto in modalità en face oppure cross sectional (b-scan sul piano assiale), entrambi necessari per una piena valutazione vascolare angio-OCT. Esistono naturalmente dei limiti di sensibilità perché un segnale possa essere decorrelato e visto come flusso.

L'angio-OCT non fornisce dati diretti sulla velocità dei flussi ma può indicare e studiare l'indice di flusso nei tessuti indagati, molto utile nelle membrane neovascolari e nel glaucoma. Esiste un range al di sopra e al di sotto del quale flussi troppo lenti o troppo veloci non possono essere decorrelati. Altra non secondaria differenza con la FA è che l'angio-OCT è un esame vascolare che può essere anche tridimensionale, mentre la fluoro resta un esame di superficie. L'angio dyeless permette inoltre di individuare i vasi senza sfuocature o mascheramenti per staining o pooling, come a volte avviene in FA. Naturalmente il SSADA da solo non funzionerebbe senza un insieme di tecnologie di supporto. Nell'OCTA RTx Avanti Optovue coesistono:

- *Fast spectral-domain OCT (70,000 A-scans/sec);*
- *Patented Motion Correction Technology (MCT);*
- *Patented Split Spectrum Amplitude Decorrelation Angiography (SSADA);*
- *CUDA parallel processing architecture;*
- *Patented enface visualization of 3D OCT data.*

Il MCT, elaborato in stretta collaborazione con il MIT Massachusetts Institute of Technology, è un algoritmo utilizzato per rimuovere gli artefatti dovuti ai movimenti bulbari dai dati acquisiti in 3D, mentre il CUDA è utile per ridurre drasticamente i tempi per eseguire al meglio tali correzioni [30]. Entrambi concorrono a migliorare e rendere visibili gli strati retinici singolarmente e individuare le lesioni vascolari nel contesto del tessuto. Nonostante l'enorme successo che sta avendo questa nuova tecnologia, l'Angiovue, diversamente che per Europa e Asia, non ha ancora ottenuto l'approvazione in USA dalla FDA, Food and Drug Administration [510(k) pending].

Ultimate Goal e considerazioni finali

Un sistema SD-OCT è intrinsecamente più sensibile di un TD-OCT di un fattore N/2. Il sistema Swept Source SS-OCT offre il vantaggio, rispetto agli SD-OCT a 840nm, di impiegare intervalli di lunghezza d'onda tra 1000 e 1300 nm. Queste lunghezze d'onda permettono d'indagare più in profondità e arrivare alla corio-capillare, alla coroide e alla lamina cribrosa, oltre a consentire una migliore e più completa visione del segmento anteriore.

Le scansioni SS-OCT rispetto allo SD-OCT sono invisibili al paziente, con diminuzione degli artefatti da fissazione e la velocità d'acquisizione si raddoppia nelle B-scan (da 0,02 a 0,01 secondi), vantaggio che è ancora più utile in 3D (da 1,9 a 0,9 secondi)[31]. Gli OCTA sono nati come SD-OCT, ma sono già prenotabili OCTA SS-OCT che utilizzano interferometri a frequenza ciclica ad alta performance. La velocità delle scansioni è una qualità del ciclo del laser.

Si è passati da 19.000 A-Scan a 115000, fino a 580.000

A-Scan al secondo[32,33]. John S. Werner, dell'Università della California (Davis) sta lavorando ad una combinazione di Phase-Variance OCTA e Ottiche Adattive AO con ulteriori straordinarie performance di risoluzione[34]. I costi sono il limite da superare perché tanta tecnologia sia commercialmente disponibile.

Il compromesso tra mercato e ricerca è sempre il più difficile e severo.

L'evoluzione degli OCTA come intuibile è solo all'inizio, affascinante e, per molti versi, rivoluzionaria. La celebre frase di Galileo Galilei "*Misura ciò che è misurabile, e rendi misurabile ciò che non lo è*" più di altre rende evidente l'enorme sforzo tecnologico che sta avvenendo sotto i nostri occhi, l'invisibile che ora è diventato visibile.

Essere testimone di tale sviluppo ci rende protagonisti privilegiati, troppo spesso inconsapevoli. A noi il compito e l'onere di affrontare queste nuove sfide con crescente coraggio, rinnovato impegno e piena consapevolezza. ■

BIBLIOGRAFIA & SITIGRAFIA

- 1) Paul Kumar Upputuri, Kathyayini Sivasubramanian, Chong Seow Khoon Mark, Manojit Pramanik. Recent Developments in Vascular Imaging Techniques in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. BioMed Research International. Volume 2015 (2015), Article ID 783983, 9 pages.
- 2) <http://en.wikipedia.org/wiki/Voxel>
- 3) Luigi Cei. Tecniche di Tomografia Computerizzata e di Risonanza Magnetica, II edizione, SEU, 2011.
- 4) Kim DY, Fingler J, Zawadzki RJ, Park SS, Morse LS, Schwartz DM, et al. Optical Imaging of the chorioretinal vasculature in the living human eye. Proc Natl Acad Sci.2013;110:14354-9.
- 5) Choi W, Mohler KJ, Potsaid B, Lu CD, Liu JJ, Jayaraman V, et al. Choriocapillaris and Choroidal Microvasculature Imaging with Ultrahigh Speed OCT Angiography. Plos One. 2013;8:e81499.
- 6) Schwartz DM, Fingler J, Kim DY, Zawadzki RJ, Morse LS, Park SS, et al. Phase-variance optical coherence tomography: a technique for noninvasive angiography. Ophthalmology. 2014;121:180-7.
- 7) P. Karpur, P.M. Shankar, J.L. Rose, V.L. Newhouse. Spilt spectrum processing: optimizing the processing parameters using minimization. Ultrasonic, vol. 26 Juli, pp 204-209,1987.
- 8) Bruno Lumbroso, David Huang, Yali Jia, James G Fujimoto, Marco Rispoli. Guida Pratica all'Angio-OCT.FGE Editore 2014. Choi W, Mohler KJ, Potsaid B, Lu CD, Liu JJ, Jayaraman V, et al.
- 9) Choi W, Mohler KJ, Potsaid B, Lu CD, Liu JJ, Jayaraman V, et al. Choriocapillaris and Choroidal Microvasculature Imaging with Ultrahigh Speed OCT Angiography. Plos One. 2013;8:e81499.
- 10) Matsunaga D, Puliafito CA, Kashani AH. OCT Angiography in Healthy Human Subjects. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina. 2014;45(6):510-5.
- 11) Spaide RF, Klancnik JM, Cooney MJ. Retinal Vascular Layers Imaged by Fluorescein Angiography and Optical Coherence Tomography Angiography.JAMA Ophthalmol. 2014.
- 12) Talisa E de Carlo, Andre Romano, Nadia K Waheed, Jay S Duker. A review of optical coherence tomography angiography (OCTA). International Journal of Retina and Vitreous. 2015.
- 13) Mark Espina, Giulio Barteselli, Feiyan Ma, Cheryl A. Arcinue, Natalia Camacho, William R. Freeman, Dirk-Uwe G. Bartsch. Noncontact Ultra-wide field Lens system by Heidelberg Spectralis. Jacobs Retina Center, UCSD, La jolla, CA. ARVO 2014 Annual Meeting Abstracts.
- 14) Francesca Gilardoni, Francesco Pichi, Francesco Bonsignore, Paolo Nucci. WIDE-FIELD SPECTRAL-DOMAIN OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY. San Giuseppe hospital, Milano, Italy. ARVO 2014.
- 15) Robert Sedgewick. Algoritmi in C ++. Addison-Wesley. ISBN 88-7192-153-4.
- 16) Chen Z, Milner TE, Srinivas S, Wang X, Malekafzali A, van Gemert MJC, Nelson JS. Noninvasive imaging of in vivo blood flow velocity using optical Doppler tomography. Opt. Lett. 1997; 22(14): 1119-1121. [PubMed: 18185770].

segue >>>

<•• segue

- 17) Leitgeb R, Schmetterer L, Drexler W, Fercher A, Zawadzki R, Bajraszewski T. Real-time assessment of retinal blood flow with ultrafast acquisition by color Doppler Fourier domain optical coherence tomography. *Opt. Express*. 2003; 11(23):3116–3121. [PubMed: 19471434].
- 18) White B, Pierce M, Nassif N, Cense B, Park B, Tearney G, Bouma B, Chen T, de Boer J. In vivo dynamic human retinal blood flow imaging using ultra-high-speed spectral domain optical coherence tomography. *Opt. Express*. 2003; 11(25):3490–3497. [PubMed: 19471483].
- 19) Lin An and Ruikang K Wang. In vivo volumetric imaging of vascular perfusion within human retina and choroids with optical micro-angiography. *Opt. Express*. 2008; 16(15):11438–11452. [PubMed: 18648464].
- 20) Wang RK, An L. Multifunctional imaging of human retina and choroid with 1050-nm spectral domain optical coherence tomography at 92-kHz line scan rate. *J. Biomed. Opt.* 2011; 16(5) 050503.
- 21) Ruikang K Wang. Optical Microangiography: A Label Free 3D Imaging Technology to Visualize and Quantify Blood Circulations within Tissue Beds in vivo. *IEEE J Sel Top Quantum Electron*. 2010 May.
- 22) Tsai MT, Chi TT, Liu HL, Chang FY, Yang CH, Lee CK, Yang CC. Microvascular imaging using swept-source optical coherence tomography with single-channel acquisition. *Appl. Phys. Express*. 2011; 4(9) 097001.
- 23) Jason Tokayer, Yali Jia, Al-Hafeez Dhalla, David Huang. Blood flow velocity quantification using split spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2013 Sep 3;4(10):1909-24.
- 24) Richard Szeliski. *Image Alignment and Stitching: A Tutorial*. Foundations and Trends in Computer Graphics and Computer Vision, 2:1-104, 2006.
- 25) Mario Esposito. Tesi di Dottorato di Ricerca in Scienze Computazionali ed Informatiche, Ciclo XXII, Università di Salerno, Sede Amministrativa Università degli Studi di Napoli Federico II. Il problema della co-registrazione di immagini biomedicali e sue applicazioni nell'ambito radiologico e diagnostico. 2009.
- 26) Maria Laura Manca, Luigi Murri. Fourier ed il ruolo della sua trasformata nella ricerca neurologica. Dipartimento di Neuroscienze, Università di Pisa.
- 27) Jason Tokayer, Yali Jia, Al-Hafeez Dhalla, David Huang. Blood flow velocity quantification using split spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography. *Biomedical Optics Express Vol. 4, Issue 10*, pp. 1909-1924. 2013.
- 28) Ruikang K Wang. Optical Microangiography: A Label Free 3D Imaging Technology to Visualize and Quantify Blood Circulations within Tissue Beds in vivo. *IEEE J Sel Top Quantum Electron*. 2010 May ; 16(3): 545–554.
- 29) Hansford C. Hendargo, Rolando Estrada, Stephanie J. Chiu, Carlo Tomasi, Sina Farsiu, Joseph A. Izatt. Automated non-rigid registration and mosaicking for robust imaging of distinct retinal capillary beds using speckle variance optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2013 May 7;4(6):803-21.
- 30) www.haagstreituk.com/angiovue.
- 31) Filippo Giovannini. Tomografia a coerenza ottica: principi di funzionamento, studio della tecnologia ed applicazioni nel settore clinico. Anno Accademico 2011-2012, Ingegneria Clinica. ALMA Mater Studiorum, Università di Bologna, sede di Cesena. Seconda Facoltà di Ingegneria con Sede a Cesena. Tesi Universitaria.
- 32) Yun SH, Tearney GJ, Bouma BE, Park BH, de Boer JF. High-speed spectral-domain optical coherence tomography at 1.3 μm wavelength. *Optical Express*. 2003; 11(26):3598-604.
- 33) Grulkowski I, Liu JJ, Potsaid B, Jayaraman V, Lu CD, Jiang J, Cable AE, Duker JS, Fujimoto JG. Retinal, anterior segment and full eye imaging using ultrahigh speed swept source OCT with vertical-cavity surface emitting lasers. *Biomed Opt Express*. 2012 Nov 1;3(11):2733-51.
- 34) https://nei.nih.gov/news/briefs/eye_tech.