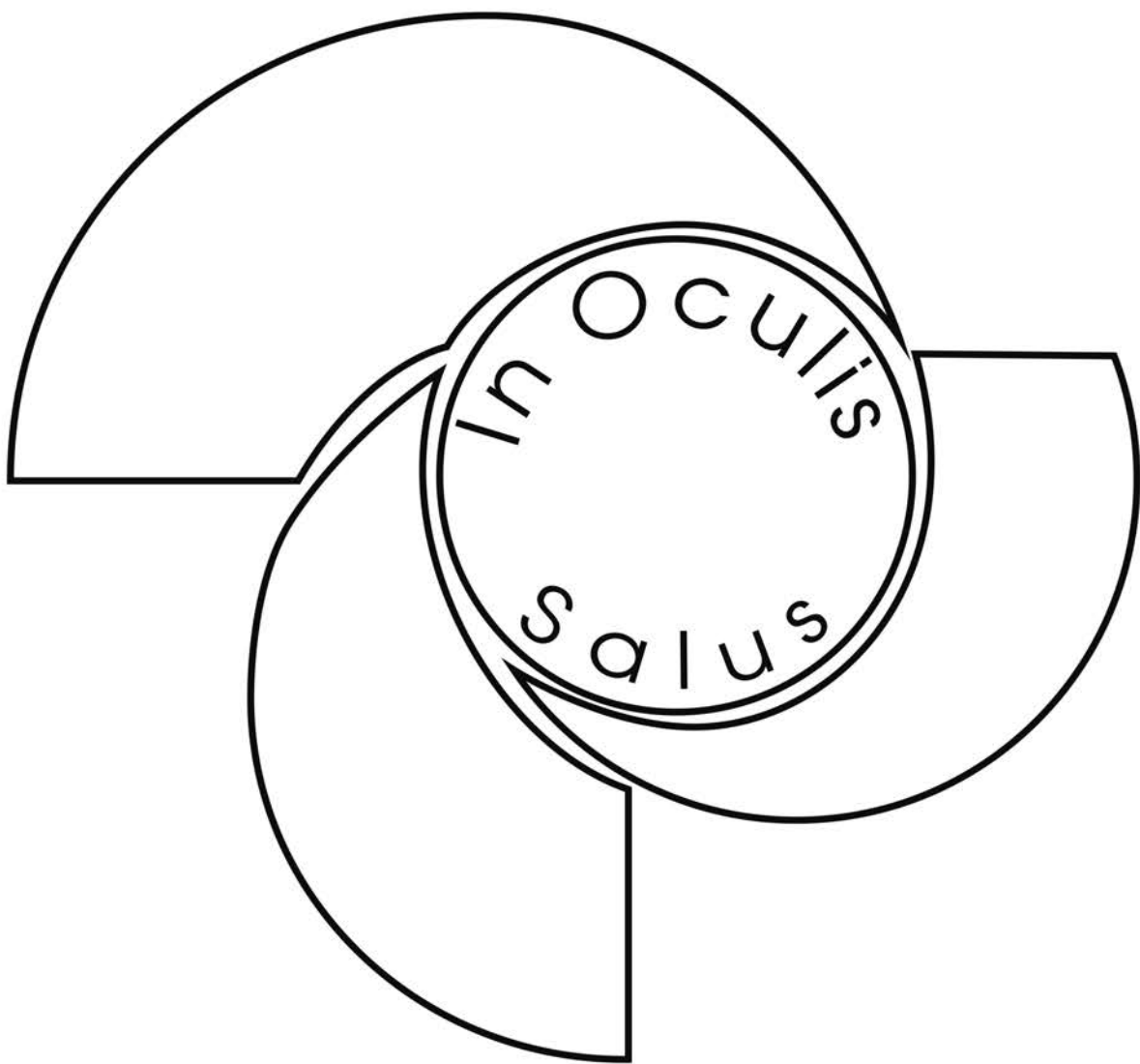


Amedeo Lucente

**ARGOMENTI DI DIAGNOSTICA STRUMENTALE
E OFTALMOLOGIA CLINICA**



“Fortis cadere, cedere non potest”

A mia moglie, ai miei figli

INDICE

Prefazione	pag. 9
Introduzione	» 11
Capitolo 1 - La tonometria ed i tonometri	» 15
Capitolo 2 - L'endotelio nell'imaging corneale	» 23
Capitolo 3 - EPR e l'imaging retinico	» 33
Capitolo 4 - L'angolo camerulare	» 43
Capitolo 5 - Le fibre ottiche retiniche	» 57
Capitolo 6 - Il dolore della regione orbitaria di origine non bulbare	» 69
Capitolo 7 - OCT e glaucoma	» 81
Capitolo 8 - Edema maculare diabetico	» 93
Capitolo 9 - Glaucoma tra struttura e funzione	» 105
Capitolo 10 - La lamina cribrosa: imaging e biomeccanica	» 117
Capitolo 11 - Imaging in oftalmologia: principi di fisica e prospettive future	» 127
Capitolo 12 - Capsulotomia Nd: YAG laser	» 139
Capitolo 13 - La tonometria biomeccanica	» 149
Capitolo 14 - Angio-OCT in progress	» 159
Capitolo 15 - Angio-OCTe glaucoma	» 171
Capitolo 16 - EPR e AMD	» 187
Capitolo 17 - Foro retinico periferico gigante: consensus conference	» 199
Capitolo 18 - Evoluzione della fotografia retinica e imaging widefield	» 211
Capitolo 19 - Retinopatia diabetica: overview, new imaging e prospettive future	» 225
Capitolo 20 - Widefield imaging e intelligenza artificiale	» 239
Capitolo 21 - La luce e gli effetti dannosi sulla retina	» 253
Capitolo 22 - OCT/OCTA: imaging del glaucoma in macula	» 267
Capitolo 23 - Biomarkers e spessore retinico	» 281
Capitolo 24 - Cellule retiniche della glia e membrana limitante interna	» 293

PREFAZIONE

Ho conosciuto ed apprezzato Amedeo Lucente diversi anni fa attraverso la lettura di alcuni suoi articoli scientifici. Mi era stato segnalato da un amico comune, Costantino Bianchi, Oftalmologo e Giornalista di prima grandezza. Di Amedeo aveva detto *“Guardiamolo con attenzione, è un professionista che ha voglia di lavorare, possiede grande intuito ed ottime idee innovative: proiettato nel futuro sa esprimere il proprio pensiero con semplicità”*. Gli articoli scientifici che leggerete in questo manoscritto sono la testimonianza di quanto aveva detto Costantino. Ricerca, novità scientifica, didattica emergono in maniera semplice e chiara, attraverso un percorso di crescita che evidenzia ordine mentale e maturità professionale. Opera dedicata agli specializzandi ed ai giovani oculisti, sarà a mio parere molto utile anche per oftalmologi professionalmente navigati, interessati ad argomenti di diagnostica strumentale e clinica non sempre trattati, a dire il vero, con finalità didattiche.

Buona lettura

Antonello Rapisarda

INTRODUZIONE

L'idea di raccogliere in un libro alcuni articoli di diagnostica strumentale e oftalmologia clinica, è scaturita dall'esigenza di offrire un testo di facile consultazione, comodo per lo studio, rivolto principalmente ai giovani, ma anche ai colleghi che, pur esperti nella professione, sentono l'esigenza di approfondire, di rileggere e meditare argomenti di recente ribalta e altri ancora in discussione, che in modo compiuto sono reperibili con difficoltà in letteratura.

La trattazione non sistematica dei temi esposti evidenzia l'interesse non settoriale e, nello stesso tempo, il filo conduttore comune, lo spirito che mi ha mosso nella stesura di ogni capitolo: dare risposte, per quanto possibile chiare, con riferimenti di letteratura puntuali, offrire personali deduzioni, esporre considerazioni che provengono dall'esperienza professionale e dallo studio della bibliografia dei temi affrontati.

Gli articoli iniziano spesso con riferimenti storici propedeutici, e proseguono con elementi di diagnostica strumentale, senza trascurare tematiche di più largo respiro. Tra i capitoli, particolare rilievo assume la *"Consensus Conference"*: che ho aperto sulla possibile terapia di un foro retinico periferico gigante di insolita osservazione.

Dopo la descrizione del caso e le opportune considerazioni fisiopatologiche, si è avviata la richiesta a colleghi particolarmente esperti di intervenire per esporre e confrontare diverse opinioni. Tutte le risposte e le prese di posizione pervenute sono state fedelmente riportate nell'obiettivo di tracciare, nei limiti del possibile, linee guida in casi così controversi.

Se i temi retinici, il glaucoma, gli OCT e l'imaging sono di primo piano, argomenti a torto ritenuti secondari, come la *"Capsulotomia Nd:YAG Laser"*, comunque trovano uguale dignità scientifica.

Il mio intento è essenzialmente didattico. L'inclinazione per la fisica applicata alla tecnologia mi ha aiutato ad entrare nei segreti dei device, nelle loro caratteristiche meno conosciute.

Così è successo in *"Evoluzione della fotografia retinica e Imaging Widefield"*, tema inedito e poco conosciuto fino qualche anno fa.

Le immagini retiniche ad ampio campo generano confusione nella comprensione del FoV, Field of View, e sulle metodiche utilizzate per determinare l'apertura angolare fotografabile. Le norme ISO 10940 (International Organization for Standardization) non sono infatti adeguate nell'ultra-widefield imaging. Derogare a tali norme si è reso perciò necessario per misurare l'area angolare che oltrepassa l'equatore bulbare.

L'incipit, in questo caso, parte dall'acquisto di un nuovo device, con tecnologia tutta da scoprire ed immagini nuove da interpretare.

In alcune occasioni, come in *"Biomarkers & Spessore Retinico"*, ho affrontato una tematica insolita, un percorso sconosciuto, se non si consultano gli articoli censiti su Pub Med.

In “EPR e AMO” si parte invece da nozioni consolidate per intravedere un futuro probabile, un’evoluzione dell’imaging possibile che attende solo di essere conosciuta ed utilmente percorsa. Le ottiche adattive permettono infatti, se implementate alla tomografia, una visione cellulare degli strati retinici.

Altre volte, temi precedentemente trattati, sono ripresi e rielaborati alla luce di nuove conoscenze. È il caso di “*Widefield Imaging e Intelligenza Artificiale*”, in cui l’intelligenza artificiale introdotta nel background culturale della fotografia retinica ad ampio campo permette nuove conoscenze e favorevoli sviluppi.

Lo studio sullo spessore corneale come indice del valore tonometrico ha portato nuove conoscenze e al commercio di nuovi strumenti. Su questa tematica si inoltrano gli articoli “*La Tonometria ed i Tonometri*” e “*La tonometria biomeccanica*”, particolarmente cari. Il “*Glaucoma tra struttura e funzione*” parte da queste considerazioni per continuare il percorso qualitativo nella clinica e management del glaucoma.

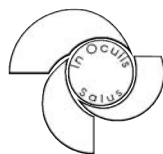
Il rapporto tra il dato strutturale e quello funzionale merita una lettura sempre attenta dei dati, ulteriori approfondimenti, una nuova visione nella valutazione del danno gangliare retinico. Gli OCT/OCTA permettono questa visione e di individuare le alterazioni strutturali in assenza di deficit al campo visivo.

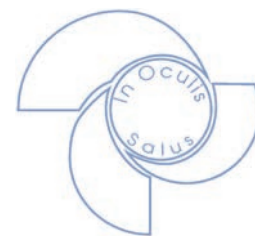
L’auspicio è che questo manoscritto trovi buone risponderne, generi positivi sentimenti verso la ricerca, sia foriero di ulteriori studi.

Con queste speranze vi auguro buona lettura.

Amedeo Lucente

ARGOMENTI DI DIAGNOSTICA STRUMENTALE E OFTALMOLOGIA CLINICA





CAPITOLO 1

LA TONOMETRIA ED I TONOMETRI

Il tono oculare è il fattore di rischio più importante nella malattia glaucomatosa. La modalità della sua misurazione ha interessato negli ultimi decenni molti ricercatori e numerosi strumenti sono stati proposti dalle industrie per migliorare l'attendibilità del dato tonometrico rilevato.

Trascurando gli albori della tonometria, in tempi moderni, tutto inizia con gli studi di Goldmann e l'introduzione nel 1957 del suo tonometro ad applanazione, considerato, ancora oggi, gold standard nella misurazione del tono oculare, il più diffuso tra i tonometri nella pratica oftalmologica mondiale [1] (**fig. 1**).



Fig.1 - AT 900 D Goldmann con Display digitale e scarto di 0.1 mmHg

Dopo i molti lavori scientifici sulla tonometria apparsi negli anni sessanta, e dopo gli studi di Ehlers del 1975, che evidenziavano la possibilità di errore del tonometro ad applanazione per differenti spessori corneali, limiti del resto

già valutati dallo stesso Goldmann, che ne limitava la validità per pachimetrie intorno ai 520 micron, bisogna attendere il 2002, con l'uscita dei risultati dell'OHTS, per avere una più decisiva ripresa dell'interesse scientifico sul tono e sui tonometri [2,3].

L'Ocular Hypertension Treatment Study (OHTS), che ha interessato 1636 pazienti ipertesi oculari seguiti per 5 anni negli Stati Uniti, ha studiato i vari fattori di rischio nei pazienti ipertesi oculari, con tono iniziale tra 22 e 32 mmHg. Una metà dei pazienti è stata trattata ed un'altra metà solo osservata. Dopo 5 anni 86% dell'intero campione rimaneva sano, mentre il restante 14% presentava segni di glaucoma. In quest'ultimo gruppo un 4.5% apparteneva ai pazienti trattati con ipotensivi oculari, mentre l'altro 9.5% apparteneva a quelli non trattati. L'importanza di iniziare una terapia nell'ipertensione oculare si evince chiaramente dal raddoppio numerico dei pazienti con danni glau-

comatosi tra i non trattati rispetto ai trattati (9.5% contro il 4.5%) [4].

Tra i vari fattori di rischio che causano il viraggio verso la malattia glaucomatosa è emerso anche lo spessore corneale.

Gli altri fattori di rischio rilevati da questo studio sono stati l'età, la PSD del Campo Visivo Humphrey, il rapporto Cup/Disk orizzontale/verticale del disco ottico ed il tono oculare, già conosciuti da tempo, evidenziati anche in altre ricerche e studi.

Lo spessore corneale non era mai stato considerato come fattore di rischio prima di questo studio multicentrico e, in ogni caso, dimenticato nella pratica clinica come possibile causa di confondimento nella tonometria. In particolare l'OHTS ha rilevato che per ogni 40 micron d'assottigliamento corneale esiste il 71% in più di possibilità nell'avere danni al nervo ottico, a parità di valori tonometrici e per gli stessi periodi d'osservazione [4].

Nella mia esperienza clinica, con l'esclusione della miopia elevata, raramente ho riscontrato glaucomi progressivi e terminali con spessori corneali sopra i 600 micron nell'ambito del glaucoma cronico ad angolo aperto.

La coincidenza di spessori corneali bassi e glaucomi gravi e, viceversa, spessori alti con poche conseguenze dannose con ipertoni anche duraturi, prescindendo dal capitolo discusso e controverso dei glaucomi normotensivi, ha fatto pensare che lo spessore elevato potesse essere un fattore, in qualche modo, di protezione, influenzando positivamente la resistenza della lamina cribrosa papillare, forse perché meno cedevole e maggiormente protettiva per gli assoni visivi.

Del resto sia la cornea sia la lamina cribrosa sono costituite da tessuto connettivo della stessa provenienza embriologica.

I risultati dell'OHTS hanno quindi ripresentato il problema dello spessore come causa d'errore strumentale, facendo riflettere sull'attendibilità del dato tonometrico rilevato, con un rinnovato interesse scientifico per le sue modalità d'acquisizione.

Dopo questo importante studio, infatti, numerose sono state le risposte industriali per ovviare alle variazioni che lo spessore corneale può apportare al valore della tonometria ad applanazione.

In una mia ricerca sul rapporto tono e spessore si evince una relazione di dipendenza tra questi due parametri, caratterizzata da una retta di regressione che traccia un rapporto di correlazione R^2 del 27% (R^2 = misura statistica dell'attendibilità della relazione lineare tra i valori X e Y). Tale correlazione trovata con il metodo statistico dei minimi quadrati, indica che il valore pachimetrico individuale può determinare una variazione del tono rilevato del 27%. Si dovrebbe quindi correggere il valore tonometrico di 0.56 mmHg ogni 10 micron di variazione, rispetto al valore medio pachimetrico, che è nel campione testato di 554 micron (tab. 1) [5].

Tale studio, effettuato tra il 2001 e il 2003 su 514 pazienti sani all'osservatore, si proponeva di verificare come lo spessore corneale potesse influenzare le variazioni tonometriche rilevate, con particolare riguardo agli ipertesi oculari ed ai pazienti con toni bassi. Il valore di correzione di 0.56 mmHg/10micron, che ha un andamento lineare, cambia il suo decorso rettilineo agli estremi della retta di regressione, per valori sotto i 490 e sopra i 590 micron, per assumere un andamento quasi iperbolico, in discesa per valori bassi ed in salita per valori alti di pachimetria.

Questo significa che lo spessore corneale determina sopra questi valori scostamenti dal tono rilevato non più costanti ma esponenziali [5].

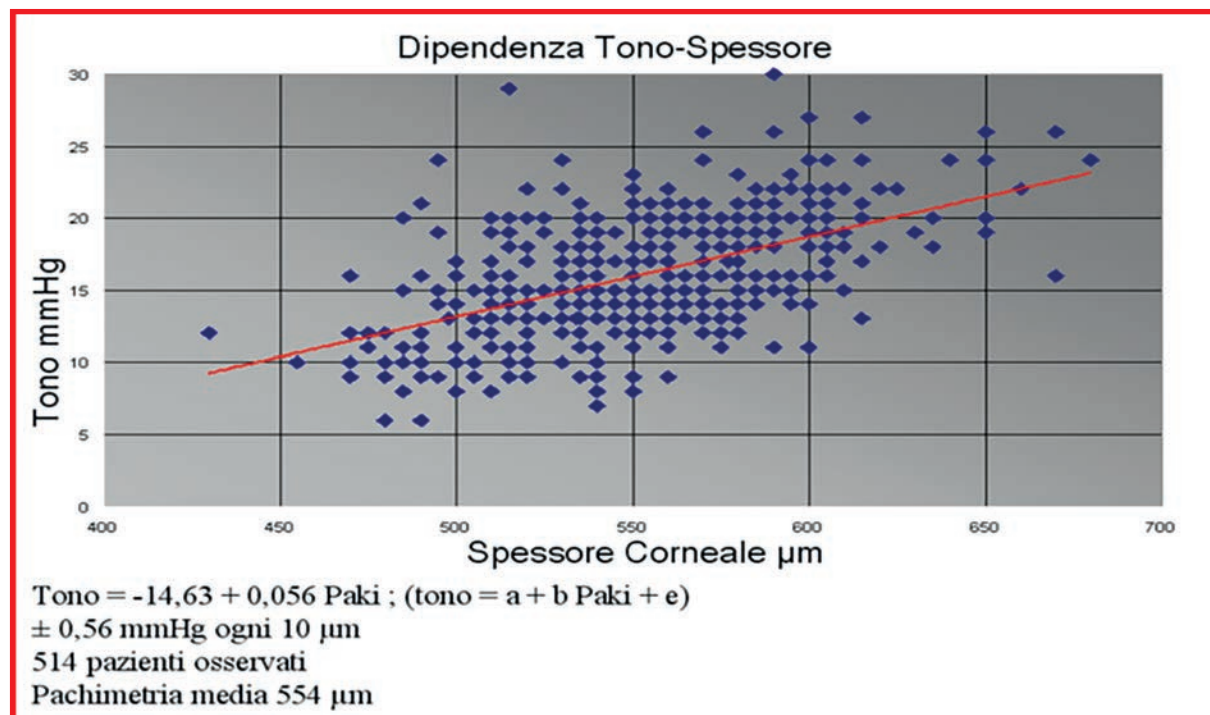
Questi concetti sono stati confermati da molti altri autorevoli studi. Valori di aggiustamento simili sono stati proposti da più parti, con numerose tavole di conversione, prima tra tutte, l'abaco di Ehlers del 1975, che rapportava il tono allo spessore con una dipendenza di 0.7 mmHg ogni 10 micron di variazione dai 520 micron, media di riferimento del suo studio [2,3] (tab. 2).

Una prima concreta proposta dell'industria al rapporto tono-spessore è stata la messa in mercato con il tonometro Pascal che, con una superficie d'appoggio conforme alla curvatura del profilo corneale, ha dato una prima risposta concreta alla dipendenza tono-spessore (fig. 2).

Il profilo modellato del tip cilindrico che tocca la cornea nel Pascal presenta, al centro, un sensore piezoelettrico di pressione, che rileva la IOP con un segnale proporzionale ai rilievi tensivi rilevati. Alcuni studi hanno dimostrato che la sua superficie di contatto si conforma a quella corneale, con buona corrispondenza alla variabilità delle curvature corneali mediamente esistenti in natura.

Questa tonometria ha, quindi, caratteristiche dinamiche, per l'aderenza del sensore al profilo corneale (Dinamic Contour Tonometry, DTC), con un'indiretta valutazione della pulsazione cardiaca.

La sua punta trasparente consente una buona visione all'esaminatore, mentre un segnale acu-



Tab.1 - Rapporto Tono-Spessore.

Abaco di Ehlers					
T	10	15	20	25	30
0,450	4,2	4,7	5,2	5,7	6,2
0,460	3,5	4,0	4,4	4,8	5,3
0,470	2,9	3,3	3,7	3,0	4,5
0,480	2,2	2,6	2,9	3,3	3,6
0,490	1,5	1,8	2,2	2,5	2,8
0,500	0,9	1,2	1,4	1,7	1,9
0,510	0,3	0,5	0,7	0,9	1,1
0,520	-0,4	-0,2	0,0	0,1	0,3
0,530	-1,0	-0,8	-0,7	-0,6	-0,5
0,540	-1,6	-1,5	-1,4	-1,3	-1,2
0,550	-2,2	-2,1	-2,1	-2,0	-2,0
0,560	-2,8	-2,8	-2,8	-2,8	-2,7
0,570	-3,4	-3,4	-3,4	-3,4	-3,4
0,580	-3,9	-4,0	-4,1	-4,1	-4,2
0,590	-4,5	-4,6	-4,7	-4,8	-4,9

Tab. 2 - Abaco di correzione Tono-Spessore di Ehlers.



Fig. 2 - DTC Pascal dynamic contour tonometer Ziemer Ophthalmic.

stico avverte l'avvenuto contatto del tip con la cornea.

Dopo 5 secondi di contatto con la superficie corneale, il segnale è registrato da un microprocessore, e lo strumento evidenzia i valori della IOP, senza bisogno di fluoresceina e senza applicazione della cupola corneale.

I dati finali che appaiono su uno schermo a cristalli liquidi sono: la IOP della fase diastolica, la sua variazione media (OPA) causata dalla pulsazione

cardiaca ed un punteggio di qualità della misurazione effettuata, da Q1 a Q5.

Per un buon risultato (Q3) è necessario un tempo di 5 secondi di contatto continuato. La necessità di una migliore collaborazione dei pazienti rispetto al Goldmann, per il suddetto parametro temporale, costituisce il limite più rilevante di questa tonometria [6,7].

La problematica dell'influenza strutturale della cornea sul rilievo tonometrico è, però, molto più complessa, e non si limita al solo spessore, ostacolo che il Pascal ha dimostrato in parte di superare.

Il modulo elastico di una struttura biologica non rigida, sottoposta ad una forza esterna, risponde con leggi fisiche proprie. La natura biomeccanica della cornea, la sua forma tridimensionale, gli ancoraggi sclerali di collegamento e la sua variabile curvatura, sono tutte caratteristiche importanti nel determinare la risposta complessiva corneale.

Il modulo elastico di una struttura meccanica flessibile racchiude in sé tutte queste caratteristiche, con comportamenti differenti e specifici, per ogni particolare situazione morfo-strutturale.

La cupola corneale non si sottrae a queste regole; lo spessore corneale resta però l'elemento più importante [7]. Le strutture biologiche elastiche, in generale, possono rispondere ad un doppio regime fisico di rigidità membranale o flessionale.

Le strutture membranali hanno la caratteristica di non avere uno spessore rilevabile e, non offrendo quindi alcuna resistenza alle sollecitazioni esterne,



Fig. 3 - Tonometri: Ora Reichert e Corvis Oculus.

sono solo teoriche, come per esempio le pellicole domopak.

La cornea, avendo invece uno spessore non trascurabile, risponde alla legge delle strutture a rigidità flessionale, con un'elasticità inversamente proporzionale al cubo del suo spessore. Questo rapporto grandemente moltiplicativo (il cubo dello spessore) valorizza ed esalta l'importanza della misura pachimetrica nel comprendere la dinamica della cupola corneale. Altro parametro da considerare è la curvatura della cornea, molto meno decisivo nell'influenzare le risposte flessionali delle strutture elastiche in generale e, di conseguenza, anche quelle corneali.

Il tonometro della Reichert ORA, Ocular Response Analyzer, prende in considerazione alcune delle proprietà viscoelastiche della cornea e sembra possa misurare valori pressori indipendenti dallo spessore e dalla curvatura corneale (fig. 3).

L'isteresi corneale che lo strumento evidenzia, non è altro che il ritardo del movimento della cornea in andata ed in ritorno, conseguente al gettito d'aria dello strumento.

L'isteresi trovata è integrata con altri dati rilevati, così da offrire un valore finale che ha buona correlazione con la tonometria del Goldmann, ma senza influenze strutturali meccaniche, una sorta di IOP cornea-compensata [9-11] (IOP cc).

Per ottenere tali performance l'ORA utilizza un impulso d'aria collimato sulla cornea d'intensità

crescente, tale da appianare la cupola corneale, fino a determinarne una leggera introflessione verso la camera anteriore; il soffio d'aria quindi si riduce d'intensità ed il profilo corneale, ripassando per il punto di completa appianazione, riacquista infine la sua posizione naturale di partenza. Durante i 20 millisecondi di tempo necessari per tale doppia appianazione, il sistema ottico, di cui l'ORA è dotato, controlla i 3 millimetri centrali corneali, con il rilievo dei toni nei due momenti di appianazione, in andata ed in ritorno ("In" Signal peak ed "Out" Signal peak nel grafico dello strumento) (fig. 4).

Le due misurazioni sono differenti per valore rilevato: la loro media costituisce il valore di IOP Goldmann-correlato, mentre la loro differenza temporale individua l'isteresi corneale (dal greco *istheresis* = ritardo).

Iniziali studi hanno dimostrato che valori bassi d'isteresi corneale sono legati ad un aumento del danno perimetrico in pazienti glaucomatosi, con una significatività di $P = 0.03$ [10,11]. Valori d'isteresi bassi si sono inoltre trovati negli operati di Lasik, nei cheratoconi e nella distrofia corneale di Fuchs.

I dati offerti dall'isteresi corneale saranno quindi utili non solo per il glaucoma ma anche per molte patologie corneali, oltre che per la chirurgia refrattiva.

Saranno necessari ancora studi ed approfondimenti per fare chiarezza sulle reali possibilità di

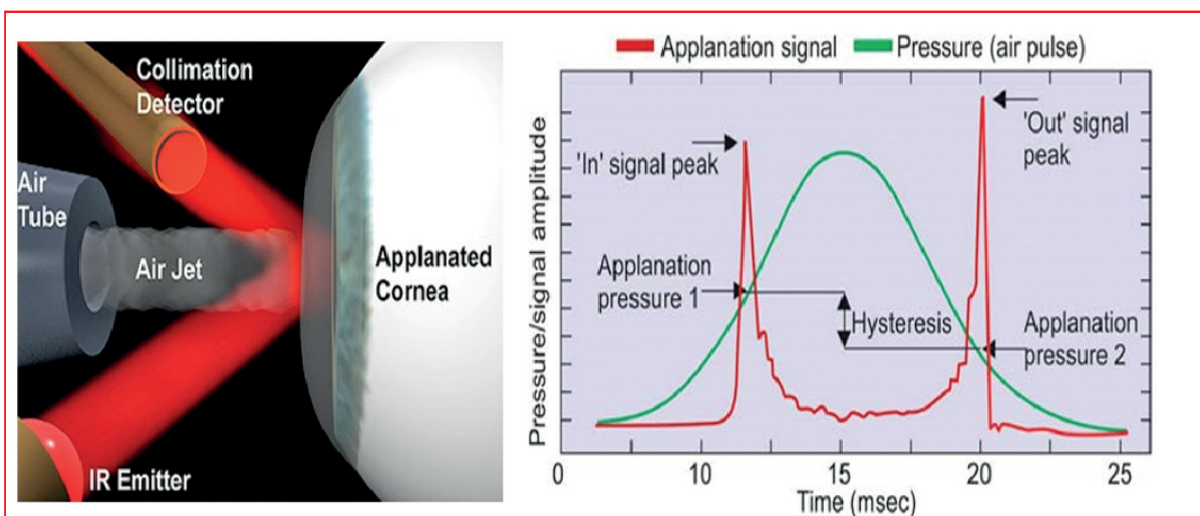


Fig. 4 - Grafico rilevato dall'ORA.

questa metodica, che potranno aprire la strada ad una più completa comprensione della meccanica corneale evidenziando, ancora una volta, le difficoltà per ottenere valori tonometrici più veritieri.

Le nuove proposte strumentali sono dirette sempre più verso una tonometria nocontact e multifunzione, con strumenti che possono contemporaneamente fornire, o tre al dato tonometrico, anche lo spessore ed il profilo corneale, magari con la profondità ed il volume della camera anteriore e la misura del bianco-bianco limbare [12].

In tal modo si potrà meglio determinare un valore tonometrico integrato alla morfologia tridimensionale del segmento anteriore, più vicino in tal modo alle condizioni morfologiche delle strutture sollecitate e più aderente al valore tensivo endoculare.

Uno dei primi device multifunzione è stato il TRK-1P della Topcon. Questo strumento rileva contemporaneamente più parametri, come il valore refrattivo oggettivo e cheratometrico (K1 e K2), la pachimetria centrale, il valore bianco-bianco limbare, la distanza interpupillare, il tono oculare rilevato in tre misurazioni con sequenza automatica ed anche mediato secondo lo spessore corneale, oltre ad un valore di media dei singoli rilievi effettuati (fig. 5).

Dopo la Topcon anche altre case costruttrici hanno messo in commercio efficienti strumenti che raggruppano più funzioni.

La tendenza di offrire subito più misure e dati all'operatore è una caratteristica consolidata nel panorama tecnologico della medicina moderna, rispondendo sempre più a criteri di rapidità, completezza d'informazione oltre che di precisione nell'interpretazione clinica finale.



Fig. 5 - Topcon TRK-1P.

Decidere se iniziare o no una terapia antiipertensiva oculare, avendo il supporto di maggiori parametri, è ormai indispensabile per una corretta valutazione clinica; avere a disposizione più dati per tutti i pazienti non deve sembrare ridondante e superfluo, ma è ormai necessario ed indispensabile, nella consapevolezza che una visione globale porta a più avvedute decisioni cliniche, terapeutiche e prognostiche.

CONSIDERAZIONI FINALI

L'insistere dell'industria nello sviluppo della tonometria no-contact a soffio all'uso di questa metodica nella pratica clinica, ha anche un supporto scientifico, di prevenzione e di tutela medico-legale.

Solo con la tonometria no-contact si può iniziare, per esempio, ad avere contezza dei dati tonometrici nell'infanzia su larga scala, con la possibilità di intercettare pazienti giovani con sicure ipertensioni oculari o veri glaucomi in itinere, prescindendo dalle forme congenite tardive, legate ad una alterazione anatomica evidente dell'angolo camerulare [13].

Già dalla prima visita oculistica si può e si deve misurare il tono oculare, e non poche sorprese si potranno trovare con la pratica estesa di questa metodica. Avere in anamnesi i dati tonometrici già dalla prima infanzia in tutti i pazienti, e specialmente in quelli con familiarità glaucomatosa, è oltremodo utile e indicativo, soprattutto se è senza alcun danno per il paziente.

Quante volte procuriamo incautamente piccole abrasioni corneali con il tonometro ad applanazione e quante volte non siamo sicuri del dato rilevato, per l'incongruenza dello spessore degli anelli di lettura del cono di applanazione!

Almeno con la tonometria no-contact possiamo ripetere più volte questa misura senza difficoltà e con un valore mediato del dato ottenuto, possiamo ripeterlo nel tempo, senza avere bambini terrorizzati che, alla fine, c'inducono a soprassedere all'esame con l'applanazione, e a non proporlo più fino alla maggiore età.

È chiaro che nessuno prende per oro colato il primo dato tonometrico con la modalità a soffio, specialmente in bambini che magari strizzano le palpebre, ma una cosa è trovare 15 mmHg ed una cosa è trovare 28 mmHg o 40 mmHg di tono.

Con l'accortezza di far provare anticipatamente come gioco il soffio dello strumento sul palmo della mano o sul viso, pochi saranno infine i bambini che si sottrarranno a questo tipo d'indagine strumentale: questa è almeno la mia esperienza con il tonometro a soffio, che uso correntemente e felicemente dal 1988.

Il confronto con la tonometria ad applanazione resta, beninteso, di convalida e di conferma, prima di qualsiasi decisione diagnostica e terapeutica finale!

La tonometria no-contact è un esame, in ogni caso, di svolta, non solo nel normale corso ambulatoriale, ma anche in momenti clinici particolari, come una banale terapia cortisonica per una follicolosi congiuntivale in infanzia.

Misurare il tono oculare prima e dopo terapia cortisonica è pratica clinica che deve entrare

ormai nella normalità: trovare degli ipertoni dopo già pochi giorni di terapia cortisonica topica, non è certo cosa frequente ma possibile, anche con valori da brivido. Sono i cosiddetti pazienti cortisoni responder-positivi.

I problemi medico-legali sono sempre più numerosi ed è spiacevole, oltre che moralmente non corretto, trovarsi con un ipertono da terapia instaurata in un bambino, senza averlo individuato per tempo e senza aver preso le misure necessarie, come un semplice tono prima e dopo la terapia prescritta.

Personalmente ho dato del desametazone allo 0.2% in associazione con tobramicina per 3 volte al dì per una congiuntivite follicolare e ho visto un tono oculare salire da 16 mmHg a 50 mmHg dopo solo 7 giorni di terapia!

Certo il tonometro ad applanazione avrebbe dato valori tensivi inferiori e più veritieri, ma sempre in ogni caso alti, se fosse stato ugualmente facile ed agevole utilizzare tale metodica in un bambino di 7 anni, e con una congiuntivite in atto.

Solo la tonometria no-contact può dare questa possibilità, trascurando tutto il campo post-operatorio, e mi riferisco non solo alla chirurgia refrattiva.

A tal proposito chi scrive, solo per la passione verso quest'aspetto della clinica oftalmologia, ha proposto un progetto di uno strumento e metodo per la misurazione del tono oculare no-contact, comprensivo dello spessore e della curvatura corneale, oltre che di tutti gli altri parametri tridimensionali della cupola corneale e della camera anteriore, definito con una validazione brevettuale nazionale ed internazionale nel maggio 2002, prima dell'uscita dei risultati dell'OHTS.

L'Early Manifest Glaucoma Trial ha messo in luce che una riduzione del 25% della IOP nei pazienti glaucomatosi ad angolo aperto fa diminuire del 50% il rischio di progressione di malattia, mentre una diminuzione di solo 1 mmHg del tono può rallentarne del 10% la progressione.

Il tono oculare resta, per tutto quanto detto, il solo parametro che sappiamo efficacemente correggere a protezione delle fibre ottiche: arrivare a determinarlo in modo sempre più efficace, veritiero e prima possibile, è un obiettivo più che importante, così come affrontare, con sempre maggior determinazione, ogni sua variazione patologica, spesso molto dannosa per la funzione visiva.

REFERENCES

- 1) Goldmann H, Schmidt T. Uber Applanations tonometrie. *Ophthalmologica* 1957; 134:221-242.
- 2) Ehlers N, Hansen F. Central corneal thickness in low-tension glaucoma. *Acta Ophthalmol (Kbh)* 1974; 52:740-6.
- 3) Ehlers N, Bramsen T, Sperling S. Applanation tonometry and central cornea thickness. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1975; 53:34-43.
- 4) Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, et al. The ocular hypertension treatment study Baseline factor that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 714-720.
- 5) Lucente A. Lo spessore oculare come indice di valutazione del tono oculare. *Bollettino di Oculistica* 2004.
- 6) Whitacre MM, Stein RA. Sources of error with use of Golmanntype tonometers. *Survey of Ophthalmol* 1993; 38 (1):1-30.
- 7) Whintacre MM, Stein RA, Hassanein K. The effect of corneal thickness on applanation tonometry. *Am J Ophthalmol* 1993; 115: 592-6.
- 8) Doughty MN, Zaman MN. Human corneal thickness and its impact on intraocular pressure measures: a review and meta-analysis approach. *Survey of Ophthalmol* 2000; 44(5): 367-408.
- 9) Feltgen N, Leifert D, Funk J. Correlation between central thickness, applanation tonometry, and direct intracameral IOP readings. *Br J Ophthalmol* 2001; 85:85-7.
- 10) Susanna CN, Diniz-Filho A, Daga FB, et al. A prospective longitudinal study to investigate corneal hysteresis as a risk factor for predicting development of glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2018;187:148–152.
- 11) Murphy ML, Pokrovskaya O, Galligan M, O'Brien C. Corneal hysteresis in patients with glaucoma-like optic discs, ocular hypertension and glaucoma. *BMC Ophthalmol*. 2017; 17(1):1.
- 12) Susanna BN, Ogata NG, Jammal AA, et al. Visual field progression in eyes with seemingly well-controlled intraocular pressure. *Ophthalmology*, 2019;126(12):1640–1646.
- 13) Congdon NG, Broman AT, Bandeen-Roche K, Grover D, Quigley HA. Central corneal thickness and corneal hysteresis associated with glaucoma damage. *Am J Ophthalmol*. 2006; 141(5): 868–875.



CAPITOLO 2

L'ENDOTELIO NELL'IMAGING CORNEALE

INTRODUZIONE

La tecnologia strumentale caratterizza ogni campo della medicina. L'oftalmologia, con ancora maggior evidenza, nella diagnosi delle patologie oculari si serve dell'aiuto tecnologico come indispensabile e complementare supporto. Lo studio della cornea era ristretto, fino a pochi anni or sono, alla lampada a fessura, strumento simbolo dell'oculista che individua e caratterizza la nostra attività clinica. Lo studio delle alterazioni retiniche e l'imaging delle patologie del segmento posteriore, molto affascinanti iconograficamente, hanno posto per lungo tempo in un secondo piano l'iconografia strumentale della cornea e del segmento anteriore.

La tecnologia OCT rivolta inizialmente allo studio della retina è stata il vero elemento innovativo diagnostico più positivamente sconvolgente degli ultimi venti anni nel panorama dell'oftalmologia mondiale. All'inizio essenzialmente retinica, ha messo in ombra le innovazioni strumentali riguardanti la cornea e la camera anteriore, che parimenti si sono sviluppate con grande qualità tecnologica. Tutto ciò che le industrie ci propongono è sviluppato per le crescenti esigenze scientifiche e cliniche, ma anche per più congrui ritorni economici di mercato. Gli OCT sono stati, e ancora rappresentano, il principale impegno/business delle più importanti case costruttrici ed il loro successo è scientifico ed economico. Il business per gli OCT negli USA nel 2010 è ammontato di 250 milioni di \$ e si prevede e nel 2017 di 650 milioni di \$, con investimenti per 30-60 milioni di \$/anno da parte delle case costruttrici. La chirurgia rifrattiva ha favorito lo sviluppo di tutta una serie di strumenti: dalla topografia di superficie della cornea alla microscopia endoteliale speculare, dalla pachimetria ottica e a contatto alla microscopia confocale e, infine, alle indagini corneali e della camera anteriore per mezzo della tecnologia Scheimpflug e OCT.

La nascita di numerose società scientifiche per lo studio della cornea conferma la crescente rivalutazione per la superficie oculare e, se sommiamo i congressi nazionali e internazionali, l'interesse per il segmento anteriore supera quasi quello per

la retina. Le Società monotematiche aderenti alla SOI che s'interessano di cornea e di superficie oculare sono:

A.I.C.C.E.R.: Associazione Italiana di Chirurgia della Cataratta e Refrattiva;

S.I.Co.M.: Società Italiana di Contattologia Medica;

S.I.C.S.S.O.: Società Italiana Cellule Staminali e Superficie Oculare;

S.I.Tra.C.: Società Italiana Trapianto di Cornea;

S.I.D.S.O.: Società Italiana di Dacriologia e Superficie Oculare.

Dal giugno del 2009 è nata EuCornea, European Society of Cornea & Ocular Surface Disease Specialists, con sede a Dublino, per promuovere le relazioni, le conoscenze scientifiche e le competenze pratiche tra gli specialisti della cornea in Europa. Il promotore e primo presidente di questa nuova fondazione è il prof. Vincenzo Sarnicola, già presidente S.I.C.S.S.O. Come si può intuire il fermento scientifico per il segmento anteriore è ben testimoniato e non meno rilevante delle patologie retiniche.

LE TECNOLOGIE E GLI STRUMENTI

La strumentazione oggi disponibile per lo studio della cornea allarga spesso il raggio d'azione a tutto il segmento anteriore, offrendo immagini della camera anteriore, dell'angolo camerulare, del cristallino e della camera posteriore, con una ricchezza d'informazioni, di dati anatomici e fisiologici impensabili negli anni passati. Se si esclude la microscopia speculare endoteliale e confocale, che tratteremo subito dopo, l'imaging offerto dalle Scheimpflug Camera e dagli OCT per il segmento anteriore evidenzia ogni dettaglio anatomo-istologico, con assoluta dovizia di particolari, indispensabile per le diagnosi differenziali e ormai imprescindibile per la chirurgia rifrattiva. Alla visione della camera anteriore alcuni strumenti associano l'indagine topografica della superficie corneale anteriore e posteriore, con i profili dello spessore di tutta la cornea: mi riferisco essenzialmente al Pentacam dell'Oculus, al Sirius della CSO e al Galilei G2 della Ziemer Ophthalmology. L'as-

sociazione topo-aberrometrica e pachimetrica punto per punto rende meglio correlabile il dato rifrattivo corneale con quello anatomico. L'immagine della camera anteriore per mezzo di una o più Scheimpflug Camera consente infatti la visione del profilo corneale per intero, da bianco a bianco, con tutti i dati anatomici che ne conseguono.

Alla tecnologia Scheimpflug si contrappone, per così dire, quella Tomografica. Tutti gli OCT Spectral in commercio permettono di indagare il segmento anteriore. Gli OCT da camera anteriore offrono una visione strutturale dei tessuti esaminati, mentre i profili ed i volumi sono meglio indagati dalle Scheimpflug. Entrambe le tecnologie non permettono una visione della camera posteriore e del corpo ciliare, possibile con UMB (Ultrasound biomicroscopy). La molteplicità di offerta tecnologica, con più strumenti che eseguono la stessa indagine, magari con qualche particolare in più, a volte può confondere anche l'oculista più esperto che deve investire in questa strumentazione, sempre più affascinante ed oltremodo esplicativa, ma non certamente a basso costo. In quest'articolo parlerò della microscopia endoteliale, esame a noi più vicino per frequenza di richiesta, e della microscopia confocale, per la stretta parentela che lega queste due metodiche. Le tecnologie bi e tridimensionali della camera anteriore, molto sviluppate tecnologicamente, pur essendo iconograficamente accattivanti, non permettono lo studio istologico-citologico della cornea, come invece è possibile con la microscopia confocale e, per il solo endotelio, con la speculare.

LA MICROSCOPIA ENDOTELIALE

Lo studio dell'endotelio corneale per mezzo della microscopia speculare consiste nell'analisi morfologica e numerica delle cellule endoteliali. La diffusione di questi strumenti, essenzialmente i microscopi endoteliali non contact, è cominciata su larga scala con l'utilizzo della facoemulsificazione nell'intervento di cataratta. A dispetto d'interventi chirurgici svolti correttamente, ci si trovava casualmente nel post-operatorio con cornee opache ed edematose, senza alcuna apparente spiegazione. Ci s'interrogava sulle possibili cause di tali gravi insuccessi, e la conoscenza dello stato dell'endotelio corneale diventò essenziale e imprescindibile. La causa di quegli "inspiegabili" edemi era dovuta spesso alle soluzioni usate in camera anteriore durante l'infusione-aspirazione,

o alla scarsa sterilità nel manipolare le lenti intraoculari, più che allo stato funzionale dell'endotelio pre-operatorio. I microscopi endoteliali non a contatto o speculari trovarono da allora sempre più larga diffusione, e oggi sono usati nella preparazione dell'intervento di cataratta, in chirurgia refrattiva, nelle patologie corneali senza opacizzazione stromale, nel follow-up dei trapianti corneali e nei portatori di lenti a contatto. Nella stampa degli esami di tutti gli strumenti in commercio si trova sempre un rilievo pachimetrico dell'area indagata, in sostanza della zona pupillare, (mediamente nei vari strumenti: 02mm x 05mm dell'area fotografata, ingrandimento di 150x, distanza di lavoro di 20-30 mm).

I dati che offrono i printout di stampa indicano il numero di cellule per millimetro quadro, la variabilità dell'area delle cellule con un minimo e massimo, la loro esagonalità e alcuni parametri: il CV o COV "*Coefficient of variation of cell size*", l'AVG o media delle aree di tutte le cellule e la SD o deviazione standard delle aree cellulari. Com'è noto lo spessore della cornea è mediamente di 535 micron al centro (*Doughty e Zaman, 2000*), cresce circa del 23% verso la periferia, l'epitelio è meno del 10% del suo spessore (*Holden e coll, 1982; Patel e coll. 2001*), mentre l'endotelio, monostратificato, misura circa 5 micron, con 500-600 mila cellule esagonali alla nascita. La superficie della cornea è mediamente 1,3-1,4 cm², cioè 130-140 mm²: essendo circa 3000-4000 x mm² le cellule nell'infanzia, x 130-140 mm², si hanno in tutto ± 390000-560000 cellule. Alcuni parametri mostrati dalla microscopia endoteliale non contact, descrittivi dell'area delle cellule endoteliali, presi singolarmente sono di difficile comprensione.

Il CV, coefficiente di variabilità o deviazione standard relativa RDS (Relative Standard Deviation), individua il rapporto tra SD/AVG cioè tra due indici statistici. La deviazione standard SD, (standard deviation, scarto quadratico medio, radice quadrata della varianza), è statisticamente un indice di dispersione, un indicatore raffinato che ci indica lo scarto rispetto ad una "norma", lo scostamento medio dei dati intorno al valore atteso, in questo caso la media aritmetica delle aree cellulari trovate (AGV). In sostanza il CV è anch'esso una deviazione standard, più specifico della SD, relativo alla media aritmetica AGV, indipendente dall'unità di misura adottata. Nei printout di stampa troviamo elencati i seguenti parametri:

- A) **CD** densità cellulare per mm^2 .
- B) **HEX** coefficiente di esagonalità o di poligonalità delle cellule (%).
- C) **CV** coefficiente di variabilità come rapporto tra SD/AVG (%).
- D) **MAX** dimensioni della cellula maggiore in micron quadrati.
- E) **MIN** dimensioni della cellula minore in micron quadrati.
- F) **SD** deviazione standard delle dimensioni cellulari.
- G) **AGV** media delle dimensioni cellulari in micron quadrati.
- H) **T** spessore corneale in micron.
- I) **N** numero di cellule selezionate per la conta.

Il valore normale di CV è 0.32, vale a dire che il 32% delle cellule esaminate per campo può avere una superficie variabile da quella standard: più alto è questa percentuale, maggiore è il polimegatismo endoteliale. È noto che le cellule endoteliali non hanno capacità riproduttiva e che la loro densità diminuisce con l'età. A differenza delle cellule epiteliali, dove sono presenti "Corneal Stem Cells", nelle nicchie del limbus a partenza dalle Palizzate di Vogts, e sporadicamente nella cornea centrale, cellule con caratteristiche clonogenetiche identiche alle staminali, (Olocloni, Paracloni, Meracloni), nell'endotelio non sono state individuate pool di cellule con potenzialità rigenerative, per cui la densità cellulare decresce lentamente da 3000-4000 a circa 2000 cellule per mm^2 col progredire dell'età (fig. 1).

Note sono pure le funzioni di pompa di queste cellule per la normale trasparenza dello stroma corneale, ma ancor oggi non tutto è chiaro: come basse densità cellulari, anche sotto le 500 cellule per mm^2 , possano permettere la stessa trasparenza di densità normali, perlomeno all'osservazione con la lampada a fessura. Sicuramente la supplenza funzionale delle cellule endoteliali è notevole e normalmente utilizzata solo al minimo: quando il numero complessivo delle cellule scende sotto un valore soglia, presumibilmente sotto le 500 x mm^2 (500 x 140 $\text{mm}^2 \pm$ = area endotelio = 70000 cellule c.a.), si perde la normale trasparenza e compare un edema da insufficienza endoteliale. Basta solo un 5-6% di contenuto di acqua in più nello stroma per avere un edema clinicamente significativo. Le cellule endoteliali, non potendosi moltiplicare, col tempo perdono la loro perfetta forma geometrica, aumentando la superficie cellulare, essenzialmente a carico del citoplasma; tale fenomeno è noto come Polimegatismo (da poli=molti e megatos=dimensioni).

La perdita della loro originale forma esagonale è nota come Polimorfismo o Pleiomorfismo (da poli=molti e/o pleio=più e morfo= forma). Polimegatismo e Polimorfismo vanno sempre di pari passo; trovare alterati questi due parametri vuol dire, in linea di massima, la presenza di una cellularità non pienamente fisiologica. Il Polimegatismo è individuato, nel printout dei microscopi endo-

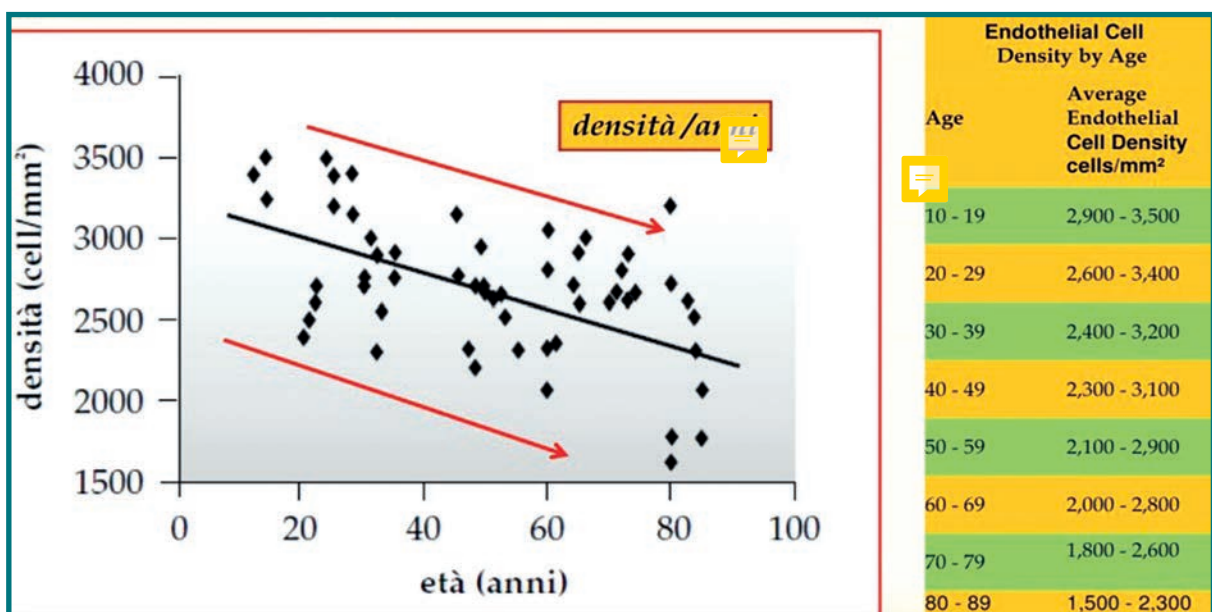


Fig. 1 - Diminuzione delle cellule endoteliali con l'età (by F. Zeri, L. Lupelli).

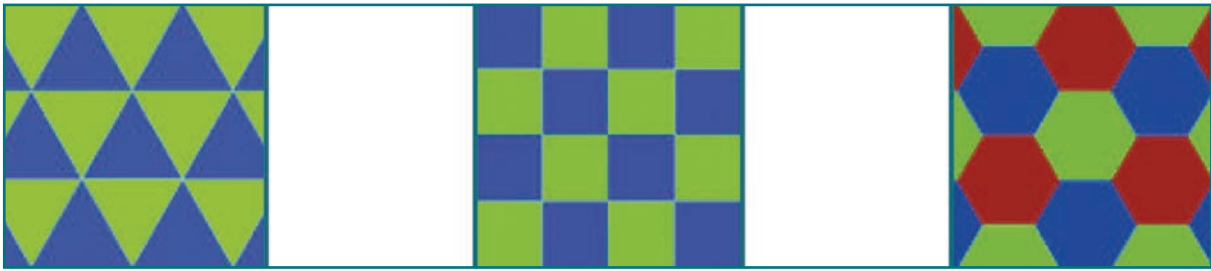


Fig. 2 - Se si impone l'utilizzo di un solo poligono regolare per tutta la tassellatura, abbiamo tre configurazioni possibili; la misura degli angoli del tassello dovrà essere un divisore intero di 360° ; andranno bene solo il triangolo equilatero (60°), il quadrato (90°) e l'esagono regolare (120°).

teliali, dal parametro di variabilità CV, mentre il Polimorfismo da HEX, grado di Esagonalità o Coefficiente di Forma. Sono parametri morfometrici espressi entrambi in percentuale (%), ritenuti da molte ricerche come l'indice più sensibile di funzionalità cellulare, rispetto alla pura Densità Cellulare (CD). Anche in questo caso vale più la qualità funzionale che la quantità numerica, almeno fino ad un certo punto.

Un alterato rapporto di CV e HEX, anche se marcato, non deve far pensare tout court ad un imminente scompenso corneale, che potrebbe diventare più probabile dopo un intervento di cataratta. La prognosi sulla sopravvivenza e sulla efficienza biologica delle cellule endoteliali è quanto mai imprevedibile. L'insulto chirurgico gioca sempre un ruolo di primo piano, con diminuzione variabile del numero delle cellule endoteliali ed alterazioni della loro forma. Si potrebbe, in un certo senso, misurare la "delicatezza" dell'atto chirurgico facendo una conta differenziale tra il numero e la forma delle cellule endoteliali prima e dopo l'intervento di cataratta, a parità di tutti gli altri bioparametri. Questa possibilità affinerebbe l'atto chirurgico, e indurrebbe nuove strategie chirurgiche; comunque sarebbe utile come protocollo personale nell'attività clinico-chirurgica. La forma esagonale delle cellule endoteliali probabilmente risponde a criteri termodinamici ed entropici ancora da capire compiutamente. Una prima testimonianza strutturale dell'endotelio corneale risale ai disegni schematici di Vogt riportati nel suo Atlante di Biomicroscopia del 1921 (Alfred Vogt 1879 -1943).

In assenza di un microscopio endoteliale è possibile avere una prima visione del mosaico endoteliale già all'esame alla lampada a fessura, specialmente in assenza di alterazioni corneali e del film lacrimale, in soggetti giovani e particolarmente nelle aree corneali temporali, con adeguati ingrandimenti (30-40x). L'esercizio quotidiano nel ricercare il mosaico endoteliale porta ad aumentare le personali

capacità cliniche, ad intuire lo stato fisiopatologico di questo strato cellulare già ad una prima osservazione, con l'approssimazione dovuta all'esperienza individuale ed ai limiti posti dallo strumento utilizzato. Spesso, dopo un primo sguardo biomicroscopico, si richiede un esame strumentale più approfondito, per la visione di gutte o di disomogeneità delle cellule endoteliali. Com'è noto l'esagono regolare (da esa=sei e gono=angolo) ha sei lati uguali, sei angoli congruenti di 120° ; inoltre è composto da sei triangoli equilateri che condividono il vertice; ogni lato dei triangoli sono uguali al raggio della circonferenza circoscritta. Le aree tra cerchi e esagono sono quasi sovrapponibili (fatta pari a 1 l'area del cerchio, 0.907 sarà l'area dell'esagono inscritto nel cerchio). In geometria piana gli esagoni con quadrati e triangoli equilateri sono le uniche figure idonee per coprire porzioni di piano senza lasciare spazi vuoti e senza sovrapporsi (fenomeno conosciuto come tassellazione o tassellatura o pavimentazione); le figure piane in geometria sono anche dette "tasselli" (fig. 2).

L'architettura esagonale per la sua perfezione è stata studiata da matematici e zoologi. A questo proposito lo scienziato *René Antoine De Réaumur* (1683 – 1757) evidenziò la forma esagonale come unità di misura del sistema metrico decimale affermatosi nel XVIII secolo; nell'Uomo vitruviano di Leonardo le figure geometriche regolari che si possono disegnare, circoscrivono un esagono come figura più interna e centrale (fig. 3).

Numerosi sono stati inoltre gli studi sui favi delle api per la loro forma tipicamente esagonale (fig. 4); esagonale è anche la forma delle viti per il bloccaggio meccanico per la migliore possibilità di avvitamento, con il minor dispendio di energia e per l'omogenea distribuzione delle forze trasmesse.

In citologia la forma triangolare e quadrata è poco o niente rappresentata, permette pochi scambi intercellulari e soprattutto non consente,

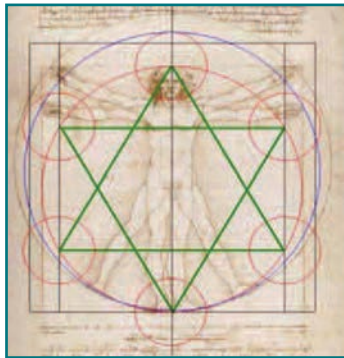


Fig. 3 - Figura vitruviana di Leonardo; esagono regolare.

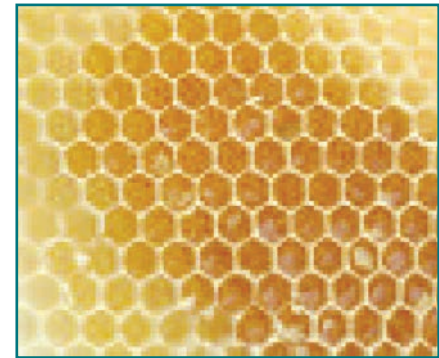
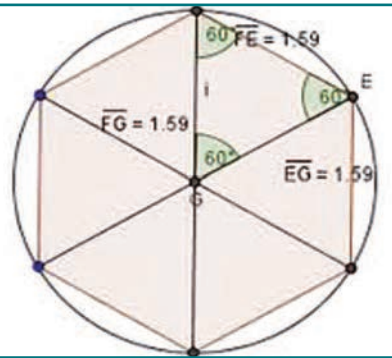


Fig. 4 - Favo d'api. Notare la forma perfettamente esagonale delle cellette.

in caso di apoptosi o morte di un'unità biologica, lo scivolamento di una cellula nello spazio occupato da quella vicina senza provocare soluzione di continuità. Come s'intuisce la natura aveva poche scelte tra le forme geometriche possibili per un mosaico cellulare a perfetta tenuta e biologicamente estremamente efficiente. L'esagono risponde meglio di tutti gli altri poligoni alle caratteristiche geometriche e funzionali di una popolazione cellulare perenne in lenta diminuzione nel tempo idonea a ricoprire perfettamente una determinata superficie tissutale. Normalmente l'esagonalità è pari al 60% nei soggetti normali non portatori di lenti a contatto. Questo significa che fisiologicamente si trovano cellule eptagonali o pentagonali nel mosaico endoteliale per un 40% dell'intera popolazione. Com'è stato riferito, le cellule diminuiscono di numero (circa 0.6% l'anno), aumentano di dimensioni, e questa alterazione subisce un'accelerazione dopo un intervento di cataratta, anche ben condotto. Si ritiene che una diminuzione di 200-400 cellule per mm^2 , circa del 10%, sia compatibile con un atto chirurgico ben condotto. Una deplezione maggiore è indice di procedure intraoperatorie non corrette, escludendo le cataratte dense e dure che comportano comunque stress eccessivo per l'endotelio corneale, anche con chirurghi molto esperti. La conversione dalla faco alla ECCE, in alcuni casi selezionati, permette di evitare complicanze le più disparate, ma non migliora la sopravvivenza delle cellule endoteliali, come dimostrato in numerose ricerche. Il goal della chirurgia della cataratta è avere cornee trasparenti ed un visus ottimale subito dopo l'intervento, con minime diminuzioni delle cellule endoteliali, proporzionale alla durezza delle opacità del cristallino.

Con gli anni anche la membrana di Descemet, struttura acellulare costituita principalmente da collagene di tipo VIII, diverso da quello stromale, sintetizzata dalle cellule endoteliali, aumenta di spessore di oltre 10 volte, passando da 3 micron a 30-40 micron nell'anziano. Questo aumento di spessore dovrebbe essere considerato, oltre tutto, come fattore d'errore nel rilievo tonometrico, non solo per il dato pachimetrico, in aumento negli anni, ma anche per il conseguente irrigidimento del modulo elastico della cornea.

Questi due dati possono entrambi determinare un falso aumento del tono oculare rilevato, motivo in più per considerare la pachimetria e l'elasticità corneale in generale (o l'isteresi in particolare), come parametri essenziali nella valutazione del paziente iperteso e/o glaucomatoso. La distribuzione delle perdite cellulari e l'aumento della loro superficie assumono caratteri differenti se dovuti all'invecchiamento oppure a condizioni patologiche.

La ridistribuzione cellulare dovuta all'età è maggiormente omogenea, quasi mimetizzata nella molteplicità della sconfinata pavimentazione esagonale, mentre per cause patologiche è meno omogenea, con la comparsa di grandi cellule con una superficie molte volte quella originaria, e con una densità che può scendere fino a 1000 cellule o meno per mm^2 . Normalmente l'area media delle cellule endoteliali è di 200-300 μm^2 in soggetti giovani; si possono trovare cellule con aree anche di 1500-2500 μm^2 in cornee patologiche, ma ancora trasparenti. Tutto dipende dal numero totale di cellule morfologicamente non alterate superstiti. Un polimegatismo (CV) così esasperato si trova specialmente nelle cheratoplastiche di vecchia data, dove non è raro trovare cornee ancora chiare con densità (CD) di 500 cellule per mm^2 (figg. 5, 6).

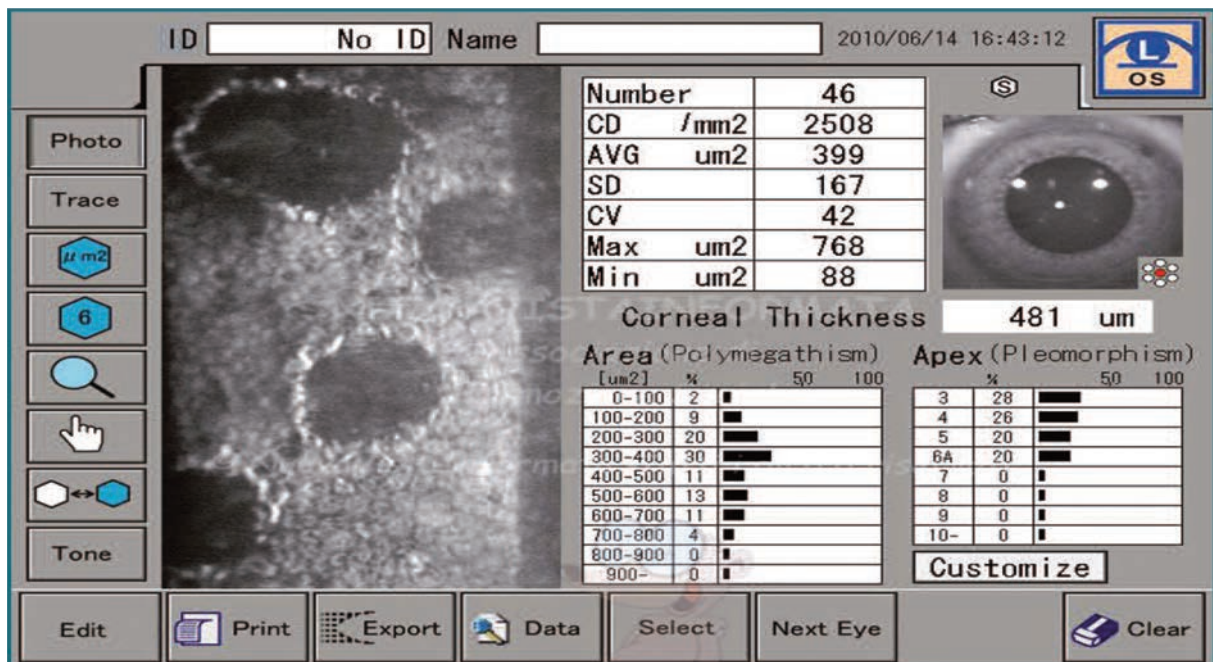


Fig. 5 - Grandi gutte endoteliali.

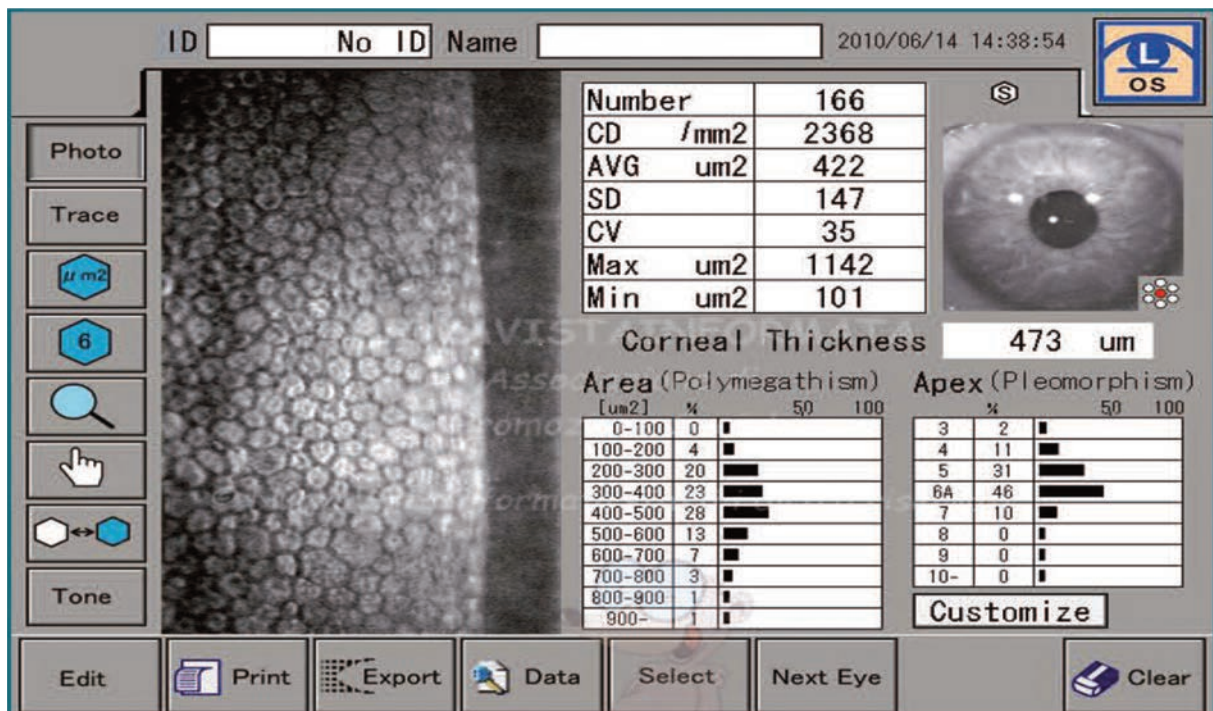


Fig. 6 - Endotelio senza gutte.

I BUCHI NERI O BLEBS

Una citazione a parte meritano i “*buchi neri*” o “*Blebs*”. Scoperti nel 1977 da Zantos e Holden, furono descritti come piccole aree scure, non riflettenti, che compaiono nel mosaico endoteliale

dopo l’uso di Lac. Sono, in effetti, cellule endoteliali edematose, ripiene di acqua, incapaci di riflettere la luce in modo speculare, apparendo perciò come dei buchi neri. La deformazione di queste cellule avviene posteriormente, verso la camera anteriore: la Descemet ne limita l’espansione

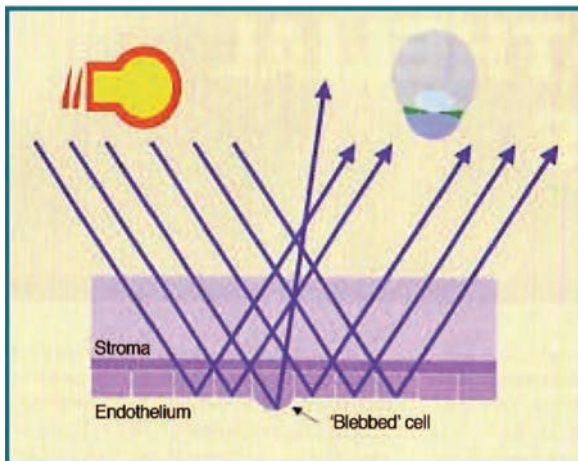


Fig. 7 - Ottica geometrica della riflessione dell'endotelio corneale normale e di una cellula edematosa (bleb) (by Nathan Efron. "Contact Lens Complication". 2004 Butterworth-Heinemann).

verso lo stroma mantenendo, di fatto, immutata la loro forma verso l'esterno, mentre la parete cellulare trova poca o nulla resistenza verso la camera anteriore, ripiena di acqueo. La loro superficie diventa così globosa e questo cambiamento non permette l'osservazione al microscopio endoteliale, determinando una non riflessione, un effetto buco nero, "cellula bleb" (fig. 7).

Bisogna subito dire che il fenomeno Blebs è largamente reversibile, come dimostrato da Nathan Efron nel 2001, confermando le osservazioni di Zantos e Holden. La comparsa di buchi neri è quasi immediata all'applicazione delle Lac sia morbide sia rigide già dopo 10' dall'inserimento; altrettanto rapida è la loro scomparsa dopo 60', con un picco massimo a 30'.

Il fattore scatenante di questa degenerazione idropica cellulare si ritiene sia lo shift del pH stromale, dovuto alla produzione di biossido di carbonio-acido lattico, per la glicolisi attivata dall'ipossia secondaria alle Lac (Holden 1985), relativamente reversibile. Da più studi sembra ormai certo che l'entità della risposta alle Lac sia inversamente proporzionale al valore di trasmissibilità (Dk/t) della lente nei confronti dell'ossigeno.

La "sindrome da intolleranza alle lenti a contatto" produce, com'è noto, una soggettiva riduzione dell'acuità visiva, fotofobia e edema stromale all'applicazione della Lac. In questi casi si è dimostrato un disordine del mosaico corneale endoteliale con gradi elevati di polimegatismo, che persiste dopo molto tempo negli ex-portatori. Si potrebbe, in un certo senso, riconoscere un ex-portatore di Lac dal suo CV, essendo la tassella-

zione endoteliale stabile nei portatori di lac da breve tempo. Maggiori dimensioni cellulari con aumento del polimegatismo si riscontrano solo nei portatori di lungo termine.

LE GUTTE

Un altro breve accenno si deve fare sulle gutte endoteliali. L'endotelio corneale con l'età si altera e la perdita delle cellule, oltre a determinare Polimorfismo e Polimegatismo, provoca un ispessimento della membrana di Descemet (Jean Descemet 1732-1811) che, se è concentrato in piccole aree, si caratterizza con formazioni istologiche dette gutte o corpi di Hassall-Henle. Normalmente sono dislocate in aree corneali periferiche e si possono ritrovare con grande frequenza dopo i quaranta anni (in più del 70%). Se centrali, possono essere uno dei segni della Distrofia di Fuchs, che si manifesta tardivamente solo di raro in infanzia, particolarmente nel sesso femminile, bilateralmente, anche se si riscontra spesso una cornea più coinvolta dell'altra.

Prima di arrivare alla cheratopatia bollosa terminale, che portava questi pazienti al trapianto corneale a tutto spessore, il quadro clinico della Fuchs si caratterizza per un diffuso ispessimento della Descemet (spesso 20-30 micron) con edema stromale secondario, fino alla formazione di micro bolle epiteliali.

Nelle fasi iniziali le gutte sono l'elemento patologico principale, diffuse su tutta l'area endoteliale e, all'esame speculare, appaiono come buchi neri di varia dimensione, facendo acquistare all'endotelio un aspetto tarlato, a vetro battuto. Oggi al trapianto a tutto spessore non si arriva più. Le nuove tecniche di cheratoplastica endoteliale DSAEK/DSEK permettono di risolvere prima e meglio questa patologia. In sostanza ciò che noi chiamiamo gutte (dal latino guttae= goccia) sono aree di endotelio senza cellule, con addensamento della Descemet e della lamina basale, che appaiono come aree nere all'esame microscopico endoteliale ed alla lampada a fessura.

LA MICROSCOPIA CONFOCALE

Il microscopio confocale nasce negli anni cinquanta. Le basi teoriche della strumentazione sono state attuate da Marvin Lee Minsky (1927-2016), (nato a New York 1927) che si è dedicato,



Fig. 8 - Modulo Rostok per HRT 3 Heidelberg Engineering; HRT 3; Immagini di sezioni corneali dall'epitelio all'endotelio all'HTR 3.

tra l'altro, a studi sull'intelligenza artificiale, suo principale campo d'applicazione. I primi microscopi progettati con tecnologia CLSM Confocal Laser Scanning Microscope, furono costruiti in Inghilterra all'inizio degli anni novanta e commercializzati dalla ditta Bio-Rad da prototipi costruiti nel MRC Laboratory of Molecular Biology di Cambridge su progetti di *W. Bradshaw Amos* (1945), iniziati dieci anni prima. Lo strumento opera come un normale microscopio ottico, ma la risoluzione finale è molto aumentata. Attraverso due diaframmi (pinholes) per la luce



Fig. 9 - Confoscan 4 Nidek.

emessa e per quella riflessa, s'impediscono al massimo le dispersioni e le interferenze dovute sia alla luce di eccitamento, che viene concentrata sull'area campione, sia alla luce riflessa dagli altri piani, con l'eliminazione di perdite di nitidezza. Il termine confocale descrive appunto la caratteristica di questo microscopio: il punto d'osservazione e la fonte d'illuminazione sono focalizzati su un unico punto "*common focal point*".

Tale peculiarità fa ridurre le riflessioni di luce dalle zone vicine al punto d'osservazione, "*chiacchierio*" in microscopia, con aumento della risoluzione e dell'ingrandimento. Si ottiene così una visione cellulare e in parte intracellulare, senza arrivare alla visione degli organuli intracellulari, mitocondri o nucleolo. Esistono due modalità di microscopia confocale in oftalmologia: a luce bianca ed a luce laser. Quella a luce bianca è utilizzata dal Confoscan 4.0, (Nidek Technologies, Italy), mentre quella a luce laser è usata dal HRT3-Rostock con Cornea Module (Heidelberg Eng., Germany) (figg. 8, 9).

Il Confoscan 4 della Nidek è uno strumento dedicato allo studio della cornea, il primo commercializzato ed ideato a tale fine. Permette un ingrandimento di 800-1000X, su un'area d'immagine di 300-400 micron di lato con lenti 40X, acquisite da una telecamera ad alta risoluzione. Permette di studiare la cornea in tutti i suoi strati, sezionandola "*a fettine*" di pochi micron, dall'endotelio all'epitelio, con acquisizione dei valori pachimetrici di ogni strato indagato, per mezzo di un gel viscoso trasparente interposto tra la probe e la cornea. Maggiore è la riflettività dello strato corneale, migliore è la qualità dell'immagine finale, per cui l'endotelio, che è a maggior riflettività, è fortemente evidenziato, mentre lo stroma si nota con minor dettaglio.

L'HRT è uno strumento della Heidelberg Eng., multifunzione, con la possibilità di avere tre moduli. Nell'ultima versione l'HRT 3 può avere:

- *il modulo glaucoma con il Glaucoma Probability Score (GPS) che permette di evidenziare l'evoluzione del danno delle fibre ottiche nel tempo;*
- *il modulo retina, che permette di quantificare lo spessore per settori del polo posteriore della retina;*
- *il modulo cornea che è un vero microscopio confocale.*

L'HRT utilizza una sorgente laser a diodo Elio-Neon a 670 nm, fornendo sezioni di cornea di 10 micron di spessore.

La differenza sostanziale tra le due tecnologie consiste nel fatto che l'utilizzo di una sorgente laser permette d'indagare anche le zone periferiche e limbari della cornea-sclera, senza la diffrazione luminosa, propria di queste strutture non trasparenti, molto evidente nella microscopia confocale a luce bianca. L'indagine limbare non è comunque possibile a tutto lo spessore, rimanendo confinata agli strati superficiali, per ora limite di questa metodica anche con luce laser. La microscopia confocale è utilizzata largamente in biologia. Permette lo studio tridimensionale delle strutture indagate, con se-

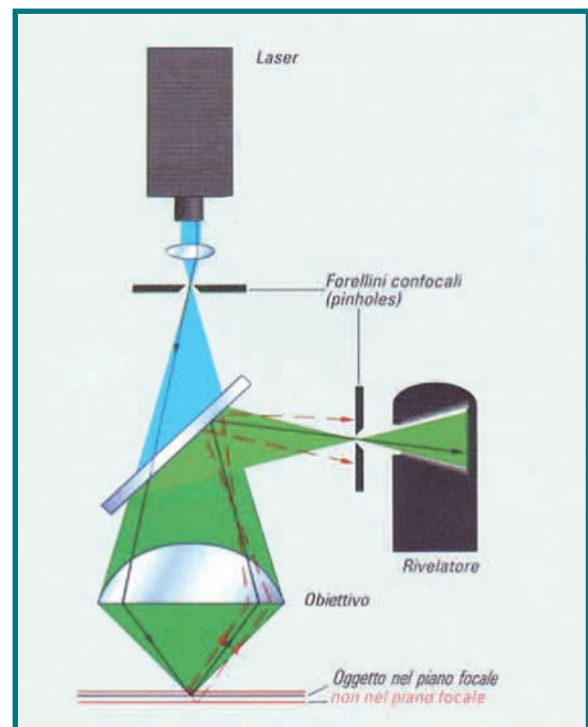


Fig. 10 - Rappresentazione schematica del principio di funzionamento del microscopio confocale.

zione in piani paralleli dei preparati, minimizzando le interferenze provenienti dalle altre sezioni adiacenti con l'uso di diaframmi, i pinholes, già citati. Per lo studio dei tessuti biologici è usato unicamente il laser come sorgente di luce (figg. 10, 11).

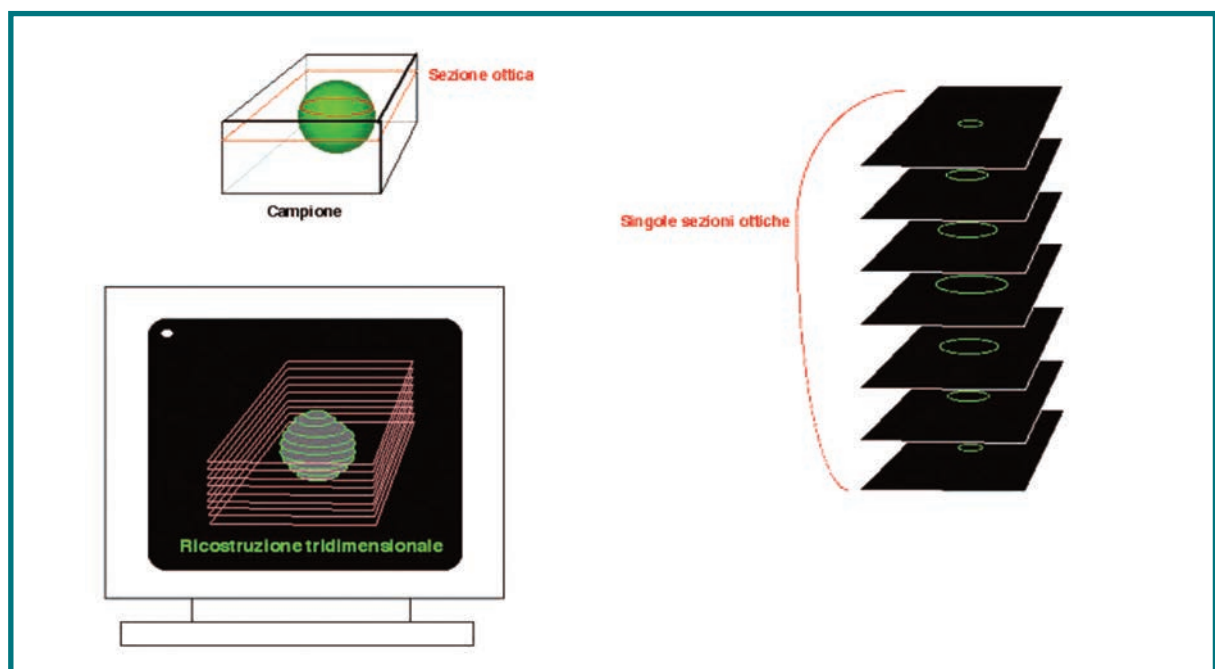


Fig. 11 - Schema microscopio confocale.

Questa metodica d'indagine permette quindi un esame istologico di tutta la cornea, lo studio dettagliato delle patologie corneali, delle sezioni dello stroma prodotte dalle diverse chirurgie rifrattive corneali.

Con lo studio confocale molti insuccessi chirurgici si sono compresi meglio, e lo studio confocale della cornea guida ormai l'evoluzione delle tecniche chirurgiche rifrattive, come indispensabile banco di prova. Lo strato endoteliale è ben visionato ma non acquista maggiore definizione rispetto alla microscopia endoteliale speculare.

CONSIDERAZIONI FINALI

L'endotelio corneale affascina e stupisce l'oculista per la sua sorprendente unicità morfo-funzionale, risultando un "*unicum*" biologico nel nostro organismo. Sia la microscopia speculare che quella confocale ne danno un'immagine chiara e dettagliata, senza grandi differenze qualitative. Il limite ancor oggi è che s'indaga una piccola area centrale della cornea, anche se si può spostare il campo d'indagine su zone medio-periferiche, facendo guardare il paziente lateralmente o scegliendo campi non centrali nel menu a disposizione in alcuni strumenti speculari (Topcon 3000 SP) o confocali (HRT3 Rostok).

Il futuro avrà come sfida l'indagine limbare e delle cellule staminali con tecnologie non invasive, per un'informazione veloce e confortevole dello stato corneale globale, compresa la riserva staminale cellulare. Per ora possiamo solo estendere lo studio corneale ancora più diffusamente nella pratica clinica, per avere dati che serviranno

nella storia del paziente, e che potranno aiutare le nostre scelte terapeutiche verso decisioni più oggettive, appropriate e documentate.

REFERENCES

- 1) Zantos SG and Holden BA (1977). Transient endothelial changes soon after wearing soft contact lens. *Am J Optom Physiol Opt.* 54, 856-858.
- 2) Efron N, Hollingsworth J, Koh HH, et al. (2001). Confocal microscopy. The cornea. In: *Its Examination in Contact Lens Practice*. P.86-135, Ed. Efron N. (Oxford: ButterworthHeinemann).
- 3) Holden BA, Williams L and Zantos SG (1985). The endothelial changes in the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 26, 1354-1359.
- 4) MacRae S.M., Matsuda M., Shellan S., et al. The effect of hard contact lenses on the corneal endothelium. *Am J Ophthalmol*, 1986. 102: 50.
- 5) Holden BA, Sweeney DF, Vannas A, et al. Effect of hard and soft contact lens wear on the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 102, 50-57.
- 6) Nathan Efron. *Contact Lens Complication*. 2004 ButterworthHeinemann.
- 7) J. Wang, D.Fonn, T.L. Simpson, J. Lyndon. Pre-corneal and Pre and Post Lens Tear Film Thickness Measured Indirectly with Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalm Vis Sci* 2003; 44:2524-2528.
- 8) Holden BA, Sweeney DF. Corneal exhaustion syndrome (CES) in long term contact lens wearers: A consequence of contact lens induced polymegathism? *Am J Optom Physiol Opt* 1988; 65:95P.

CAPITOLO 3

EPR E L'IMAGING RETINICO

BREVI NOTE ISTO-FISIOLOGICHE

L'epitelio pigmentato retinico (EPR) è stato individuato nell'uomo come entità istologica individuale già dall'inizio del XX secolo. Gli fu dato il nome di *tapetum nigrum* perché scuro, in contrapposizione al *tapetum lucidum*, non pigmentato e riflettente, del regno animale (fig. 1).

La diversa riflettenza dell'EPR è causa del noto riflesso luminoso pupillare "*Eyeshine*" di alcuni animali. Le specie animali in cui è presente hanno una buona visione notturna, che al contrario nell'uomo è poco efficiente. L'interesse della ricerca per questo strato di cellule sta aumentando progressivamente, alimentato dalle nuove strumentazioni presenti sul mercato. La possibilità offerta dalla tomografia ottica a radiazione coerente di distinguere ogni singolo strato retinico ha posto ulteriormente l'accento sul ruolo specifico dell'EPR, col quale prendono contatto i segmenti esterni dei coni e bastoncelli. Si stima che il numero delle cellule dell'EPR sia tra i 3 e i 5 milioni, variando di forma e dimensione dalla macula verso la periferia. Prevalentemente esagonali al polo posteriore con un diametro medio di 16 micron, aumentano di estensione in area equatoriale, fino a 60 micron in estrema periferia retinica. I coni sono circa 6-7 milioni, i bastoncelli 125 milioni; una singola cellula dell'EPR è in rapporto con più fotorecettori. Nella regione maculare il contatto cellulare diventa esclusivo ed ogni cellula pigmentata circonda un solo cono; oltre l'area maculare, più bastoncelli trovano contatto con una cellula pigmentata. Ne conse-

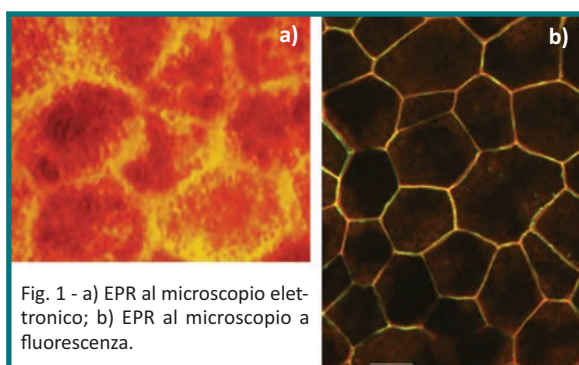


Fig. 1 - a) EPR al microscopio elettronico; b) EPR al microscopio a fluorescenza.

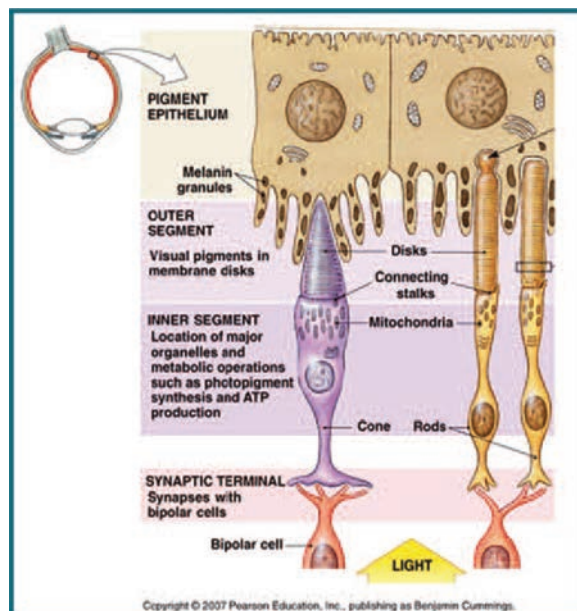


Fig. 2 - Schema dei rapporti tra fotorecettori, EPR e bipolari.

gue la differenza numerica tra i fotorecettori, 130 milioni c.a. in totale, e le cellule dell'EPR, 5 milioni c.a. Un simile rapporto privilegiato a livello maculare, uno ad uno, esiste anche tra i coni maculari e le cellule bipolari, permettendo un'alta risoluzione delle immagini; i bastoncelli, al contrario, si connettono con le bipolari in modo non esclusivo, modalità nota come "*convergenza neurale*" (fig. 2).

Il tappeto dell'EPR è in stretto rapporto con la lamina di Bruch, che al microscopio ottico è formata da due strati: uno più sottile adeso all'EPR, l'altro più spesso, con fibrille di connessione, di pertinenza coriocapillare. Al microscopio elettronico la membrana di Bruch ha un aspetto pluristratificato. Dall'interno verso la corioide troviamo:

- la membrana basale interna
- lo strato collagene interno
- lo strato elastico intermedio
- lo strato collagene esterno
- la membrana basale esterna

Normalmente la membrana di Bruch non è visibile agli OCT anche Spectral Domain, tranne che in presenza di drusen o sollevamenti dell'EPR, dove si evidenzia come una sottile banda debolmente iperriflettente (fig. 3).

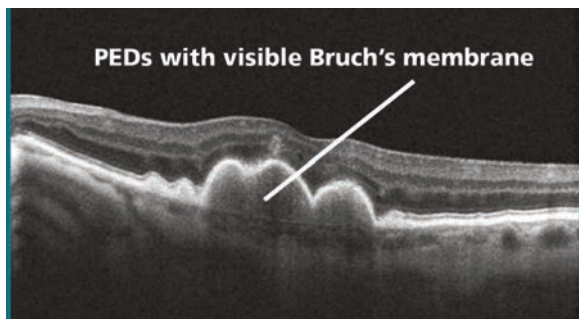


Fig. 3 - In presenza di PED la membrana di Bruch è visibile all'OCT Spectral come una linea debolmente riflettente.

Le cellule dell'EPR mantengono una forma spiccatamente esagonale soprattutto nell'area maculare, persa progressivamente oltre l'area del polo posteriore (Panda-Jonas et al.). Le singole cellule dell'EPR sono comunque sempre strettamente adese alla membrana di Bruch, per tutta la superficie retinica. Sulle caratteristiche meccaniche e bio-entropiche della geometria esagonale è stato già detto nell'articolo "L'endotelio nell'imaging corneale", nel numero precedente di questa Rivista. Le molteplici funzioni di queste cellule non si limitano comunque all'assorbimento dei fotoni di luce, nell'apportare glucosio ed acidi grassi ai fotorecettori, nella fagocitosi e reintegrazione dei dischi dei segmenti esterni esauriti di coni e bastoncelli, nella partecipazione al ciclo della vitamina A, con isomerizzazione del retinolo trans in 11-cis-retinaldeide. L'attività secretoria dell'EPR è di più recente individuazione. Numerosi sono i fattori individuati. In particolare il VEGF, vascular endothelial growth factor, le cui funzioni sono note ed il PEDF, pigment epithelium derived factor, che si ritiene stimoli i fibroblasti, favorendo l'impalcatura fibrotica dei vasi e contrastando l'attivazione del VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), in particolare del VEGFR-1. Nel PEDF (Pigment Epithelium Derived Factor) si sono inoltre evidenziate attività antiapoptotiche, di contrasto alla neurotossicità

del glutammato ed antifototossiche (survivor factor) (fig. 4).

Le Tight Junction "giunzioni serrate" con le zonulae occludentes e adherentes presenti tra le singole cellule dell'EPR costituiscono la base anatomica della barriera ematoretinica esterna. Essa non permette al flusso di liquidi prodotti dai capillari fenestrati della coriocapillare di diffondere liberamente verso la retina. Tight Junction sono presenti anche tra le cellule dell'endotelio dei capillari intraretinici che formano la barriera ematoretinica interna, al-

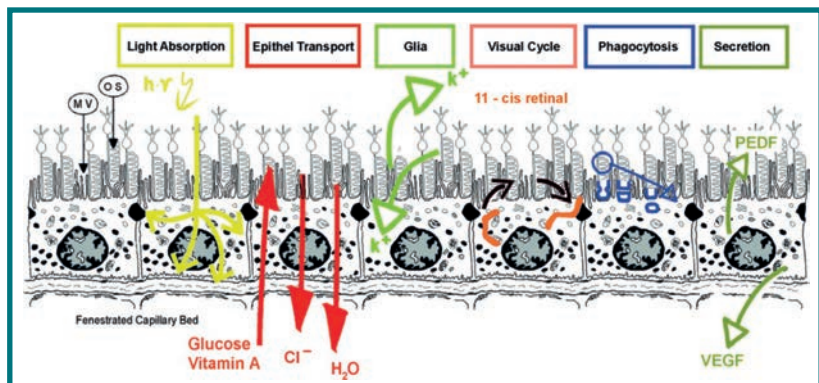


Fig. 4 - Schema delle funzioni dell'EPR con evidenza della componente secretoria (by <https://webvision.med.utah.edu>).

rettanto impermeabile. Entrambe concorrono a formare la barriera emato- oculare (fig. 5).

L'importanza dei rapporti anatomici e fisiologici tra l'EPR, la lamina di Bruch e la coriocapillare risiede nel fatto che le lesioni caratteristiche e prodromiche della degenerazione maculare, le drusen, si formano proprio tra l'EPR e la sua membrana basale. Le drusen possono essere piccole e dure a margini netti con diametro inferiore a 63 micron; grandi e molli a margini sfumati con diametro mag-

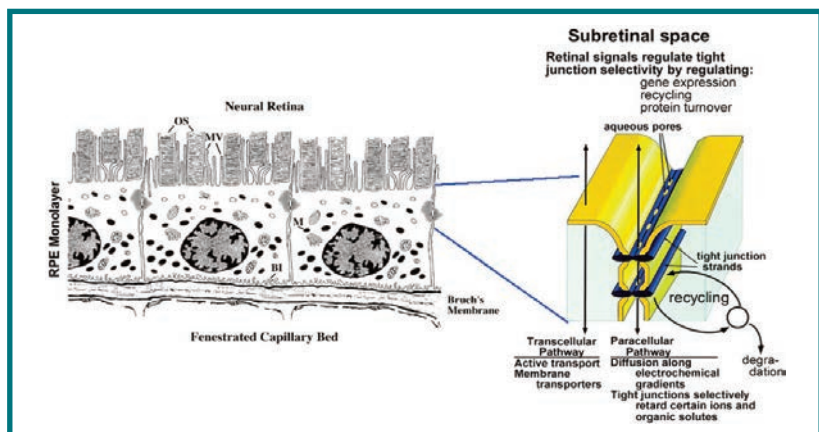


Fig. 5 - Schema dell'EPR con i segmenti esterni dei fotorecettori. In evidenza Tight Junction, capillari fenestrati della coriocapillare, spazio subretinico (by <http://anatomy.medicine.yale.edu>).

giore di 125 micron; miste con diametro compreso tra 64 e 124 micron, di consistenza variabile. Con diametro intorno ai 500 micron sono definite drusenoidi, non distinguibili dal classico distacco dell'epitelio pigmentato PED. Spesso rimangono tali per molti anni o possono innescare l'atrofia delle cellule dell'EPR e una AMD secca. Il 20% dei casi di cecità legale è dovuto a questo tipo di degenerazione maculare ed il 90% di tutte le maculopatie sono secche, non essudative. Il WHO, World Health Organization (OMS Organizzazione Mondiale della Sanità), individua nel 2010 la AMD tra le prime tre cause di cecità; nei paesi industrializzati è la prima causa di ipovisione nei soggetti di età superiore ai 50 anni. L'EPR, come l'endotelio corneale, non si moltiplica ed è opinione comune che l'apoptosi di una cellula sia compensata dall'aumento volumetrico delle cellule adiacenti. Si è constatato, in situ, che la percentuale di apoptosi dell'EPR aumenta significativamente con l'età ed è peculiare nella macula degli anziani, ma che la densità delle cellule pigmentate maculari rimane comunque invariata, a discapito di quella periferica, per probabile migrazione cellulare verso la macula (*Lucian V. Del Priore et all. Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.2002*).

I numerosi microvilli presenti nella parte apicale dell'EPR circondano i segmenti esterni dei fotorecettori con modalità più complesse per i coni rispetto a quelle dei bastoncelli, per la presenza di interdigitazioni di maggiore lunghezza. Il citoplasma delle cellule dell'EPR contiene numerosi ribosomi e mitocondri, a conferma dell'intensa attività biologica svolta, oltre a granuli di melanina che aumentano con l'età. Altro pigmento presente nel citoplasma di queste cellule che aumenta con l'età è la lipofusina. Questo cromoforo deriva dal materiale di scarto dei segmenti esterni dei fotorecettori ed il suo accumulo, da più ricercatori, è considerato tra le cause della generazione maculare legata all'età.

La **lipofusina** conosciuta anche come pigmento dell'invecchiamento aumenta nel citoplasma delle cellule dell'EPR con il progredire dell'età, particolarmente nelle cellule pigmentate della macula, nei primi due decenni in modo quasi esponenziale, più lentamente per il resto della vita. Questa macromolecola polimerica ad elevato peso molecolare, costituita essenzialmente di residui di lipidi, proteine e pochi carboidrati, non è degradabile dalle idrolasi lisosomiali citoplasma-

tiche, né eliminabile per esocitosi. Assume una colorazione marrone ed è la causa principale dell'autofluorescenza retinica. (*FeeneyBurnsL. et.all. Invest. Ophth. Vis. Sci. 1984*).

La **melanina** è normalmente prodotta dai melanociti tramite i ribosomi del reticolo endoplasmatico rugoso e l'apparato del Golgi. Le vescicole di premelanosoma, dopo vari stadi si trasformano in melanosoma, a partire dalla tirosina tramite la tirosinasi, un metallo-enzima contenente rame. La tirosinasi, alla presenza di ossigeno, ossidifica la tiroxina (p-idrossifenilalanina) e la trasforma in DOPA (3,4-diidrossifenilalanina). Una successiva ossidazione porta alla formazione di dopachinone. A questo stadio la biosintesi si differenzia per le feomelanine e le eumelanine. Le feomelanine si formano per combinazione del dopachinone con cisteina; le eumelanine passano invece attraverso varie ciclizzazioni e polimerizzazioni: si forma prima leucodopacromo (acido 5,6-diidrossindolo-2-carbossilico) che diventa dopacromo e per successive ossidazioni e decarbossilazioni, in presenza di cationi metallici e di enzimi, si trasforma in eumelanina. Il melanosoma maturo può contenere entrambe questi pigmenti: la eumelanina nero-bruno, la feomelanina giallo-rossa. A questa diversa possibile biosintesi è dovuta la colorazione della pelle. Nell'uomo ci sono entrambe queste due classi di melanine, con in comune il substrato precursore della tirosina (schema della melanogenesi di Raper-Manson).

Nella popolazione di colore nero è presente eumelanina compatta, nei soggetti bianchi l'eumelanina è associata ad una quota di feomelanina. L'albinismo è caratterizzato da una riduzione di sintesi di melanina, mentre i melanociti sono normali in numero e struttura. Le cellule dell'EPR sono in grado di sintetizzare melanina e sono considerate cellule melaniche extracutanee, insieme con gli altri melanociti dei distretti profondi, le leptomeningi, la mucosa orale, l'orecchio interno e la stessa uvea. A differenza dei melanociti epidermici, la componente extracutanea ha la caratteristica di sintetizzare pigmento solo durante i primi stadi della vita embrionale, senza altra sintesi, anche se esistono prove discordanti per una loro attività funzionale in vita, sia fisiologicamente che in condizioni patologiche (nella cute ci sono un melanocita ogni 30-36 cellule basali). Come per i melanociti anche per l'EPR non è stata riscontrata un'eventuale frequenza di duplicazione in vivo.

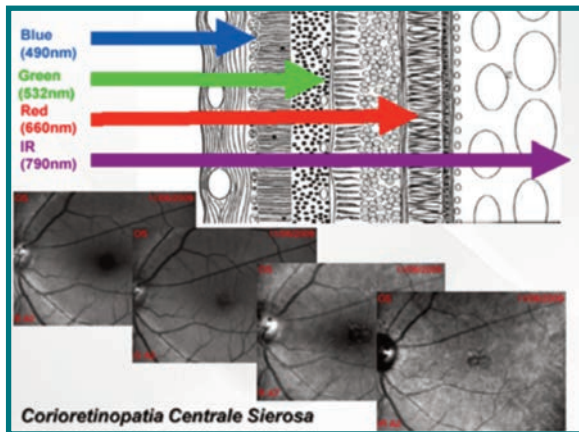


Fig. 6 - Penetrazione delle radiazioni ottiche alle diverse lunghezze d'onda nella corioretina.

LA RETINOGRAFIA

La prima e più semplice documentazione strumentale della retina e dell'EPR è la retinografia. È ottenibile con una fundus camera (Topcon, Canon, Zeiss, Kowa) o con strumenti a scansione laser confocali (HRA, Heidelberg, F10 Nidek), anche in miosi relativa (3 mm), con fundus camera non midriatiche o ibride (non midr/midr), utili in alcune patologie e specifiche evenienze cliniche; sicuramente i migliori risultati iconografici si ottengono in midriasi farmacologica. Le fundus camera utilizzano una luce xenon a banda larga, possono avere angoli d'indagine da 20° a 60°, richiedono alte intensità di luce fino al 100% della dose massima di sicurezza, con una risoluzione di 15-20 micron/pixel. I sistemi laser utilizzano invece lunghezze d'onda selettive per la fotografia, l'autofluorescenza, l'angiografia con fluoro o/e indocianina, con risoluzioni di 5 micron/pixel ed una SNR (Signal Noise Ratio=indice segnale/disturbo per audio-video) migliore rispetto alle fundus camera, con modesti livelli di luce proiettati in retina (1% rispetto alle fundus camera). Utilizzando varie lunghezze d'onda si possono ottenere diversi tipi d'immagini retinografiche (figg. 6, 7).

In particolare è possibile avere una retinografia in (tab. 1):

- Luce Aneritra o Red-Free o Green (532-540nm)** (an=negazione e eritro=rosso), particolarmente utile per evidenziare vasi, drusen, essudati duri, membrane epiretينية;
- Luce Blu-Verde o Cobalto (490 nm)** utile per lo strato ganglionare e la superficie epiretينية;
- Luce Rossa (660-680 nm)** utile per l'EPR e la coroide;

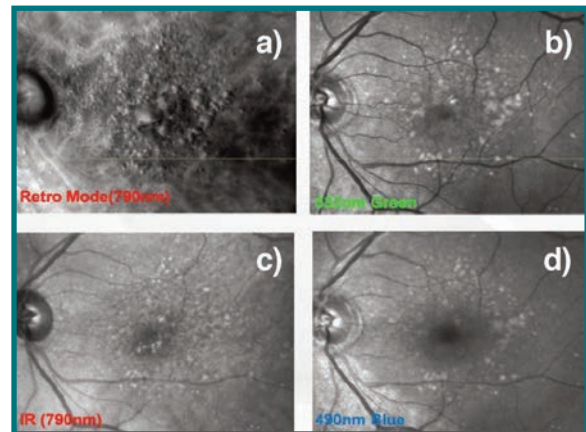


Fig. 7 - Imaging multimodale di drusen maculari con modalità: a) Retro Mode -790 nm con luce laser infrarosso per retrodiffusione; b) luce aneritra-532-540nm (Red-Free o Green); c) Infrared-790 a 820nm (IR); d) luce Blu-Verde o Cobalto-490 nm.

▪ Luce Aneritra - RedFree - Green (532-540nm) (an=negazione eritro=rosso), particolarmente utile per evidenziare i vasi, drusen, essudati duri, membrane epiretينية. ▪ Luce Blu -Verde - Cobalto (490 nm) utile per lo strato ganglionare e la superficie epiretينية. ▪ Luce Rossa (660-680 nm) utile per l'EPR e la coroide. ▪ Autofluorescenza - AF- FAF (luce blue 490nm, infrarosso 790 nm) si avvale di filtri simili a quelli per la fluoro, senza mezzo di contrasto, sfruttando la naturale fluorescenza retينية. ▪ Infrared - IR (da 790 a 820 nm) invisibile al paziente, utile in presenza di cataratta. ▪ Retro Mode - RM (790 nm) immagini retiniche ottenute con luce laser infrarosso per retrodiffusione. (F 10 brevetto Nidek Co.)
--

Tab. 1 - Quadro panoramico delle Retinografie.

- Autofluorescenza o AF o FAF (in luce blue o infrarosso) con filtri simili a quelli per la fluoroindocianina, senza mezzo di contrasto, sfruttando la naturale fluorescenza retينية;**
- Infrared o IR (da 790 a 820 nm) utile in presenza di cataratta, invisibile al paziente;**
- Retro Mode (790 nm) ottenuta con luce laser infrarosso per retrodiffusione (F 10 brevetto Nidek Co.).**

L'importanza della retinografia è confermata dal fatto che l'American Academy of Ophthalmology ha stabilito una scala di affidabilità nelle metodiche di screening per la retinopatia diabetica, ponendo la retinografia in midriasi eseguita in sette quadranti, secondo i parametri dell'EDTRS, al vertice di tale scala. La molteplice offerta strumentale permette oggi indagini fotografiche, tomografiche, fluoroangiografiche ed indocianinografiche con lo stesso strumento. La nuova frontiera strumentale risiede nella possibilità di avere più possibilità diagnostiche con un'unica unità strumentale. Alcuni

OCT Spectral Domain offrono infatti, contemporaneamente alla tomografia, esami fotografici a varie lunghezze d'onda, fluoroangiografia, indocianina ed autofluorescenza (Imaging Multimodale).

AUTOFLUORESCENZA E RETRO MODE

È opportuno porre l'accento sull'autofluorescenza per la sua attualità e perché, eseguire quest'esame insieme alla tomografia, qualifica e differenzia gli OCT. Gli OCT Spectral che possono eseguire l'autofluorescenza sono lo Spectralis Heidelberg BluePeak (40000 A Scan/sec) e il 2000 3D FA+ Topcon (50000 A Scan/sec). La fluorescenza, che fa parte della grande famiglia della luminescenza, consiste nella capacità di alcune sostanze di riemettere nello spettro del visibile le radiazioni elettromagnetiche ricevute, comunemente le ultraviolette, con una maggiore lunghezza d'onda e minore energia. Dallo stato elettronico eccitato le molecole tornano rapidamente allo stato energetico fondamentale di riposo, con emissione di radiazioni spostate verso la banda del rosso, rispetto alle lunghezze d'onda ricevute (legge di Stokes). Nella fosforescenza la luce continua ad essere emessa per un certo periodo dopo la cessazione dello stimolo; nella fluorescenza, invece, ogni attività di luminescenza cessa contemporaneamente al venir meno dell'eccitazione.

La fluorescenza è presente spontaneamente in alcuni minerali, tessuti contenenti clorofilla, in certi petroli. È questa la fluorescenza primaria. In biologia è spesso utile causare una fluorescenza secondaria o indotta, trattando i tessuti e/o le cellule con sostanze fluorescenti, i "fluorocromi", che li rendono visibili. Su questo principio si basa il microscopio a fluorescenza. L'autofluorescenza è una retinografia non invasiva che consente di evidenziare la fluorescenza spontanea della retina illuminata da lunghezze d'onda stabilite. Alcuni cromofori retinici sono fluoruri endogeni in grado di emettere un segnale di fluorescenza se eccitati da adeguate lunghezze d'onda. Le caratteristiche del segnale emesso dipendono dalla natura e concentrazione di queste sostanze all'interno dei substrati biologici. Modificazioni di tali substrati, presenti essenzialmente nelle cellule dell'EPR, determinano cambiamenti della fluorescenza emessa. Le sostanze coinvolte in questa fluorescenza sono la lipofusina, eccitata da lunghezze d'onda

di 490 nm, autofluorescenza blu (BlueAF); e la melanina, che si eccita con lunghezze d'onda di 790 nm, autofluorescenza all'infrarosso (IRAF). Entrambe queste sostanze sono contenute essenzialmente nel citoplasma delle cellule dell'EPR, anche se possono trovarsi, in minor concentrazione, in altra sede. Precursori della lipofusina, ancora poco studiati, possono concorrere a fenomeni di autofluorescenza retinica come l'A2PE e l'A2E. L'AF era rilevabile, fino a poco tempo fa, con angiografi scanning laser SLO, come l'HRA dell'Heidelberg, o le Fundus Camera con particolari filtri.

Da qualche tempo l'AF è effettuabile anche con strumentazione OCT Spectral, integrata con SLO o Fundus Camera. Il rinnovato interesse per l'EPR dipende anche da questa recente metodica d'imaging. Con sempre maggior frequenza, infatti, l'AF si esegue insieme all'esame OCT, risultando di grande aiuto nella valutazione clinica e prognostica delle più svariate malattie retiniche. Le patologie che si avvalgono di un esame in BlueAF sono principalmente la degenerazione maculare senile nella forma secca, la corioretinopatia sierosa centrale, la Stargart, la Best ed il foro maculare. Per quest'ultima patologia questa metodica è di essenziale aiuto nel distinguere uno pseudoforo da un foro lamellare, per l'aumento dell'AF solo in mancanza di tessuto retinico. L'autofluorescenza all'infrarosso (IRAF) è principalmente indotta dalla melanina dell'EPR presente in area foveale; si ottiene con gli stessi filtri dell'indocianinografia, esclusivamente con strumentazione a Scanning Laser (HRA e HRA-OCT Spectralis). Meno utilizzata di quella in luce blue è utile per monitorare i nevi coroideali e le emorragie sottoretiniche. Come si comprende l'AF è un segno indiretto della funzionalità della retina esterna ed in particolar modo dell'EPR. Un'iperautofluorescenza, iperAF, denota generalmente accumulo di lipofusina nelle cellule pigmentate come nella maculopatia iniziale, ma può significare anche un'aumentata attività di queste cellule, come nella sierosa centrale dove, al bordo dell'area perilesionale, di solito ipoautofluorescente, ipoAF, si possono trovare punti iperAF, segno di persistenza dell'attività lesionale. Nella malattia di Stargart i "flecks" sono iperAF per l'accumulo dei segmenti esterni dei fotorecettori destrutturati; nelle fasi iniziali della Best si ha prima iperAF e dopo ipoAF, per l'avanzare dello stato atrofico terminale della malattia.

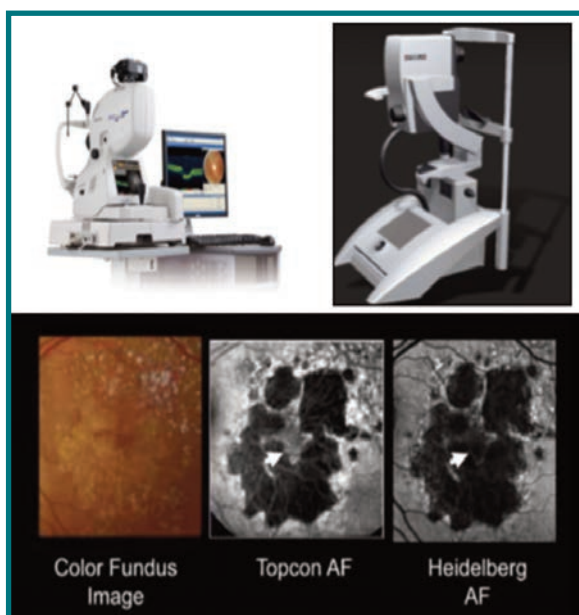


Fig. 8 - Autofluorescenza con Fundus Camera e SLO. Le aree retiniche centrali non ancora coinvolte sono meglio individuate dall'AF con Fundus Camera rispetto all'AF con SLO.

Un aumento dell'AF si può avere anche per *"effetto finestra"*, come nel foro maculare, dove gli strati retinici sono mancanti, con esposizione dell'EPR. Nello pseudoforo maculare, come è stato detto, l'AF non si modifica, a testimonianza dell'integrità degli strati retinici. L'AF da "esposizione" deve essere distinta da quella dovuta ad accumulo di lipofusina, primo evento per un danno cellulare. La diagnosi differenziale tra le due AF non sempre è facile, specialmente se non si hanno a disposizione altri dati clinici e strumentali della patologia in esame. Ogni esame strumentale, anche il più sofisticato, deve essere sempre "contestualizzato" con gli altri dati clinici ed anamnestici, per non incorrere in "errori tecnologici"! Questa singolare retinografia, comunque, si affianca ormai di diritto alle altre tecniche di imaging strumentale e, sempre più, è abbinata all'esame fotografico, tomografico, Retro Mode e fluoro-indocianinografico. Tra l'autofluorescenza con Scannig Laser e quella con Fundus Camera esistono alcune differenze qualitative. Alcuni autori come *P.J. Rosenfeld*, del Bascom Palmer Eye Institute di Miami, oltre ad affermare che l'autofluorescenza e l'OCT 3D saranno il futuro dell'imaging retinica, precisano che l'autofluorescenza con Fundus Camera e filtri di Spaide (esclusiva Topcon) permette di circoscrivere ed evidenziare con più precisione le aree retiniche non ancora interessate dall'atrofia maculare, rispetto all'AF con SLO (fig. 8).

Tale dato clinico è di essenziale importanza per l'evoluzione e la prognosi della AMD secca, causa più frequente di ipovisione nelle società occidentali, oltre che per fini assicurativi, sempre molto determinanti negli USA. Gli studi sull'efficacia dell'autofluorescenza non sono stati ancora completamente sviluppati e chiariti. Le diversità tecnologiche tra l'autofluorescenza con Fundus Camera e filtri selettivi e quella con Scanning Laser suscitano perplessità ed incertezze, anche tra gli operatori più esperti. La storia relativamente recente dell'autofluorescenza nell'imaging retinico giustifica queste diversità interpretative. L'esperienza clinica chiarirà ogni attuale incertezza e l'utilizzo di questa tecnica si affermerà sempre più, come sta già largamente avvenendo, per migliorare e completare in ogni aspetto l'imaging multimodale della corioretina.

La tecnica d'imaging Retro Mode è un retinografia ottenuta con un principio opposto a quello confocale (apertura del diaframma centrale), allo scopo di catturare le immagini per riflessione dai piani fuori fuoco, con blocco delle immagini centrali, e rilievo dello *"scattering"* laterale (apertura del diaframma ad anello). Così è possibile l'osservazione della corioide per riflessione dalla sclera. Mentre nel percorso ottico confocale si osserva il piano che riflette la luce proiettata su di esso, nel Retro Mode si osservano gli strati retinici con la luce proveniente dal fondo, per *"retroilluminazione"*.

Con l'imaging Retro Mode è possibile evidenziare, con immagini nuove ed inedite, l'estensione geografica delle patologie corioretiniche, offrendo una visione tridimensionale delle lesioni indagate. Attualmente è possibile solo con il nuovo fluorangiografo F10 della Nidek; come le altre retinografie non richiede coloranti ed è eseguibile anche in assenza di midriasi farmacologica. L'EPR svolge in questa particolare retinografia un ruolo non secondario di *"omogeneizzazione"* della luce di ritorno sclerale, contribuendo alla realizzazione delle immagini *"in rilievo"* della corioretina (fig. 9).

Nuovi studi e confronti clinici saranno utili a svelare tutte le potenzialità diagnostiche e prognostiche di questa promettente tecnica fotografica, non ancora completamente conosciuta e studiata interamente, ma sicuramente utile per una migliore comprensione fisiopatologica delle malattie corioretiniche.

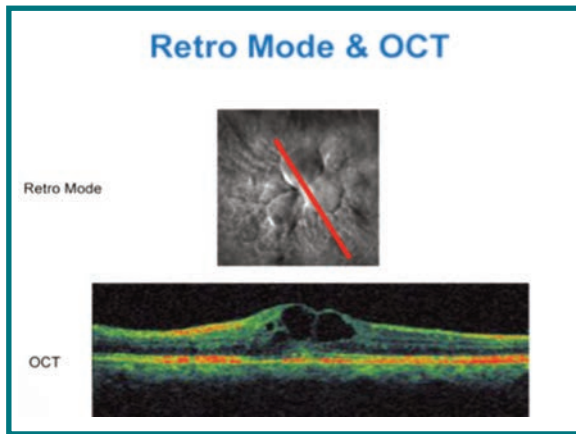


Fig. 9 - Immagine in Retro Mode e SD-OCT di edema maculare cistoide.

ULTIMATE GOAL

Com'è noto il limite degli OCT Spectral è principalmente la risoluzione trasversale o laterale di 12-20 micron; quella assiale è di 3-6 micron. Il limite della risoluzione trasversale è essenzialmente dovuto alle aberrazioni che il fronte d'onda incontra nel diottro oculare. Gli studi per migliorare la risoluzione laterale degli Spectral OCT con Ottiche Adattive sono ormai in fase avanzata, soprattutto presso l'Università dell'Indiana, in collaborazione con il Lawrence Livermore National Laboratory. Tali studi beneficiano del finanziamento del Centro NSF (National Science Foundation) di Santa Cruz in California con una richiesta, per l'anno fiscale 2009, di 15 milioni di dollari. Con l'aiuto di un sensore di Shack-Hartmann e di ottiche deformabili si è messo a punto un software capace di arrivare ad una risoluzione trasversale di 2-4 micron, limite utile per la discriminazione cellulare.

Questa tecnologia comunque è ancora da perfezionare per essere fruibile commercialmente su larga scala. Aspettando gli AO-OCT, OCT con Ottiche Adattive antiaberranti, le novità tecnologiche a nostra disposizione sono gli Spectral OCT di ultima generazione, con rilevazione dell'autofluorescenza integrata e studio morfo-funzionale della coroide. L'AF è disponibile con l'OCT Spectralis Blue-Peak dell'Heidelberg (40000 A-Scan/sec) e con il 3D OCT 2000 FA+ della Topcon (50000 A-Scan/sec). I vantaggi di avere l'AF integrata negli OCT, dopo quanto detto, sono facilmente intuibili, sia per lo studio dell'EPR, ago della bilancia per la patologia retino-maculare, che per un più preciso confronto nel tempo dell'avanzare dell'atrofia retinica. I maggiori dettagli tomografici raggiunti sugli strati esterni della retina, coinvolti nella pato-

logia maculare atrofica e neovascolare, stanno fornendo nuove conoscenze fisiopatologiche e nuovi approcci terapeutici.

Ron Mangolis e Richard F. Spaide (Am. J. Ophth. 2008, 2009) hanno recentemente proposto una metodologia, sviluppata per l'OCT Spectralis dell'Heidelberg, denominata "Enhanced depth Imaging Spectral-Domain", EDI OCT, in cui la coroide può essere studiata con migliore definizione (fig. 10).

Questi risultati hanno richiesto come indispensabile presupposto tecnologico un buon eye-tracking attivo, TruTrack, e la presenza di filtri per ridurre il rumore di fondo della scansione, Noise Reduction. Queste due opzioni sono presenti entrambe nello Spectralis. È stato così possibile mi-

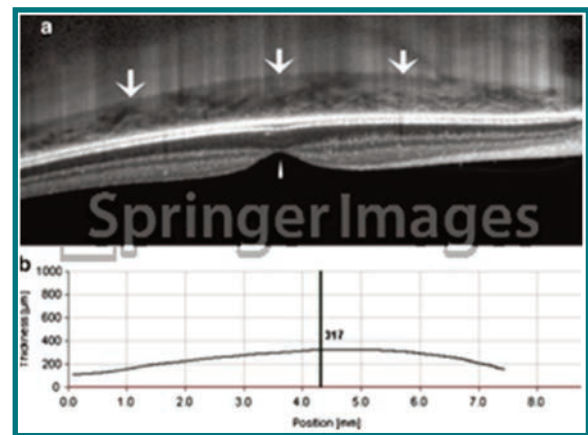


Fig.10 - EDI OCT (R.F. Spaide) con OCT Spectralis Blue-Peak Heidelberg.

surare lo spessore della coroide in retine normali, con AMD e miopia elevata. Si è trovato che lo spessore della coroide diminuisce fisiologicamente con una velocità di 16 micron per decennio di vita, che il suo spessore medio è di 287 micron, con una deviazione standard di 75.7 micron, e che i pazienti con AMD atrofica hanno uno spessore corioideale minore. Naturalmente queste ricerche non sono conclusive, e lo stesso Spaide propone di allargare il campo dell'indagine corioideale anche ad altre patologie retiniche, in particolare al glaucoma normotensivo, invitando a determinare sempre lo spessore corioideale, per avere dati statisticamente sufficienti di correlazione con le patologie neuro-retiniche.

L'OCT 2000 3D FA+ della Topcon permette la BlueAF, la fluoroangiografia con fundus camera, possiede un buon eye-tracking ed un software esclusivo per la conta delle drusen al polo posteriore; non è predisposto per indocianina né per l'IRAF,

Device	Wavelength	Scanning Depth	Axial Resolution	Scanning Speed	Auxiliary Imaging
Heidelberg 3D SDOCT ¹	840 nm	2.3 mm	3–5 μ m	17,000	
Carl Zeiss Meditec Cirrus ²	840 nm	2 mm	5 μ m	27,000	
Heidelberg Spectralis OCT ³	870 nm	1.9 mm	7 μ m	40,000	SLO/FA/ICG/ Autofluorescence
Optos/OCT Spectral OCT/SLO ⁴	840 nm	2.3 mm	5–6 μ m	27,000	SLO/ICG/ microperimetry
Optovue RTVue-100 ⁵	840 nm	2.3 mm	5 μ m	26,000	
Canon/Optopol SPOCT ⁶	840 nm	2 mm	6 μ m	25,000	
Canon/Optopol SPOCT + HR ⁷	850 nm	2 mm	3 μ m	52,000	
Topcon 3D OCT-2000 ⁸	840 nm	2.3 mm	5–6 μ m	27,000	color fundus (12.3 MP)
Topcon 3D OCT-2000 FA (+) ⁹	840 nm	2.3 mm	5–6 μ m	50,000	color fundus, FA, RE, FAF (+)

¹ 5100k approved ² 5100k pending

Tab. 2 - Caratteristiche riassuntive degli SD-OCT.

possibili solo con OCT Spectralis HRA, il tomografo attualmente con più possibilità d'esami (tab. 2).

Le Retinografie a lunghezza d'onda selettiva, l'AF, nelle varianti BlueAF e IRAF, l'EDI OCT, la conta delle drusen maculari, il Retro-Mode, sono tutti passi avanti verso una visione fisiopatologica globale della corioretina. Le novità tecnologiche non riguardano solo gli OCT. Nuove fundus camera-fluorangiografi sono oggi disponibili, con un'osservazione retinica fino a 200°, in modo panoramico, in un'unica acquisizione come l'Optos 200 TX. Progettato appositamente per oftalmologi e specialisti vitreoretinici, il nuovo dispositivo 200Tx™ offre molteplici opzioni di ripresa ed imaging della retina, attraverso l'uso di varie lunghezze d'onda, comprese immagini a co-

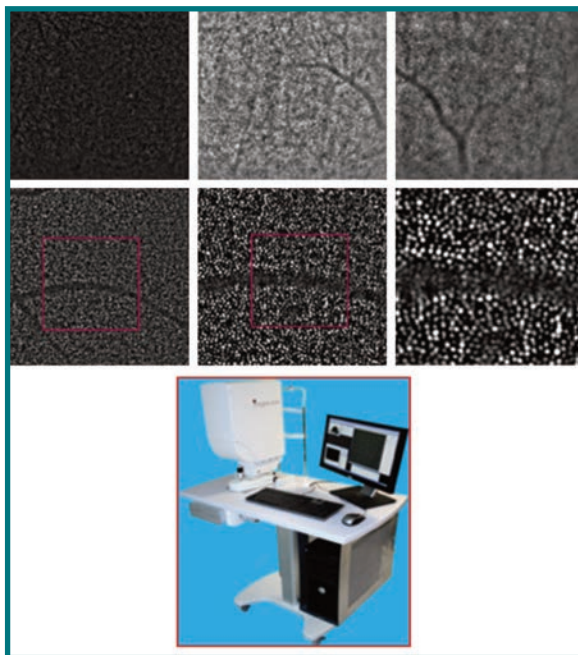


Fig. 11 - Immagini del mosaico dei fotorecettori con OA-Fundus Camera rtx1 (Imagine Eyes).

lori, rosso prive, angiografie con fluoresceina ed autofluorescenza con laser verde. Grazie alla visione simultanea polo-periferia di oltre l'80% o di 200 gradi della retina in un'unica acquisizione, il 200Tx™ aiuta a rilevare un maggior numero di patologie ed a prendere decisioni migliori sui trattamenti da eseguire. Ad Orsay in Francia, *Mark Zaccaria*, in collaborazione con altri ricercatori in Giappone e negli USA, ha perfezionato una fundus camera-fluorangiografo, rtz1 RUO, Research Use Only, per fini di ricerca, che permette, per mezzo di Ottiche Adattive, una visione cellulare del mosaico dei coni e bastoncelli per campo d'indagine, con un'iconografia molto simile alle imaging retiniche degli OA-OCT. (OA-Fundus Camera) (fig. 11).

Il percorso ottico antiaberrante con ottiche adattive verrà presto utilizzato in ogni campo strumentale sempre più ampiamente, permettendo risoluzioni di pochi micron. Le nuove tecnologie faranno comprendere in anticipo le iniziali alterazioni cellulari della retina e dell'EPR. Questo strato cellulare in particolare, come evidenziato da recenti report, è sempre più la chiave di lettura della maggior parte delle patologie retiniche. Una migliore e più dettagliata conoscenza dell'EPR sarà fondamentale nella diagnosi precoce, nella prognosi e nella terapia delle maculopatie retiniche, non più indagate su base strutturale, "a strati", ma analizzate su base cellulare (fig. 12).

Presto sarà possibile, con le Ottiche Adattive, un conteggio delle cellule dell'EPR per campo d'indagine, vera "riserva funzionale" retinica, per stabilire la reale gravità dei danni della macula. L'integrità dell'EPR è essenziale per l'eventuale progressione dell'apoptosi lungo la catena fotorecettori-bipolari-gangliari: un danno parcellare dell'EPR può essere riparato per "vicariazione" da cellule limitrofe; danni più estesi daranno più pro-

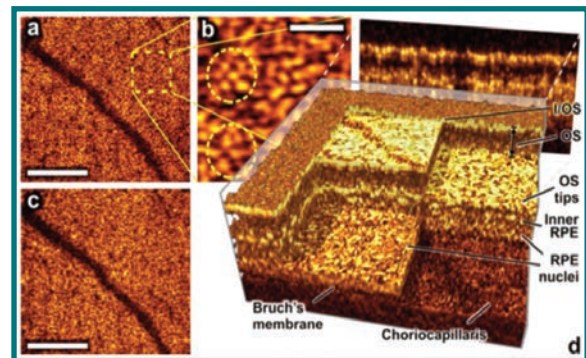


Fig. 12 - Ricostruzione degli strati cellulari retinici con OA-OCT.

tabilmente origine ad atrofia e/o a stimolo neo-vascolare, con possibilità di passaggio da una all'altra forma, e con quadri oftalmoscopici ed angiografici conseguenti. Recenti studi all'Università del Kentucky, diretti da *Jayakrishna Ambati*, hanno dimostrato che non codificate sequenze di DNA (non-coding DNA, junk DNA, Alu elements) possono essere responsabili dell'iniziale apoptosi delle cellule dell'EPR, con innesco dell'atrofia geografica retinica. L'EPR si presenta, sempre più chiaramente, come l'arbitro principale della maggior parte delle maculopatie retiniche.

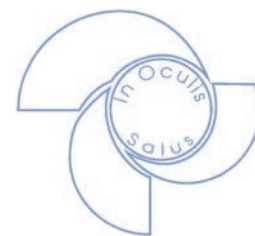
CONSIDERAZIONI FINALI

Lo spirito scientifico e di ricerca che è indirizzato verso l'EPR sicuramente sarà foriero di ulteriori novità e di interessanti ricadute strumentali, estremamente accattivanti per l'imaging retinico, essenziali per una precoce diagnosi. Avere la possibilità di applicare le Ottiche Adattive sugli OCT Spectral, OA-OCT, con l'ausilio dell'AF e delle altri imaging retinici, permetterà un collage fotografico con molteplicità di dati nello stesso Printout di Stampa. La *"Multi-Imaging"*, o Imaging Multimodale, sarà di sicuro aiuto nello studio delle patologie corio-retino-neurali, fornendo dati fotografici a profondità differenziata. L'aumentata velocità d'indagine con l'OA-OCT ed i bassi dosaggi d'illuminazione, con la Scansione Laser Confocale, permetteranno il massimo confort e sicurezza per il paziente. A noi il compito di comprendere sempre più il mondo di tali tecnologie, non solo dal punto di vista clinico-iconografico, ma anche per l'aspetto ottico-fisico, in modo da affrontare, con adeguata competenza scientifica e senza incertezze o lacune culturali, i molteplici Templates di Stampa.

REFERENCES

- 1) Besharse JC and Defoe DM. Role of the retinal pigment epithelium in photoreceptor membrane turnover. The Retinal Pigment Epithelium, edited by Marmor MF and Wolfensberger TJ. Oxford, UK: Oxford Univ. Press, 1998, p. 152–172.
- 2) Besharse JC and Hollyfield JG. Turnover of mouse photoreceptor outer segments in constant light and darkness. Invest Ophthalmol Vis Sci 18: 1019–1024, 1979.
- 3) Besharse JC, Hollyfield JG, and Rayborn ME. Photoreceptor outer segments: accelerated membrane renewal in rods after exposure to light. Science 196: 536–538, 1977.
- 4) Campochiaro PA, Sugg R, Grotendorst G, and Hjelmeland LM. Retinal pigment epithelial cells produce PDGF-like proteins and secrete them into their media. Exp Eye Res 49: 217–227, 1989.
- 5) Cao W, Tombran-Tink J, Chen W, Mrazek D, Elias R, and McGinnis JF. Pigment epithelium-derived factor protects cultured retinal neurons against hydrogen peroxide-induced cell death. J Neurosci Res 57: 789–800, 1999.
- 6) Cao W, Tombran-Tink J, Elias R, Sezate S, Mrazek D, and McGinnis JF. In vivo protection of photoreceptors from light damage by pigment epithelium-derived factor. Invest Ophthalmol Vis Sci 42: 1646–1652, 2001.
- 7) Cao W, Wen R, Li F, Lavail MM, and Steinberg RH. Mechanical injury increases bFGF and CNTF mRNA expression in the mouse retina. Exp Eye Res 65: 241–248, 1997.
- 8) Garron LK. The ultrastructure of the RPE with observations on the choriocapillaris and Bruch's membrane. Trans Am Ophthalmol Soc 61: 545, 1963.
- 9) Gibbs D, Kitamoto J, and Williams DS. Abnormal phagocytosis by retinal pigmented epithelium that lacks myosin VII a, the Usher syndrome 1B protein. Proc Natl Acad Sci USA 100: 6481–6486, 2003.
- 10) Glazer LC and Dryja TP. Understanding the etiology of Stargardt's disease. Ophthalmol Clin North Am 15: 93–100, 2002.
- 11) Lucian V, Del Priore, Ya-Hui Kuo, and Tongalp H. Tezel. Age-Related Changes in Human RPE Cell Density and Apoptosis Proportion Situ. Investigative Ophthalmology & Visual Science. October 2002, Vol. 43, No.10
- 12) Miceli MV, Liles MR, and Newsome DA. Evaluation of oxidative processes in human pigment epithelial cells associated with retinal outer segment phagocytosis. Exp Cell Res 214: 242–249, 1994.
- 13) Miceli MV, Newsome DA, and Tate DJ Jr. Vitronectin is responsible for serum-stimulated uptake of rod outer segments by cultured retinal pigment epithelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 38: 1588–1597, 1997.
- 14) Panda-Jonas S., Jonas JB, Jakobczyk M, Schneider U. Retinal photoreceptor count, retinal surface area, and optic disc size in normal human eyes. Ophthalmology. 1994 Mar; 101(3): 519–23.

- 15) Wolf Sebastian. Ophthalmology Time Europe 01-May 2011.
- 16) B. Hermann, E. J. Fernández, A. Unterhuber, H. Sattmann, A.F. Fercher, W. Drexler (corresponding author), P. M. Prieto, P. Artal. "Adaptive optics ultrahigh resolution optical coherence tomography", *Optics Letters* 29 (18), 1-3, 2004.
- 17) E.J. Fernandez, B. Povazay, B. Hermann, A. Unterhuber, H. Sattmann, P.M. Prieto, R. Leitgeb, P. Ahnelt, P. Artal, W. Drexler (corresponding author). The ree-dimensional adaptive optics ultrahigh-resolution optical coherence tomography using a liquid crystal spatial light modulator. *Vision Res.* 45(28): 3432-44. Epub 2005 Oct 24, 2005.
- 18) E. J. Fernandez, L. Vabre, B. Hermann, A. Unterhuber, B. Povazay, W. Drexler (corresponding author). Adaptive optics with a magnetic deformable mirror: applications in the human eye. *Optics Express* 14(20), 8900-8917, 2006.
- 19) E. J. Fernandez, A. Unterhuber, B. Povazay, B. Hermann, P. Artal, W. Drexler (corresponding author). Chromatic aberration correction of the human eye for retinal imaging in the near infrared. *Optics Express* 14(13), 6213-6225, 2006.
- 20) E. J. Fernandez, B. Hermann, B. Povazay, A. Unterhuber, H. Sattmann, B. Hofer, P.K. Ahnelt, W. Drexler (corresponding author). Ultrahigh resolution optical coherence tomography and pancorrection for cellular imaging of the living human retina. *Optics Express* 16 (15), 11083-11094, 2008.
- 21) C. Torti, B. Povazay, B. Hofer, A. Unterhuber, J. Carroll, P.K. Ahnelt, W. Drexler, Adaptive optics optical coherence tomography at 120,000 depth scans/s for non-invasive cellular phenotyping of the living human retina. *Optics Express*. 2009 Oct 26;17(22):19382-400.
- 22) Drexler W, Ultrahigh resolution optical coherence tomography. *Journal Biomed Optics*, 9(1), 47-74, 2004.
- 23) Unterhuber A, Povazay B, Bizheva K, Hermann B, Sattmann H, Stingl A, Le T, Seefeld M, Menzel M, Preusser M, Budka H, Schubert C, Reitsamer C, Ahnelt PK, Morgan JE, Cowey A, Drexler W. Advances in broad bandwidth light sources for ultrahigh resolution optical coherence tomography, *Physics in Medicine and Biology* 49, 1235-1246, 2004.
- 24) Drexler W, Fuijimoto JG. *Optical Coherence Tomography: Technology and Applications*. Springer Publishing, 2008. 978-3-540-77549-2, 1400 pages.
- 25) Fercher AF. Optical coherence tomography – development, principles, applications. *Z. Med. Physik*, 2009.
- 26) Feeney-Burns L, Hilderbrand ES, Eldridge S. Ageing human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984; 25: 195–200.
- 27) Spaide Richard. Autofluorescence from the outer retina and subretinal space: Hypothesis and. *Retina* Jan 2008; 28:5-35.
- 28) Yehoshua Z, Wang F, Rosenfeld PJ, Penha FM, Feuer WJ, Gregori G. Natural History of Drusen Morphology in Age-Related Macular Degeneration Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology*. 2011 Jul 1.
- 29) Yehoshua Z, Rosenfeld PJ, Gregori G, Feuer WJ, Falcão M, Lujan BJ, Puliafito C. Progression of geographic atrophy in age-related macular degeneration imaged with spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2011 Apr;118(4):679-86. Epub 2010 Oct 29.
- 30) Leng T, Rosenfeld PJ, Gregori G, Puliafito CA, Punjabi OS. Spectral domain optical coherence tomography characteristics of cuticular drusen. *Retina*. 2009 Jul-Aug;29(7):988-93.
- 31) I. Audo, M. El Sanharawi, C. Vignal-Clermont, A. Villa, A. Morin, J. Conrath, D. Fompeydie, J.-A. Sahel, K. Gocho-Nakashima, O. Goureau, and M. Paques, (2011). Foveal damage in habitual poppers users. *Arch Ophthalmol*, 129 (6):703-708.
- 32) M. Zacharria. Cellular level retinal imaging diagnostic and prognostic capabilities could be improved as a result of adaptive optics. *Ophthalmology Times Europe*, May, 2011.
- 33) M. Zacharria, B.Lamory, and N. Chateau. Biomedical imaging: New view of the eye. *Nature Photonics*, 5(1):24–26, 2011.
- 34) P. Godara, A. M. Dubis, A. Roorda, J.L. Duncan, and J. Carroll. Adaptive Optics Retinal Imaging: Emerging Clinical Applications. *Optometry and Vision Science*, 2010 87(12):930–941.
- 35) S. G. Rosolen, B. Lamory, F. Harms, J.-A. Sahel, S. Picaud, and J.-FLe Gargasson. Cellular-resolution in vivo imaging of the feline retina using adaptive optics: preliminary results. *Veterinary Ophthalmology*, 13(6):369–376, 2010.
- 36) M. Zacharria. The eyes have it – Adaptive optics approaches clinical ophthalmology. *BioOptics World*, 1(6):22–26. 2008.



CAPITOLO 4

L'ANGOLO CAMERULARE

BREVI NOTE DI ANATOMIA E FISIOLOGIA

Lo studio sistematico della camera anteriore con le nuove tecnologie Hi-Tech sta diventando sempre più importante, oltre che per la comprensione delle superfici corneali in chirurgia refrattiva, anche per meglio conoscere le resistenze del drenaggio dell'umor acqueo, particolarmente in occhi con angoli stretti.

Quigley e collaboratori, in uno studio del 2006 hanno stimato che entro il 2010 circa 3.9 milioni di persone al mondo diventeranno ciechi per l'aumento del tono oculare da chiusura d'angolo (Primary Angle-Closure Glaucoma, PACG) [1]. Secondo queste non rassicuranti previsioni nel 2020 si avranno oltre 5.3 milioni di persone con PACG, a fronte dei 67/90 milioni di soggetti affetti da glaucoma cronico semplice (fig. 1). Dopo la cataratta, il glaucoma sembra essere la causa più frequente di cecità bilaterale nel mondo.

La prevalenza del PACG, com'è noto, cresce con l'età, è più frequente nel sesso femminile e varia in base alla razza:

- *Caucasici*: 0,1%0,6%
- *Eschimesi*: 2%-5%
- *Asiatici*: 0,5%-10,1%

Nei diversi studi epidemiologici su popolazioni omogenee eseguiti in più parti nel mondo (Beaver Dam, Winsconsin USA; Blue Mountain Australia; Rotterdam Olanda; St Lucia Caraibi; Egna-Ora Italia) i criteri per definire la presenza del glaucoma non sono stati sempre uniformi. La prevalenza del glaucoma primario ad angolo aperto dopo i 40 anni oscilla in questi diversi studi tra lo 0,8 % ed il 2,4 % nella razza bianca caucasica, con un picco del 7% circa nella razza nera americana [2]. Le fibre ottiche retiniche tollerano meno un ipertono acuto rispetto a una tensione dell'acqueo più modesta e prolungata nel tempo, come avviene nel glaucoma cronico, più diffuso alle nostre latitudini. Capire se ci troviamo di fronte a un angolo occludibile è essenziale nella gestione dell'ipertono oculare oltre che a livello prognostico.

Nella pratica clinica, per condivisa esperienza, alcune condizioni anatomiche del segmento an-

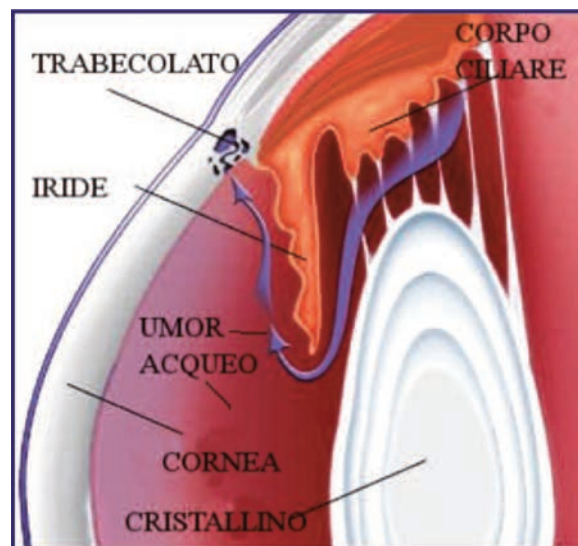


Fig. 1 - Produzione e drenaggio dell'acqueo.

teriore ci rendono prudenti nel dilatare il diaframma irideo anche in assenza di un ipertono o di altri segni di sofferenza glaucomatosa. Una buona valutazione dell'angolo rappresenta perciò un momento essenziale nella diagnosi e terapia dei pazienti ipertesi o normotesi con angoli stretti. Le prime indagini sull'angolo camerulare furono eseguite nel 1907 da Trantas che coniò il termine gonioscopia; dopo qualche anno, nel 1914, Salzmänn costruì una rudimentale lente, avendo intuito che l'angolo camerulare non si poteva osservare per la riflessione totale del fascio luminoso incidente sulla cornea [3]. La luce, infatti, quando incontra mezzi con indice di rifrazione e curvatura differenti non sempre è riflessa verso l'osservatore. Possono esistere tre possibilità in ottica-fisica:

- Angolo d'incidenza inferiore all'angolo critico, la luce è rifratta nel secondo mezzo;*
- Angolo d'incidenza uguale all'angolo critico, la luce è rifratta a 90°;*
- Angolo incidente maggiore dell'angolo critico, la luce è riflessa indietro nel primo mezzo.*

La luce durante l'osservazione dell'angolo, per la formazione di un angolo critico all'interfaccia aria-cornea maggiore di 90°, è totalmente riflessa nell'occhio senza alcuna visione del recesso camerulare [4,7]. L'angolo è posto oltre 90 gradi ri-

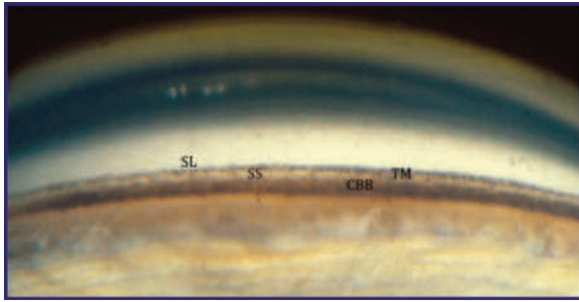


Fig. 2a - Visione gonioscopica di un angolo aperto. SL= Linea di Schwalbe, SS= Sperone Sclerale, TM= Trabecolato, CBB= Banda Ciliare

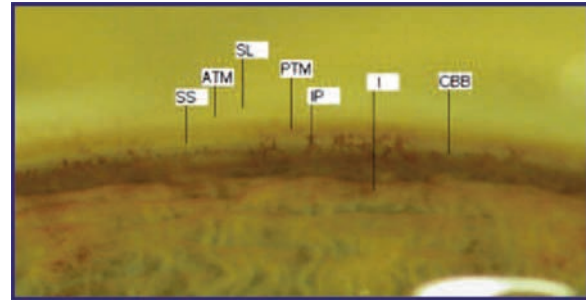


Fig. 2b - Visione anatomica di un angolo normale. SL= Schwalbe Line, ATM= Rete Trabecolare Anteriore, PTM= Rete Trabecolare Posteriore, SS=Sperone Sclerale, CBB= Banda del Corpo Ciliare, IP=Processi Iridei, I= Iride (by Lisandro Sakata MD, PhD University of Alabama, USA).

spetto all'osservazione diretta, nascosto anche mettendo di taglio la fessura della luce e l'oculare della lampada del biomicroscopio. Anatomicamente la parete anteriore dell'angolo camerulare è costituita dalla porzione periferica della membrana di Descemet, che termina con un rilievo anulare biancastro, la linea di Schwalbe, formata da fibre collagene ed elastiche addensate insieme. Più posteriormente troviamo il trabecolato che lascia trasparire il canale di Schlemm, visibile solo se nel suo lume è presente sangue refluo. Il trabecolato si estende dalla linea di Schwalbe allo sperone sclerale, reperi più importante nella gonioscopia, punto d'innesto del corpo ciliare. Nel recesso camerulare troviamo, infine, la banda ciliare, parte visibile del corpo ciliare.

La parete posteriore dell'angolo è costituita dalla radice dell'iride che si prolunga nel piano irideo (fig. 2).

Il trabecolato istologicamente è composto di lamelle connettivali, distinto in tre porzioni:

- Il trabecolato interno o uveale a contatto con l'umore acqueo;*
- Il trabecolato intermedio o sclero-corneale;*
- Il trabecolato esterno o cribriforme o iuxtacanalicolare a contatto della parete profonda del canale di Schlemm.*

Le lamelle trabecolari sono separate l'una dall'altra da spazi vuoti che delimitano fori con diametro di 25/75 micron. Dall'interno all'esterno verso la sclera i fori s'infittiscono fino ad un diametro di 5 micron in prossimità del trabecolato cribriforme adiacente al canale di Schlemm, terminale principale di scarico dell'umor acqueo (figg. 3a,3b). Tutto il complesso delle lamelle trabecolari può essere paragonato ad un frattale, costruzione geometrica che si ripete nella sua strut-

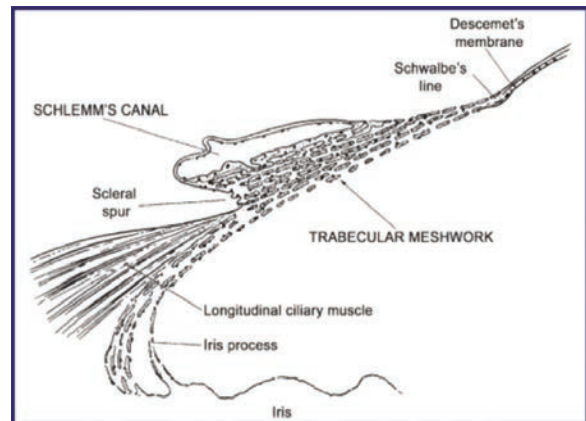


Fig. 3a - Schema anatomico di un angolo normale (by Textbook of Glaucoma - Williams & Wilkins).

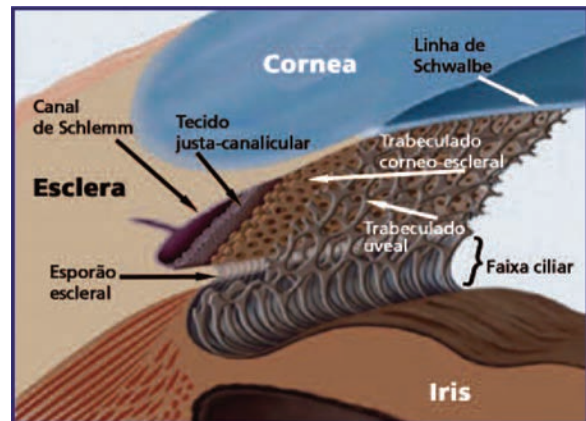


Fig. 3b - Visione tridimensionale del trabecolato.

tura allo stesso modo su scale diverse, senza cambiare l'aspetto tridimensionale di base [5-7]. In geometria un sistema frattale ha la caratteristica della "auto similarità".

Il canale di Schlemm è una formazione tubulare disposta attorno al limbus a sezione ellittica con una lunghezza variabile relativa al diametro bianco-bianco del bulbo oculare, in media 40 millimetri. Dalla formula della circonferenza del cer-

chio $2\pi r$ ($2 \times 3,14 \times$ raggio), con il raggio del piano corneale uguale alla metà circa del diametro bianco-bianco, si può ricavare la lunghezza totale del canale di Schlemm.

Il suo lume ha una sezione di circa 350/500 micron con due pareti, un'esterna sclerale e un'interna trabecolare. La prima è rivestita da uno monostrato di cellule endoteliali, mentre la seconda da due strati distinti, uno a contatto del trabecolato cribri-forme, l'altro a contatto del canale di Schlemm.

Friedrich Schlemm (1795/1858), insigne professore di anatomia a Berlino dal 1829, individuò in quegli anni, quasi contemporaneamente, l'innervazione della cornea e il canale di scarico dell'umor acqueo che da lui prese il nome [8]. Il deflusso dell'acqueo avviene attraverso più vie e in condizioni idrodinamiche differenti. La principale via di scarico è la trabecolare, pressione-dipendente, che consente 80%/85% dello scarico dell'acqueo con difficoltà progressivamente crescenti dal trabecolato uveale al cribri-forme, il meno permeabile.

La molteplicità dei possibili frattali nel trabecolato influenza sicuramente la resistenza al deflusso e all'instaurarsi dell'ipertono nel tempo. L'espressione genetica del glaucoma sicuramente si esprime anche attraverso questa struttura a frattale del trabecolato. Il deflusso attraverso questa via può aumentare per contrazione delle fibre longitudinali del muscolo ciliare, con arretramento e apertura a ventaglio degli spazi trabecolari.

Una seconda via è l'uveo-sclerale, pressione-indipendente, che utilizza la relativa pervietà del tessuto del muscolo ciliare e degli spazi sopra coroideali. Contribuisce al 15%-20% del deflusso totale in condizioni normali, assumendo notevole importanza nelle situazioni d'intasamento della via principale.

Lo scarico uveo-sclerale è attivato da alcuni farmaci come le prostaglandine e i prostanoidi, i più potenti ipotonizzanti oculari oggi a disposizione ancora con meccanismi non del tutto noti. Il deflusso irideo, infine, poco rilevante percentualmente, avverrebbe per assorbimento diretto da parte del tessuto irideo. L'umore acqueo è prodotto alla velocità di $2,2 \text{ mm}^3 \pm 0,37 \text{ mm}^3/\text{minuto}$; poiché il volume della camera anteriore può essere ricavato con le nuove tecnologie Hi-Tech, si può ricavare il tempo di turnover completo dell'umor acqueo. Avere a disposizione questi dati della camera anteriore è ormai fondamentale. Il

suo volume, la sua profondità, il diametro bianco-bianco, l'apertura angolare per 360 gradi, con le zone di maggior resistenza al deflusso, il turnover dell'acqueo, sono tutti parametri necessari per caratterizzare e conoscere al meglio la fisiopatologia dell'idrodinamica dell'acqueo [9-11].

Questi dati saranno ancora più importanti per affrontare, con maggior completezza, la problematica mai definita del tono oculare. Per arrivare a un più vero e giusto valore del tono oculare è necessario che la sua misura sia integrata non solo con la curvatura e lo spessore corneale, ma anche con ogni altro parametro fisico-meccanico che ne può influenzare, in diverso modo, il valore finale.

Come si può non pensare che il volume corneale, l'ampiezza, la profondità della camera anteriore non rappresentino, insieme allo spessore, fattori meccanici decisivi al rilievo tonometrico ricavato per deflessione dinamica della cupola corneale dopo applanazione contact o no-contact?

I moduli elastici delle strutture del segmento anteriore interessate dalla sollecitazione meccanica esterna inducono, con proporzione diversa, un errore nel dato tonometrico finale, come già ampiamente dimostrato per lo spessore corneale. Il modulo elastico della cornea risponde alle sollecitazioni meccaniche esterne con un valore al cubo del suo spessore, restando il più importante parametro nella correzione del dato tonometrico rilevato.

Una più reale misura del tono oculare dovrebbe prevedere l'integrazione di tutti i moduli elastici delle strutture anatomiche interessate dalle sollecitazioni esterne, integrati in algoritmi adeguatamente studiati e confrontati con database normativi, magari per gruppi etnici.

Si potrebbe così arrivare a stime più veritiere e reali dei dati tonometrici, indipendenti dalle strutture indentate, come avviene per la pachimetria che, dalla pubblicazione dei risultati dell'OHTS nel maggio 2002, accompagna e corregge il tono oculare nei vari modi di rilevamento. Questo argomento sarà ampiamente trattato nel capitolo sulla tonometria biomeccanica.

LA GONIOSCOPIA

Le strutture angolari della camera anteriore, com'è stato detto, non possono essere visualizzate direttamente a causa della riflessione dei raggi luminosi incidenti. L'utilizzo di una gonio-lente permette una visione del recesso angolare [12].

Ci sono due modi per eseguire una gonioscopia: la diretta, con visione corrispondente dell'angolo, e l'indiretta, con e senza indentazione, con immagini speculari a 180 gradi rispetto alla posizione dello specchio utilizzato.

Nella gonioscopia indiretta, più largamente diffusa, l'angolo critico di riflessione è superato con una prisma lente. Lo specchio o prisma utilizzato per l'osservazione dell'angolo è inclinato tra 59 e 64 gradi. Può essere eseguita con lenti di piccole dimensioni ad appoggio corneale a quattro specchi, con diametro di 9 mm, raggio di curvatura di 7,72 mm senza mezzi accoppianti, come le Posner, Sussman e Zeiss, oppure con lenti più grandi, ad appoggio sclerocorneale con diametro di 12 mm, raggio di curvatura di 7,38 mm che richiedono metilcellulosa tra cornea e lente, come la Goldmann, l'Allen/O'Brien, l'Allen-Thorpe, la Ritch e la Magna View lens. La lente sclerocorneale di Goldmann, la più largamente usata, è a tre specchi, pesa 4,3 grammi, permette un'ampia visualizzazione dell'angolo per 360 gradi utilizzando il prisma semilunare posto a 59 gradi; gli altri due specchi, inclinati a 67 e 73 gradi con intervallo di 120 gradi, permettono l'osservazione della retina periferica in massima dilatazione pupillare, l'area centrale l'ispezione del polo posteriore. La lente di Zeiss, ad appoggio corneale, dotata di un manipolo e di quattro prismi con inclinazione di 64 gradi a intervalli di 90 gradi, permette l'indentazione della cupola corneale e la possibilità di una gonioscopia anche dinamica, senza utilizzo di metilcellulosa al 2%.

Questo tipo di gonioscopia perfezionata da Forbes nel 1966 ha, infatti, la possibilità di modificare la curvatura corneale con una pressione modulabile da parte dell'operatore e permette di capire se eventuali apposizioni periferiche tra iride ed endotelio sono reversibili o permanenti per sinchie irido-corneali [13].

La gonioscopia diretta, messa a punto da Koepe nel 1921, si avvale della lente che da lui prende il nome. Offre un'immagine diretta e naturale dell'angolo con paziente supino, utilizzando un biomicroscopio mobile e l'ausilio di metilcellulosa tra cornea e lente.

Con forma a cupola, raggio di curvatura esterna di 12,5 mm, interna di 7,5 mm, un potere diottrico di 50 D e in diversi diametri, 16-18-20 mm, le lenti di Koepe hanno un uso clinico ristretto, principalmente intraoperatorio. Queste lenti permet-

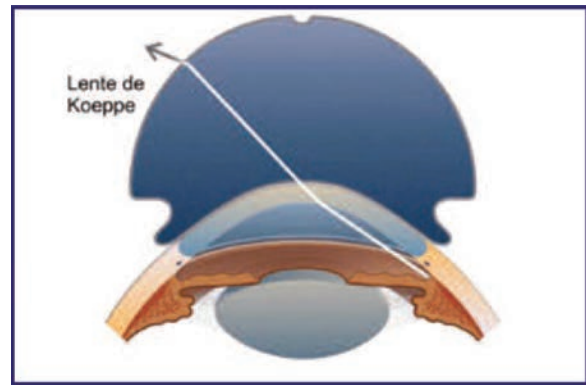


Fig. 4 - Lente di Koepe e visione diretta dell'angolo.

tono di verificare se l'apertura angolare cambia in posizione supina e di confrontare gli angoli nei due occhi usando due lenti [14].

Trovano il loro massimo utilizzo in veterinaria (fig. 4). I quesiti ai quali un esame gonioscopico deve rispondere sono i seguenti:

- L'angolo è chiuso o aperto?*
- L'angolo ritenuto chiuso è di tipo reversibile o permanente?*
- Se l'angolo è aperto, è occludibile?*

Con la lente di Goldmann si può praticare anche una gonioscopia pseudo-dinamica con una leggera pressione del suo bordo sulla cornea limbare. È superfluo dire che ogni gonioscopia deve essere fatta senza dilatazione farmacologica. Dilatando la pupilla si può, infatti, in camere basse favorire un aumento del tono oculare e modificare, in qualche modo, l'apertura dell'angolo e la diagnosi gonioscopica finale.

INTERPRETAZIONE DELL'ANGOLO

I sistemi di classificazione più usati per giudicare l'ampiezza dell'angolo camerulare sono stati descritti da Shaffer, da Scheie e da Spaeth [15-19].

Il sistema di R.N. Shaffer (1960) descrive l'apertura dell'angolo tra la cornea e l'iride periferica utilizzando una scala in gradi da 0 al IV:

- *Grado 0 = 0° angolo chiuso*
- *Grado I = $\leq 10^\circ$ angolo molto stretto*
- *Grado II = 20° angolo stretto*
- *Grado III = $\geq 20^\circ \leq 35^\circ$ angolo aperto*
- *Grado IV = $\geq 35^\circ \leq 45^\circ$ angolo aperto*

Il sistema di H.G. Scheie (1957) si basa sul reperimento delle strutture anatomiche visibili con una scala da 0 al IV grado, rilevando la zona ana-

tomica più posteriormente visibile nell'angolo. In questo sistema un grado 0 identifica il corpo ciliare visibile e un angolo certamente aperto non occludibile, un grado IV, al contrario, un angolo totalmente chiuso, dove nessuna struttura angolare fino alla linea di Schwalbe è visibile. Per la classificazione di Shaffer un grado IV è, quindi, un angolo aperto, per quella di Scheie è, invece, chiuso. Per entrambi i sistemi non esistono studi sulla loro riproducibilità sia inter sia intra osservatore [15-19].

Il sistema di G.L. Spaeth (1971) combina insieme le caratteristiche della classificazione di Shaffer e di Scheie creando un più completo e preciso metodo di descrizione angolare.

Si prendono in considerazione tre variabili:

- a) *Il punto di contatto della radice dell'iride con la parete dell'angolo;*
- b) *L'apertura angolare in gradi;*
- c) *La configurazione del diaframma irideo.*

Per l'inserzione della radice iridea all'angolo camerulare il sistema di Spaeth utilizza una scala che va dalla lettera A alla E:

- *A = anteriore alla linea di Schwalbe;*
- *B = tra la linea Schwalbe e lo sperone sclerale;*
- *C = sullo sperone sclerale;*
- *D = dopo lo sperone sclerale a metà del corpo ciliare;*
- *E = posteriormente al corpo ciliare sulla banda ciliare.*

Se l'inserimento effettivo dell'iride è nascosto dal piano irideo, la lettera sarà indicata in parentesi (). Per quanto concerne la valutazione goniosmetrica dell'angolo si considera lo spazio tra il piano irideo a livello della linea di Schwalbe e la parete corneale endoteliale. La configurazione periferica dell'iride è descritta con lettere minuscole:

- *"q" queer = aspetto concavo;*
- *"r" regular = aspetto regolare;*
- *"s" steep = aspetto convesso.*

La pigmentazione del trabecolato è indicata utilizzando una scala da 0 a +4 prendendo in considerazione le ore 12 dell'angolo:

- *0 = no pigment*
- *+1 = minimal*
- *+2 = mild*
- *+3 = moderate*
- *+4 = intense*

Pertanto, un angolo "E 40 r 2 PTM" è un angolo aperto, con inserzione iridea posteriore al corpo ciliare non occludibile, uguale o maggiore di 40 gradi (E), con un aspetto regolare del piano irideo (r) e una pigmentazione poco evidente (2 PTM ad ore 12). Il sistema di Spaeth è stato studiato in diversi lavori scientifici per la comparabilità all'indagine UMB. Questi studi ne affermano i buoni margini di sovrapponibilità ritenendolo molto completo ma, allo stesso tempo, complesso, per la molteplicità dei dati forniti, non immediatamente intuitivo [15-19].

Nessun metodo gonioscopico permette certezze diagnostiche senza il giudizio, l'esperienza e la competenza delle capacità personali dell'osservatore. Tutti i sistemi descritti si confrontano con il metodo semplice e diretto di Van Herick (1969) che valuta l'angolo dal confronto dell'intervallo libero tra l'endotelio e il piano irideo con lo spessore corneale alla fessura di un millimetro angolata a 60° temporalmente al limbus.

Nella classificazione di Shaffer un angolo di grado IV totalmente aperto, comparato al metodo di Van Herick è pari a un'apertura della camera anteriore, AC, maggiore dello spessore corneale, CT.

Il rapporto tra la classificazione di Shaffer e quella di Van Herick è la seguente:

- *grado IV = $AC \geq 1 CT$*
- *grado III = $AC = . CT$*
- *grado II = $AC = . CT$*
- *grado I = $AC \leq . CT$*

*N.B.: AC= profondità Camera Anteriore
CT= Spessore Corneale*

Ci sono essenzialmente due meccanismi per l'istaurarsi di un ipertono acuto, il blocco pupillare e l'affollamento angolare, che possono anche coesistere (fig. 5). Il blocco pupillare è la causa più frequente della chiusura dell'angolo. Consiste nella difficoltà dell'acqueo a oltrepassare il forame pupillare dalla camera posteriore all'anteriore, provocando l'incurvamento del piano irideo che può diventare bombato, "bombé", chiudendo definitivamente l'angolo con possibilità di un attacco acuto. La causa del blocco pupillare è l'apposizione della superficie posteriore dell'iride a un cristallino ispessito e/o spostato in avanti, tanto da far aderire le due superfici e rendere impossibile il transito dell'acqueo dalla camera posteriore.

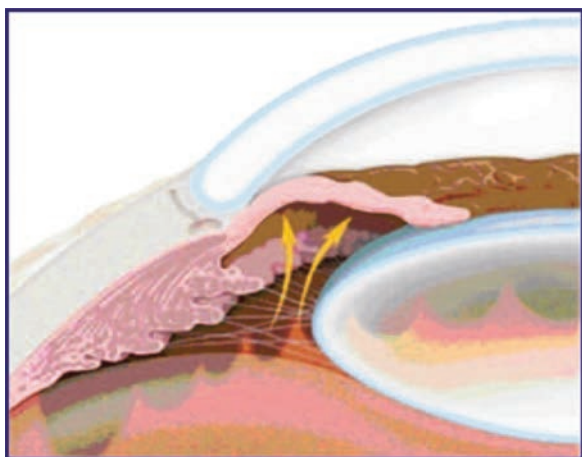


Fig. 5 - Chiusura dell'angolo camerulare per blocco pupillare, spinta in avanti dalla camera posteriore, formazione del piano irideo a "Bombè".

Negli occhi con glaucoma da chiusura d'angolo, rispetto a pazienti di pari età anagrafiche, la profondità centrale della camera anteriore è mediamente inferiore di 0,51 mm e il cristallino è più spesso di 0,4-1 mm. Queste caratteristiche dimensionali evidenziano la ristrettezza degli spazi liberi degli occhi predisposti alla chiusura d'angolo e giustificano l'eventuale instaurarsi dell'ipertono acuto [20-26].

L'affollamento primario dell'angolo è più comune di quello che normalmente si credeva. Strettamente legato a caratteristiche anatomiche del bulbo oculare è spesso concomitante alla presenza d'iridi a plateau. Il risultato finale dei due meccanismi è identico, anche se i tempi per l'instaurarsi dell'ipertono severo possono essere differenti (**fig. 5**).

GNIOSCOPIA HI-TECH

La gonioscopia resta il Gold Standard per giudicare l'angolo della camera anteriore. Dalla disamina dei sistemi di classificazione si evidenzia il ruolo fondamentale dell'osservatore e della sua esperienza. L'importanza dell'osservatore non permette confronti oggettivi e standardizzati, anche con l'aiuto degli schemi classificativi, con possibili implicazioni medico-legali in caso d'inconvenienti, come l'instaurarsi di un attacco acuto in corso di una visita oculistica o prima dell'intervento di cataratta, problematiche molto sentite specialmente negli USA.

Le nuove tecnologie Hi-Tech aiutano a dare una risposta più oggettiva e scevra da personali giudizi sull'occludibilità dell'angolo. L'opportunità

di eseguire un iridotomia Yag laser in una cripta o in una zona iridea più sottile, maggiormente trasparente alla transilluminazione, oppure decidere per una lensectomia, anche con lente trasparente, che risolverebbe definitivamente ogni problematica, è questione delicata, non senza implicazioni medico-legali, specie in pazienti per altro sani e relativamente giovani. Un "giudizio strumentale sopra le parti" serve, quindi, a dirimere dubbi ed evitare successive discussioni, magari davanti ad un giudice!

I più utilizzati sistemi Hi-Tech sono [27-36]:

- *L'Ultrasound Biomicroscopy, UBM*
- *La Scheimpflug fotografia*
- *L'Anterior Segment Optical Coherence Tomography, AS-OCT*
- *L'EyeCam*
- *Lo SPAC, Scanning Peripheral Anterior Chamber depth Analyzer*

ULTRASOUND BIOMICROSCOPY BM

Dagli anni Novanta la scelta strumentale degli UBM si è ampliata. Molte sono oggi le case costruttrici che producono UBM: Accutome, Optikon, Oti, Paradigm, Quantel, Reichert, Sonomed e Iscience che utilizzano frequenze da 80/100 MHz. Le altre case costruttrici utilizzano, in genere, frequenze da 35/50 MHz. Tutti gli UBM hanno una risoluzione laterale di circa cinquanta micron, assiale di 20/40 micron e una penetrazione di 5/7 mm. Gli ultimi UBM hanno sonde molto maneggevoli, consentono una penetrazione di 7/15 mm e la visione dell'intero segmento anteriore.

Il Digital Ultrasound Arc-Scanning di Artemis è un recentissimo UBM ad arco a 100 MHz che permette una perpendicolarità di scansione perfetta in ogni posizione del segmento anteriore, superando un limite dell'indagine ultrasonica. Partendo dallo sperone sclerale, alla distanza di 250 e 500 micron dal recesso angolare, con questi strumenti si può tracciare la linea AOD 250/500, Angle Opening Distance, descritta e indicata inizialmente da Pavlin e collaboratori al fine di una migliore valutazione dell'apertura camerulare [27-36].

L'AOD congiunge il punto a 250/500 micron al davanti dello sperone sclerale e il piano irideo (**fig. 6**).

L'ARA, Angle Recess Area, è l'area triangolare virtuale delimitata dall'AOD, il tratto di endotelio

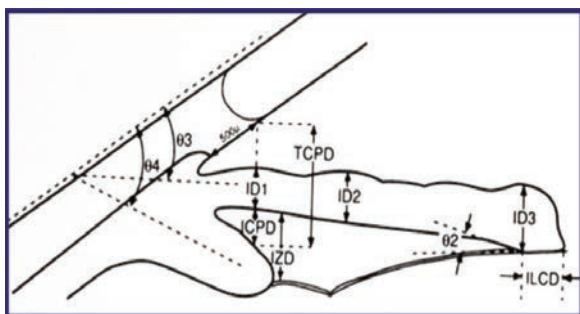


Fig. 6 - Strutture dell'angolo misurate all'UBM (by Marchini G., Bonomi L.).

tra lo sperone sclerale, il punto a 500 micron e la regione iridea. Ishikawa e collaboratori hanno indicato quest'area come maggiormente predittiva per la chiusura dell'angolo. Nel calcolare l'ARA si tiene conto, infatti, anche dell'irregolarità del contorno irideo dando maggiore forza a un'area d'interposizione tra strutture angolari piuttosto che a un semplice dato goniometrico.

Radhakrishnan, infine, per definire con ancor maggior risalto funzionale la zona filtrante dell'angolo camerulare, propone di considerare un'area

trapezoidale davanti allo sperone sclerale ritenendola più indicativa dell'ARA nei processi di chiusura trabecolari. Questo spazio denominato TISA, Trabecular Iris Space Area, ha come limite angolare AOD a 500 o a 750 micron (**fig. 7**).

Recentemente Otori e collaboratori, ritenendo la posizione del cristallino decisivo nei meccanismi di chiusura d'angolo, hanno studiato la Posizione Relativa Lente (RLP) come parametro predittivo di chiusura apposizionale in occhi con angoli stretti [27-36].

La RLP è calcolata come segue:

- $RLP = 10 \times (ACD + 0,5 LT) / AL$
- *ACD: profondità della camera anteriore*
- *LT: spessore della lente*
- *AL: lunghezza assiale*

Le prime due misurazioni sono eseguite con UBM, la terza con IOL Master. La RLP sembra molto utile nel predire la chiusura apposizionale angolare specialmente se valutata in condizioni di oscurità. A parte tutti i dati anatomici sulla circolazione dell'umor acqueo e il contributo alla conoscenza della fisiopatologia dell'angolo che gli UBM possono offrire, gli ultrasuoni restano limitati nel loro utilizzo, richiedono lunghi training d'apprendimento, sono poco confortevoli per il paziente e restano costosi, non adatti a un uso routinario e diffuso nel panorama variegato del glaucoma da chiusura d'angolo [27-36].

LA SCHEIMPFLUG FOTOGRAFIA

Theodor Scheimpflug (1865-1911) fu un capitano cartografo della marina austriaca. Studiò, per fini militari, un sistema fotografico idoneo a evitare le distorsioni prospettiche delle immagini che si ottenevano nel fotografare i bersagli strategici nemici dagli aerei da ricognizione.

Il Pentacam è lo strumento più diffuso e conosciuto che utilizza la tecnologia Scheimpflug. È dotato di una telecamera che ruota intorno alla cupola corneale con una fessura di 2 cm e un angolo di 45 gradi. Esegue 50 scansioni tomografiche in 2 secondi, analizza 500 punti ad ogni singola rilevazione ($50 \times 500 = 25000$ punti rilevati) con un'illuminazione nel range del blue (475 nm UV free), senza alcun fastidio per il paziente. I sistemi Scheimpflug non permettono la visione diretta dell'angolo camerulare, ma consentono di calcolare la profondità della camera anteriore, l'apertura dell'angolo in gradi, con alcune zone

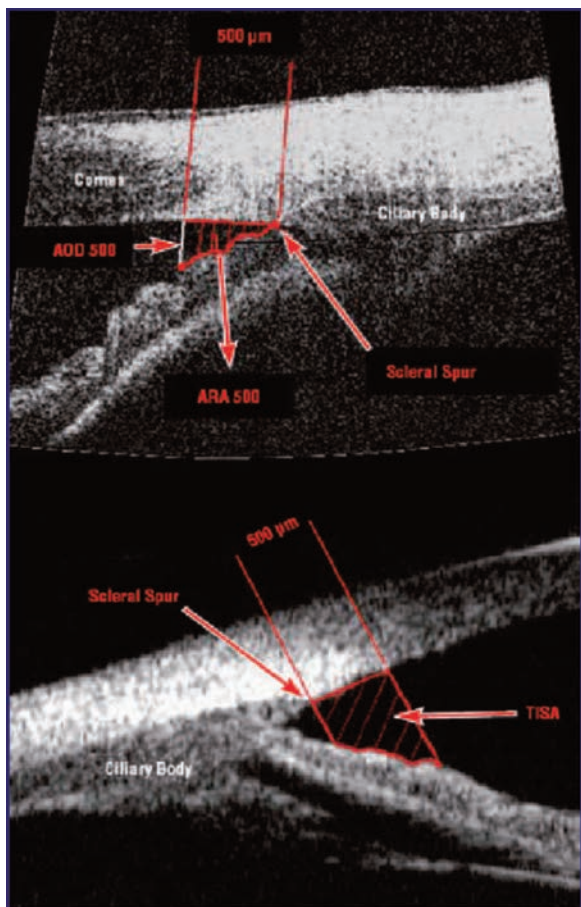


Fig. 7 - Angolo all'UBM con ARA e TISA.

di buio dovute all'interferenza dell'apertura pupillare, lo spessore corneale punto per punto, la curvatura della superficie anteriore e posteriore della cornea [27-36].

Da numerosi studi è emerso che i dati di correlazione con gli ultrasuoni nella valutazione dell'apertura dell'angolo depongono a favore dell'UBM, validando le indagini Scheimpflug soprattutto nella misura dei volumi di camera anteriore, cornea e del suo spessore. Anche con questi limiti, i dati pubblicati sul Bollettino della Società Medico Chirurgica di Pavia nel marzo 2012 da A. Vercellin, M. Vento e altri autori, riguardo un'attenta Review della letteratura e un accurato studio osservazionale, monocentrico, cross-sectional su 64 occhi Caucasic, evidenziano che tutti i parametri Pentacam si correlano in maniera significativa con quelli ottenuti con la gonioscopia di Shaffer grado 0-I.

Gli obiettivi dello studio erano di identificare i valori di profondità centrale della camera anteriore (Anterior Chamber Depth, ACD), il volume della camera anteriore (Anterior Chamber Volume, ACV) e l'angolo della camera anteriore (Anterior Chamber Angle, ACA) con Pentacam e paragonarli alla classificazione di Shaffer, per identificare valori Cut-Off di ACA, ACV e ACD che potessero rilevare un angolo stretto (0-I) e, quindi, costituire un'indicazione obiettiva all'iridotomia laser periferica.

Il Pentacam, alla luce di questo studio, è idoneo a individuare gli angoli occludibili; gli stessi autori avvertono però la necessità di altri e più complete ricerche per sviluppare valori Cut-Off accettati a livello mondiale nel rilevare angoli stretti/occludibili e giustificare, anche dal punto di vista legale, una procedura invasiva come un'iridotomia laser periferica o, ancor più, una lensectomia in occhi con angoli stretti senza altri segni di patologia in atto. Mou D. e collaboratori, su *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* del 2010, scrivono che sia il Pentacam che l'OCT per camera anteriore, AS-OCT, sono validi strumenti per indagare soggetti normali. I giudizi, come si vede, sono variegati e non sempre concordi.

Sicuramente le Scheimpflug Cameras hanno dato nuovi stimoli all'indagine del segmento anteriore nel glaucoma e, in particolare, nel PACG, restando utili nel management dei pazienti ipertesi oculari. Una loro associazione con altre tecnologie Hi-Tech potrebbe portare a nuove soluzioni e a più complete informazioni nel campo del glaucoma da occlusione d'angolo, "campo minato" soprattutto nella prognosi clinica a lungo termine [27-36].

L'AS-OCT, ANTERIOR SEGMENT OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY

La tomografia ottica a radiazione coerente, prima Time e dopo Spectral Domain, disponibile anche per un'indagine in superficie, ha reso il segmento anteriore non più campo esclusivo degli ultrasuoni. La migliore resa d'imaging delle strutture istologiche con gli OCT ha permesso rapidamente alla tomografia di essere molto popolare.

La Zeiss ha messo in commercio il Visante-OCT subito dopo lo Stratus nel 2002, con una qualità d'immagine delle strutture del segmento anteriore molto buona (fig. 8). L'OCT Visante usa una lunghezza d'onda nell'infrarosso a 1310 nm prodotta da led super luminescenti.

Come per gli ultrasuoni, il grado di penetrazione nei tessuti dell'onda luminosa è inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda. Lunghezze d'onda di 1310 nm sono idonee per sezioni superficiali del bulbo oculare; le lunghezze di 840/870 nm, comunemente utilizzate dalla maggioranza degli OCT, sono invece utili per una scansione più profonda retino-coroideale. Le acquisizioni del segmento anteriore con tecnica tomografica Spectral consentono, rispetto al Visante, una visione più dettagliata ma meno completa del segmento anteriore; il corpo ciliare e la camera posteriore restano maggiormente visibili, almeno per ora, con l'UBM [27-36].

Pur avendo un'alta riproducibilità con operatori diversi, gli strumenti OCT disponibili sul mercato danno valori non sovrapponibili tra loro, aprendo il problema dell'agreement dei dati forniti.

Gli AS-OCT permettono il calcolo delle stesse aree d'interesse dell'UBM, cioè di ARA e TISA ma molti autori non ritengono comunque sovrapponibili i dati delle due strumentazioni, giudicando gli AS-OCT più generosi nelle misurazioni rispetto agli

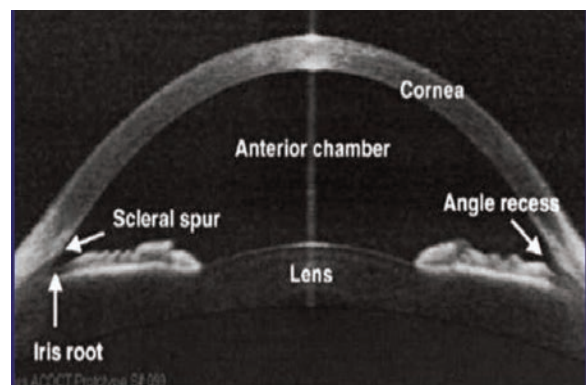


Fig. 8 - Segmento anteriore al Visante OCT (by Mantovani E. e Rossi G.C.).

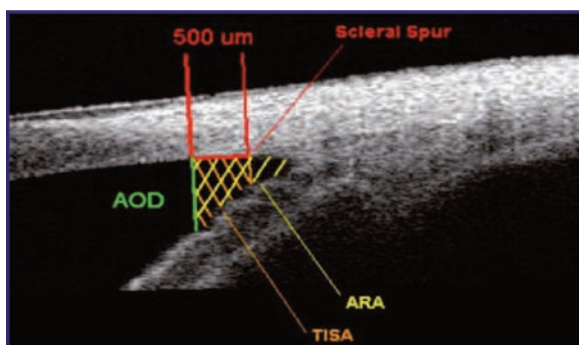


Fig. 9 - ARA e TISA all'OCT Visante (by Mantovani E. e Rossi G.C.).

UBM (fig. 9). Il vantaggio degli AS-OCT è la maggiore riproducibilità inter e intra osservatore rispetto agli ultrasuoni che richiedono molta esperienza e manualità da parte dell'operatore. Il grado di riproducibilità degli AS-OCT è del 70% che aumenta per il Visante OCT in modalità High Resolution [27-36].

Rispetto alla gonioscopia l'AS-OCT individua angoli più stretti superiormente e inferiormente per l'apertura palpebrale limitata, mentre giudica più frequentemente aperti gli angoli nei quadranti temporali, mediamente con una sensibilità del 92% e una specificità del 55%. Le differenze di giudizio sull'apertura angolare tra la gonioscopia e l'AS-OCT diminuiscono se si standardizzano le condizioni d'illuminazione e si minimizza il variare dell'assetto irideo. In genere, i criteri di definizione di chiusura per l'angolo sono più severi per la gonioscopia rispetto all'AS-OCT. La tomografia, infatti, ritiene chiuso un angolo se è presente anche la minima apposizione tra l'iride e lo sperone sclerale, mentre la gonioscopia prende in considerazione la chiusura dell'area trabecolare per un'apertura angolare rilevante all'ostacolo al drenaggio dell'acqueo.

Recentemente Narayanaswamy e collaboratori identificano l'AOD 750 con AS-OCT nell'area nasale

e temporale come misura dell'angolo più utile a individuare i soggetti a rischio per la chiusura d'angolo. Come si può notare, alla descrizione per così dire fotografica della gonioscopia, l'Hi-Tech contrappone l'individuazione di aree e target numerici per rilevare possibili pericoli d'occludibilità dell'angolo in modo riconosciuto e accettato da tutti [27-36].

Questo indice sembra essere ripetibile inter e intra osservatore aggiungendo nuova obiettività all'indagine tomografica dell'angolo camerulare. Queste nuove possibilità tomografiche apriranno sicuramente promettenti orizzonti di studio in sede di diagnosi e in ambito chirurgico, facendo individuare, per esempio, la posizione e il funzionamento di canule, stent o altri device chirurgici e valutare la reale efficacia degli interventi chirurgici di drenaggio in modo oggettivo. Il mondo degli OCT sta diventando sempre più indispensabile per una moderna e mirata indagine oftalmologica, e ha allargato il suo campo d'applicazione dalla retina al segmento anteriore con utili e apprezzabili aiuti nella comprensione della complessa patologia glaucomatosa. Stiamo al punto che avere nel proprio studio un OCT è necessario come una lampada a fessura!

L'AS-OCT, rispetto all'UBM, si rende indispensabile nei casi di cheratoplastica e nel periodo post-operatorio in genere, dove l'indagine a contatto non è, come ben s'intuisce, consigliabile. Gli ultimi Spectral OCT Enhanced Imaging Method, OCT-EIM, potendo distanziare il piano di fuoco sclerale di 15 cm, permettono di vedere in modo dettagliato il canale di Schlemm, i dotti collettori, il plesso venoso intrasclerale in sezioni assiali e tangenziali e di ricostruire, con software adeguati e proprietari, il loro intero decorso (fig. 10).

I nuovi OCT Swept Source, infine, sono stati testati dall'2011 nel misurare il contatto irido-tra-

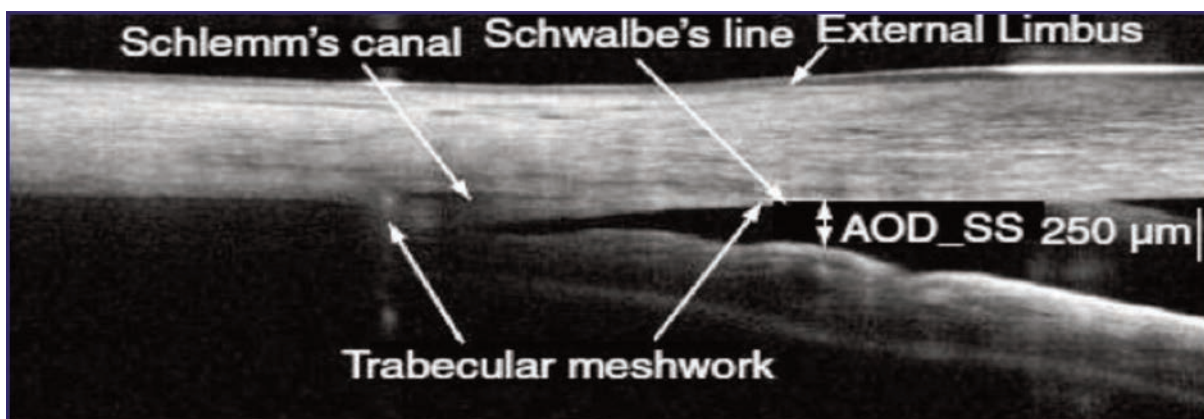


Fig. 10 - Angolo camerulare e vie di drenaggio all'AS-OCT (by Mantovani E. e Rossi G.C.).

becolare. Dagli studi ancora in corso emerge un nuovo indice d'interesse clinico, l'ITC, Iris-Trabecular Contact [27-36].

L'EYECAM

Perera S. A. Baskaran M. e altri autori, in uno studio pubblicato su Invest Ophthalmol Vis. Sci. del 2010, hanno utilizzato per la prima volta l'EyeCam (Clarity Medical Systems, Pleasanton, CA, USA) per un'indagine sulla camera anteriore e sull'angolo camerulare, sperimentandone la validità. Insieme a A Tun, su ARVO 2011 e su Acta Ophthalmologica 2012, hanno paragonato l'EyeCam all'AS-OCT nei confronti della gonioscopia, standard di riferimento.

In questi studi l'EyeCam si è dimostrato affidabile e confrontabile alla gonioscopia e all'esame AS-OCT [27-36]. L'EyeCam è una nuova strumentazione Hi-Tech derivata dalla Retcam TM utilizzata da qualche tempo per fotografare la retina in pazienti pediatrici e prematuri, messa a punto dalla stessa casa costruttrice, la Clarity Medical Systems. Per mezzo di una lente permette di visualizzare direttamente l'angolo minimizzando la costrizione pupillare dovuta alla luce (fig. 11).

L'AUC, Area Under Curve di ROC per determinare la chiusura dell'angolo, stima statistica della capacità discriminante di un test nel distinguere soggetti sani e malati, è simile all'AUC della gonioscopia (AUC dell'EyeCam 0.93, sensibilità = 94.7%, specificità = 91.5%; con $P > 0.95$), secondo numerosi lavori pubblicati da più autori. I risultati degli studi effettuati evidenziano comunque angoli più chiusi con l'EyeCam rispetto alla gonioscopia.



Fig. 11 - Eye Cam con probe per la gonioscopia

Attendendo nuovi e promettenti studi di confronto con altri strumenti Hi-Tech, l'EyeCam resta, per il momento, uno strumento promettente ma troppo recente perché sia preso in considerazione nella valutazione dell'angolo camerulare.

L'EyeCam offre la novità e il vantaggio di un'osservazione dell'angolo diretta e obiettiva, di una risposta gonioscopica Hi-Tech svincolata dalla personale esperienza e variabile capacità del singolo osservatore. Le sue qualità dovranno essere validate nel tempo dal confronto con maggiori riscontri clinici e strumentali perché se ne possa decretare un suo più autorevole inserimento nella diagnostica glaucomatosa [27-37].

LO SPAC, SCANNING PERIPHERAL ANTERIOR CHAMBER DEPTH ANALYZER

Lo Spac è uno strumento no-contatto messo in commercio dalla ditta Takagi, capace di misurare, in modo quantitativo, la profondità della camera anteriore, ACD, dal centro alla periferia limbare temporalmente (fig. 12).



Fig. 12 - SPAC.

La finalità dello strumento è quella dello screening veloce e oggettivo dei pazienti a rischio di chiusura d'angolo, così numerosi nel continente asiatico. A tal fine, dopo un esame molto rapido e comodo per il paziente, il software appone la lettera "s" agli angoli sospetti e la lettera "p" a quelli potenziali di chiusura, in modo da dare certezze nel giudizio dell'esame effettuato anche a personale non medico.

Con un sistema proprietario d'illuminazione esegue veloci scansioni esclusivamente nel settore temporale della cornea, dall'epitelio corneale alla superficie iridea, con un'angolatura di 60 gradi (fig. 13).

Lo Spac determina l'apertura camerulare in 12 classi, avendo come database normativo occhi di pazienti giapponesi.

Queste caratteristiche costruttive ne fanno uno strumento utile per un'indagine su grandi numeri, anche con personale non specializzato, poco idoneo per un giudizio gonioscopico definitivo. I suoi limiti sono l'indagine effettuata sull'area temporale del bulbo e il suo database normativo. Queste caratteristiche costruttive per ora ne riducono e limitano la validità clinica specialmente alle nostre latitudini [27-37].

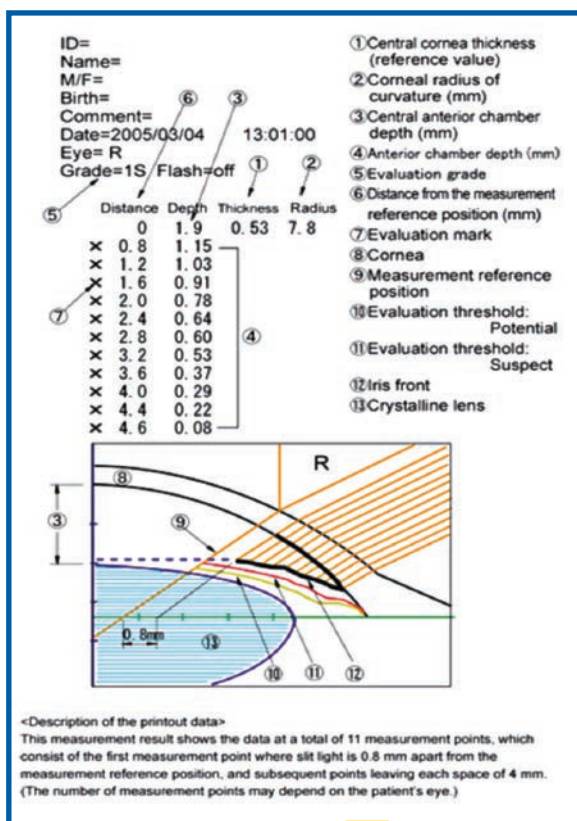


Fig. 13 - Schema del Printout dello SPAC

CONSIDERAZIONI FINALI

Trarre considerazioni finali su un argomento così complesso come la gonioscopia è arduo e forse presuntuoso. La tecnologia Hi-Tech è, d'altronde, anche per questa patologia in continua evoluzione.

Abbiamo tralasciato per brevità nel campo Hi Tech lo IOL Master della Zeiss e la gonioscopia a raggi infrarossi DIG, Dark-room infrared gonioscopy. Lo IOL Master permette di misurare la profondità centrale della camera anteriore senza fornire altre informazioni sull'anatomia camerulare.

È utile nelle indagini di screening avendo la sua massima applicazione nella misura della IOL. La DIG non ancora commercializzata in Europa, prevede un utilizzo con paziente seduto al buio tramite una lampada a fessura con sistema Heidelberg o con paziente supino, per mezzo di un sistema d'acquisizione video a infrarossi e monitor esterno. La DIG vuole essere una gonioscopia alternativa e oggettiva a quella tradizionale, migliorando le performance dell'EyeCam. Aspettiamo con ansia gli sviluppi futuri e le sicure evoluzioni che questi strumenti avranno nel dare una risposta a tutto campo all'indagine dell'angolo camerulare, più idonea, dettagliata e oggettiva.

L'eventuale associazione di più tecnologie potrà offrire infine, lo speriamo tutti, una risposta maggiormente esaustiva al glaucoma da chiusura d'angolo e/o agli occhi con camera bassa, condizioni ancora pienamente non "sotto controllo" anche ai più esperti specialisti in questo settore.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Quigley HA: Number of people with glaucoma worldwide. Br J Ophthalmol 80:389, 1996.
- 2) Foster PJ, Oen FT, Machin D, et al: The prevalence of glaucoma in Chinese residents of Singapore: a cross sectional population survey of the Tanjong Pagar district. Arch Ophthalmol 118:1105, 2000.
- 3) Fremont AM, Lee PP, Mangione CM, et al: Patterns of care for open-angle glaucoma in managed care. Arch Ophthalmol 121:777, 2003.
- 4) Choong YF, Devarajan N, Pickering A, et al: Initial management of ocular hypertension and primary open angle glaucoma: an evaluation of the royal college of ophthalmologists' guidelines. Eye 17:685, 2003.

- 5) Dandona L, Dandona R, Mandal P, et al. Angle-closure glaucoma in an urban population in southern India. The Andra Pradesh eye disease study. *Ophthalmology* 107:1710, 2000.
- 6) Quigley HA, Friedman DS, Congdon NG. Possible mechanisms of primary angle-closure glaucoma and malignant glaucoma. *J Glaucoma* 12:167, 2003.
- 7) Coster DJ, ed. *Physics for Ophthalmologists*. Edinburgh. Churchill Livingstone, 1994:38–40.
- 8) Winkelman, Andreas (2008). "Schlemm, the body snatcher?". *Ann. Anat. Germany*. 190 (3): 223–229.
- 9) Henkind P: Angle vessels in normal eyes. A gonioscopic evaluation in anatomic correlation. *Br J Ophthalmol* 48:551, 1964.
- 10) Lichter PR. Iris processes in 340 eyes. *Am J Ophthalmol* 68:872, 1969.
- 11) Devereux JG, Foster PJ, Baasanhy J, et al. Anterior chamber depth measurement as a screening tool for primary angle-closure glaucoma in an east Asian population. *Arch Ophthalmol* 118:257, 2000.
- 12) Spaeth GL. Gonioscopy: uses old and new. The inheritance of occludable angles. *Ophthalmology* 85:222, 1978.
- 13) M. Forbes. Gonioscopy with corneal indentation. A method for distinguishing between appositional closure and synechial closure. *Arch Ophthalmol*. 1966 Oct;76(4):488-92.
- 14) Wallace L M Alward, Reid A Longmuir. Principles of Gonioscopy. <https://www.aao.org/disease-review/principles-of-gonioscopy>.
- 15) Van Herick W, Shaffer RN, Schwartz A. Estimation of width of angle of anterior chamber: incidence and significance of the narrow angle. *Am J Ophthalmol* 68:626, 1969.
- 16) Congdon NG, Spaeth GL, Augsburger J, et al. A proposed simple method for measurement in the anterior chamber angle: biometric gonioscopy. *Ophthalmology* 106:2161, 1999.
- 17) Scheie H. Width and pigmentation of the angle of the anterior chamber. A system of grading by gonioscopy. *Arch Ophthalmol* 58:510, 1957.
- 18) Shaffer RN. Gonioscopy, ophthalmoscopy, and perimetry. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 64:112, 1960.
- 19) Spaeth GL. The normal development of the human chamber angle: a new system of descriptive grading. *Trans Ophthalmol Soc UK* 91:709, 1971.
- 20) Wojciechowski R, Congdon N, Anninger W, et al. Age, gender, biometry, refractive error, and the anterior chamber angle among Alaskan Eskimos. *Ophthalmology* 110:365, 2003.
- 21) Foster PJ, Johnson GJ. Glaucoma in China. How big is the problem? *Br J Ophthalmol* 85:1277, 2001.
- 22) Siom DH, Goh LG. Screening for glaucoma in the Chinese elderly population in Singapore. *Singapore Med J* 40:644, 1999.
- 23) Mapstone R, Clark CV. Diurnal variation on the dimensions of the anterior chamber. *Arch Ophthalmol* 103:1485, 1985.
- 24) George R, Paul PG, Baskaran M, et al. Ocular biometry in occludable angles and angle closure glaucoma: a population based survey. *Br J Ophthalmol* 87:399, 2003.
- 25) Foster PJ, Devereux JG, Alsirk PH, et al. Detection of gonioscopically occludable angles and primary angle closure glaucoma by estimation of limbal chamber depth in Asians: modified grading scheme. *Br J Ophthalmol* 84:186, 2000.
- 26) Alward W. *Color Atlas of Gonioscopy*. Barcelona: Mosby-Wolfe, 1994.
- 27) Urbak SF. Ultrasound biomicroscopy. I. Precision of measurements. *Acta Ophthalmol Scand* 1998; 76:447-455.
- 28) Urbak SF, Pedersen JK, Thorsen TT. Ultrasound biomicroscopy. II. Intraobserver and interobserver reproducibility of measurements. *Acta Ophthalmol Scand* 1998; 76:546-549.
- 29) Yazici AT, Bozkurt E, Alagoz C et al. Central corneal thickness, anterior chamber depth, and pupil diameter measurements using Visante OCT, Orbscan, and Pentacam. *J Refract Surg* 2010; 26:127-133.
- 30) Dinc UA, Oncel B, Gorgun E et al. Assessment of anterior chamber angle using Visante OCT, slit-lamp OCT, and Pentacam. *Eur J Ophthalmol* 2010; 20:531-537.
- 31) Lackner B, Schmidinger G, Skorpik C. Validity and repeatability of anterior chamber depth measurement with Pentacam and Orbscan. *Optom Vis Sci* 2005; 82:858-861.
- 32) Shankar H, Taranath D, Santhirathelagan CT et al. Anterior segment biometry with the Pentacam: comprehensive assessment of repeatability of automated measurements. *J Cataract Refract Surg* 2008; 34:103-113.

- 33) Savant V, Chavan R, Pushpoth S et al. Comparability and intra-/interobserver reliability of anterior chamber depth measurements with the Pentacam and IOL Master. *J Refract Surg* 2008; 24:615-618.
- 34) Kurita N, Mayama C, Tomidokoro A et al. Potential of the pentacam in screening for primary angle closure and primary angle closure suspect. *J Glaucoma* 2009; 18:506-512.
- 35) Antoniazzi E, Pezzotta S, Delfino A et al. Anterior chamber measurements taken with Pentacam: an objective tool in laser iridotomy. *Eur J Ophthalmol* 2010; 20:517-522.
- 36) López-Caballero C, Puerto-Hernández B, Muñoz-Negrete FJ et al. Quantitative evaluation of anterior chamber changes after iridotomy using Pentacam anterior segment analyzer. *Eur J Ophthalmol* 2010; 20:327-332.
- 37) Grewal DS, Brar GS, Jain R et al. Comparison of Sheimpflug imaging and spectral domain anterior segment optical coherence tomography for detection of narrow anterior chamber angles. *Eye* 2011; 25:603-611.

CAPITOLO 5

LE FIBRE OTTICHE RETINICHE

BREVI NOTE ANATOMO-FISIOLOGICHE

Gli assoni delle cellule gangliari retiniche sono il naturale collegamento anatomico tra la retina e il sistema nervoso centrale. Le prime ricerche sulle cellule gangliari retiniche dei vertebrati si devono a *Haldan Keffer Hartline* (1904-1987); nel 1967 per questi studi hanno ricevuto il premio Nobel per la Medicina, ex aequo con *George Wald*, scopritore della vitamina A nella rodopsina retinica [1,2]. Dai loro studi è emerso che funzionalmente esistono due tipi di cellule gangliari: Cellule On che danno origine ad un potenziale d'azione in seguito a stimoli luminosi e Cellule Off, silenti alla luce. In seguito *S. Kuffler* (1917-2002) (1953) osservò che ogni cellula gangliare risponde per campi localizzati, che *Hartline* definì “campi recettivi della cellula” [3]. *Kuffler* inoltre verificò che le aree di ricezione, prevalentemente circolari, avevano sensibilità differenti nel centro rispetto alla periferia, con risposte funzionalmente opposte: Cellule a Centro On e a Centro Off (fig. 1).

Per campo recettivo in neurologia s'intende quella porzione di territorio, di pertinenza recettoriale che, dopo uno stimolo adeguato, produce un potenziale d'azione nel neurone periferico corrispondente. Normalmente maggiore è l'estensione del campo recettivo, minori sono le caratteristiche discriminative dell'area retinica. In fovea si hanno campi recettivi poco estesi con alta capacità discriminativa, in periferia campi molto ampi con scarsa discriminazione. Ne consegue un campionamento molto particolareggiato dell'immagine in fovea e minori dettagli in periferia. I campi periferici sono, infatti, idonei a raccogliere informazioni grossolane e la luminosità di fondo. Da punto di vista istologico s'individuano più tipi di cellule gangliari retiniche (circa venti nei primati). *S. Polyak* (University of Chicago Press 1941) ha studiato lungamente la struttura e funzione della retina; ha classificato le gangliari in cellule M (magnae, grandi, alpha o parasol cells), che sono il 5%, e cellule P (parvae, piccole, beta o midget cells) che sono il 90% [4].

In fovea troviamo quasi esclusivamente cellule P connesse tramite una bipolare a un singolo cono. Il restante 5% è costituito da cellule non M – non P,

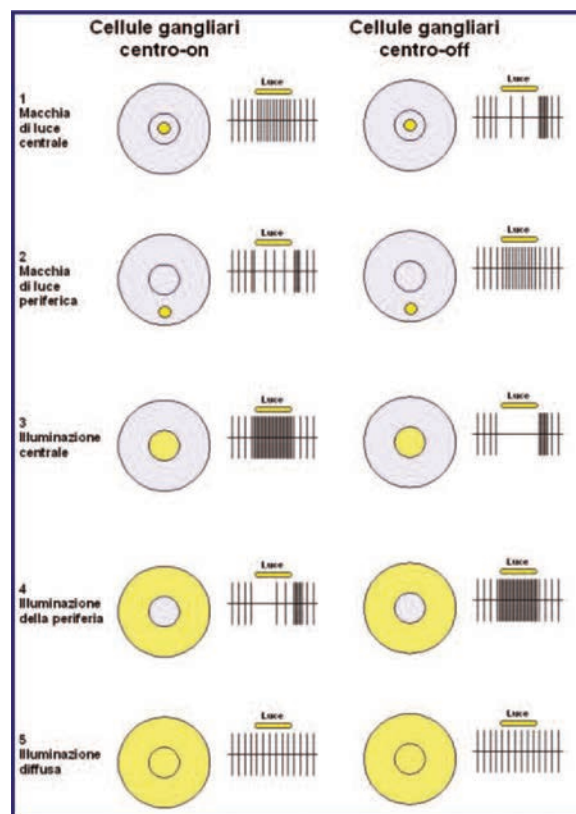


Fig. 1 - Cellule gangliari retiniche con Centro On e Centro Off.

con funzioni ancora incerte; tra queste ci sono le pRGC, photosensitive Retinal Ganglion Cell, 1% delle non M – non P, coinvolte, secondo recenti ricerche di *Berson D.M.* (Department of Neuroscienze, Brown University, Providence, Rhode Island, U.S.), nel ritmo circadiano sonno/veglia e nel riflesso pupillare alla luce, con l'utilizzo di uno speciale pigmento chiamato melanopsina, presente solo nei mammiferi. Le cellule M, in definitiva, connesse a un gran numero di coni e bastoncelli, forniscono informazioni sul movimento e sulla luminosità, mentre le cellule P, in sinapsi con singoli coni, generano informazioni più complesse, sulla forma e sul colore dell'oggetto. Questa distinzione anatomo-funzionale permane anche a livello centrale, nel corpo genicolato laterale e nella corteccia striata del lobo occipitale (strati magni e parvicellulari).

In generale, più si sale nella scala gerarchica degli esseri viventi, con un sistema nervoso centrale maggiormente complesso, più la struttura e

la trasmissione intercellulare retinica degli stimoli nervosi diventano semplici. La via diretta del flusso d'informazioni, con successive depolarizzazione di membrana, interessa non solo le sinapsi tra fotorecettori bipolari gangliari, ma anche altre vie di connessione cellulare. L'aminoacido glutammico, precursore dell'acido gamma-amminobutirrico, GABA, principale neurotrasmettitore nei mammiferi, è rilasciato nella depolarizzazione dei fotorecettori maggiormente in condizione di buio. Anche nell'oscurità più completa le cellule gangliari presentano una scarica elettrica spontanea, con la percezione di grigio piuttosto che di buio totale. Hering chiamò questa sensazione di grigio "Eigen-grau", ipotizzando un'attività basale delle gangliari in assenza di stimoli luminosi [5]. Questa scarica al buio o "dark discharge" rappresenta la frequenza portante di tutto il sistema retino-occipitale; gli stimoli luminosi possono aumentarne o diminuirne l'entità, comportandosi come una specie di reostato. Le cellule bipolari, d'altra parte, stabiliscono connessioni con altre linee di cellule, probabilmente per migliorare l'integrazione e la coordinazione dei segnali e, come le gangliari, possono essere funzionalmente distinte in Cellule Off e On [6]. I nuclei di tutti gli interneuroni retinici, bipolari amacrine e orizzontali sono collocati nello strato nucleare interno insieme ai nuclei delle cellule di Müller, finora note per la loro funzione strutturale. Queste cellule stanno acquistando sempre più importanza funzionale e, secondo recenti ricerche effettuate nel Technion Institute of Technology di Haifa, Israele, sembrano ampiamente coinvolte nel trasporto e nella direzionalità dei segnali luminosi intraretinici. Una più ampia comunicazione tra linee cellulari, non solo tra fotorecettore – bipolare gangliare, è quindi, più che giustificata, anche da un punto di vista strettamente anatomico. Le fibre ottiche, emanazioni assonali delle gangliari verso l'encefalo, sono circa un milione; per il fenomeno della "convergenza neurale" i fotorecettori retinici (130 milioni circa) convergono sulle gangliari (1 milione circa) e i loro assoni arrivano alle cellule del corpo genicolato laterale (570 mila circa). Il fenomeno inverso avviene verso l'area corticale calcarina, con la "divergenza neurale", per l'ampliamento del reclutamento cellulare e il coinvolgimento finale di molti milioni di cellule nervose (538 milioni circa; un rapporto di ± 1 a 1000 rispetto alle cellule genicolate e di ± 1 a 5 per i fotorecettori retinici) [7] (fig. 2).

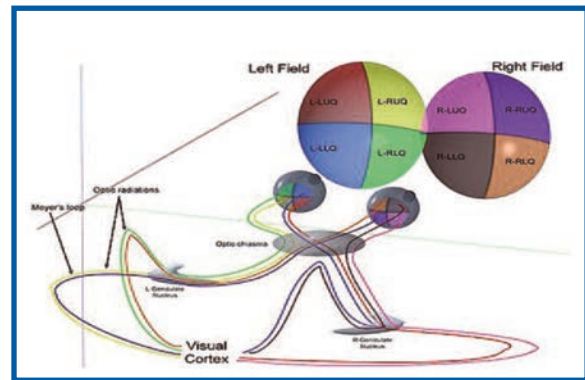


Fig. 2 - Prospetto delle vie ottiche.

Nella malattia glaucomatosa le possibili correlazioni tra struttura e funzione sono state a lungo studiate e discusse; una loro estesa disamina si trova nel Documento di Consenso redatto nel 2003 al Meeting di San Diego in California, a cura del WGA, World Glaucoma Association [8,9]. In tale dettagliato documento emerge tra l'altro che:

- a) *l'imaging digitale è assolutamente valida nella diagnosi clinica del glaucoma;*
- b) *è improbabile che un solo test funzionale sia capace di riassumere per intero l'aspetto funzionale della malattia glaucomatosa (the whole dynamic range);*
- c) *sia gli esami funzionali che strutturali sono necessari per una più completa conoscenza della malattia glaucomatosa.*

L'indagine strutturale delle fibre e del nervo ottico si avvaleva, inizialmente, solo della fotografia. Dal 1990 sono arrivate nuove tecnologie come la Polarimetria a Scansione Laser con il GDx Zeiss, l'Oftalmoscopia Confocale a Scansione Laser con l'HRT Heidelberg Engineering e la Tomografia a Coerenza Ottica con l'OCT3 Stratus Zeiss e ora con gli strumenti OCT Spectral Domain. Considerando quanto affermato dal WGA e per larga e condivisa esperienza clinica, brevemente diremo dei più comuni esami strumentali sulle fibre ottiche, non soffermandoci sull'imaging e l'analisi della papilla ottica [10,11].

SEMEIOTICA STRUMENTALE

La fotografia

L'esame delle fibre ottiche è eseguito solitamente con lampada a fessura e lente da +78/90 D, utilizzando luce blu-verde a 495 nm perché ri-

flessa dallo strato delle fibre e assorbita dall'EPR, a causa del pigmento melaninico. W. F. Hoyt, L. Frisén e N. Newman nel 1973 pubblicarono su IOVS (Investigative Ophthalmology & Visual Science) un dettagliato articolo sull'esame delle fibre ottiche con fundus camera e luce Red-Free, al fine di identificare preventivamente i difetti in corso di glaucoma [12].

Gli studi di H. Quigley, in particolar modo, evidenziarono che i difetti delle fibre ottiche possono precedere di anni i danni rilevabili con il campo visivo. Da allora la competizione tra la semeiotica funzionale e quella strutturale nel glaucoma continua, con alterne evidenze scientifiche. La fisiologica disposizione dello strato delle fibre lungo i bordi della papilla ottica determina, com'è noto, spessori maggiori nell'area peripapillare nei poli inferiore e superiore, decrescendo nasalmente e temporalmente (ISNT); lo strato delle fibre ottiche è universalmente indicato con l'acronimo RNFL (Retinal Nerve Fiber Layer) [13,14]. Le strumentazioni che utilizzano luce laser o che sfruttano la tomografia tracciano un andamento a doppia gobba del RNFL lungo la circonferenza del disco ottico. I Report di stampa dei vari strumenti utilizzano colori che vanno dal verde al rosso, con percentuali crescenti di deviazione standard dalla normalità, indicando, per gradi angolari, gli spessori del RNFL nei singoli settori peripapillari.

La fotografia con luce blue (o cobalto a 495 nm), prima delle strumentazioni Hi-Tech, ha ben evidenziato i difetti delle fibre ottiche in corso di glaucoma. Questi possono assumere forma a cuneo o a fessura, di colorito scuro rispetto all'immagine complessivamente riflettente e traslucida dello strato delle restanti fibre, con apice rivolto verso la papilla, oppure apparire, nei casi più avanzati, con aspetto diffusamente scuro, omogeneamente diffuso, per scomparsa del normale pattern argenteo delle fibre ottiche. L'aspetto fisiologico del RNFL si manifesta, infatti, con una caratteristica striatura finemente opaca, a riflessi superficiali traslucidi, con espansione a ventaglio lungo le arcate vascolari temporali superiore e inferiore, a inizio dal bordo papillare (fig. 3).

I vasi emergenti dal bordo papillare sono normalmente immersi nello spessore delle fibre; un loro eventuale denudamento è conseguenza di una perdita degli assoni gangliari, comune nel glaucoma in fase avanzato. Sempre Quigley, in uno studio del 1986, ha dimostrato che la tecnica

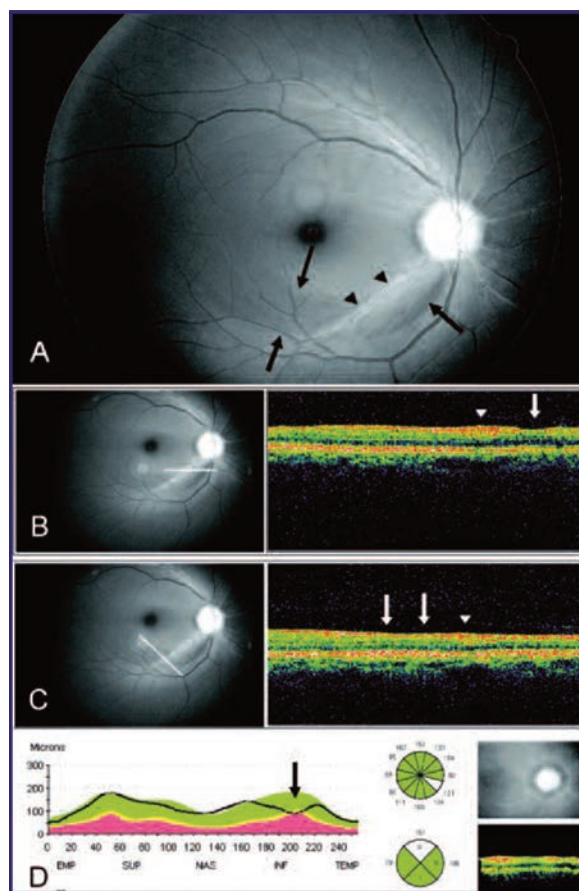


Fig. 3 - Foto Retinica Red Free del RNFL confrontata con esame OCT sulle fibre. Si vede il difetto infero-temporale arcuato del RNFL corrispondente all'incisura all'OCT.

fotografica con luce blue riusciva a rilevare una diminuzione dell'uno per cento (1%) dell'intero contingente delle fibre nei primati; la perdita doveva essere comunque di almeno 12500 assoni [14]. Con l'uso dei modelli digitali fotografici è stato possibile superare le difficoltà delle pellicole ad alta risoluzione, inizialmente usate per documentare l'imaging retinico del RNFL. Uno studio retrospettivo di paragone e confronto tra la tecnica fotografica e le nuove indagini Hi-Tech sulla sensibilità nel rilevare le prime perdite assonali gangliari non è stato ancora portato a termine, almeno su grandi numeri.

L'avanzare della tecnologia Hi-Tech, con maggiori dati e informazioni, non ha per ora sminuito l'importanza della fotografia a luce blue nel follow-up del glaucoma. Se adeguatamente eseguita, può mostrare, in modo economico e, a volte clinicamente clamoroso, deficit assonali con un valore d'imaging essenziale, altrettanto efficace rispetto alle indagini Hi-Tech. È opportuno, quindi, continuare ad associarla ai vari Report dei nuovi

strumenti, rimanendo un esame valido e attuale per la prognosi e per una migliore e più reale conferma dei danni glaucomatosi. La stereo-fotografia della papilla ottica, d'altronde, permane il Gold Standard per la valutazione del danno strutturale nel glaucoma, come affermano sia il *"Documento di Consenso Italiano per la diagnosi precoce e riduzione della progressione nel Glaucoma ad angolo aperto"*, sia il già citato Documento del WGA.

GDx

Il GDx (Glaucoma Diagnosis; Laser Diagnostic Technologies, Inc, San Diego, California) permette un'analisi morfometrica riproducibile dello spessore delle fibre, RNFL, con l'uso di una luce laser polarizzata (780 nm di frequenza), emessa su assi ortogonali a 180°. In realtà lo strumento misura il ritardo che il fascio laser subisce nell'attraversare strutture birifrangenti con un'organizzazione sub-microscopica intracellulare a strati paralleli, come i microtubuli delle fibre nervose. Il ritardo è proporzionale allo spessore delle strutture che il raggio laser attraversa e al loro orientamento microscopico; la *"retardation"*, proporzionale allo spessore del RNFL, fornisce una valutazione indiretta della loro funzionalità. Più sottile è lo strato RNFL, più celere è il ritorno del fascio polarizzato e più elevato è il danno degli assoni delle cellule gangliari. La luce, per la teoria ondulatoria, è costituita da onde elettromagnetiche che vibrano in tutte le direzioni lungo una linea di propagazione; in natura la luce non è polarizzata [15]. Se le onde elettromagnetiche incontrano un filtro polarizzatore (prisma di Nicol con cristalli di calcite

o particolari filtri Polaroid) vengono tutte assorbite tranne quelle che vibrano nello stesso piano del filtro polarizzatore che attraversano; ne fuoriesce una luce che vibra su un solo piano lineare (fig. 4). La necessità di usare una luce polarizzata è dovuta al fatto che le fibre ottiche sono anisotrope, con un indice di rifrazione che varia secondo la direzione della luce. La birifrangenza, del resto, è un fenomeno fisico proprio dei materiali che scompongono la luce diffusa in due raggi polarizzati ortogonali tra loro. Una struttura biologica per essere birifrangente deve essere anisotropa, cambiando le sue caratteristiche fisiche nella direzione longitudinale e trasversale. Le fibre ottiche non sono le uniche strutture oculari a essere birifrangenti. La luce, prima di arrivare sulle fibre ottiche, attraversa la cornea, il cristallino e colpisce la retina con le fibre di Henle, strutture altrettanto birifrangenti. Questa diffusa birifrangenza oculare produce notevole interferenza con quella propria delle fibre ottiche, alterando la *"retardation"* del segnale, con errori nel rilievo finale da parte dello strumento. L'ultima versione del GDx, GDxPRO, possiede un compensatore corneale ECC (Enhanced Corneal Compensation), migliorato rispetto al precedente VCC (Variable Corneal Compensation), in modo da offrire dati più selettivi sulla birifrangenza delle fibre ottiche, scevri dalle interferenze dovute alle altre strutture oculari al fine di evitare, per quanto possibile, la comparsa di aspetti atipici di birifrangenza, frequenti nei casi di ridotto rapporto segnale/rumore. La luce polarizzata attraversa lo strato RNFL fornendo una mappa di struttura in falsi colori su oltre 32000 punti, in base alla *"retardation"* tra la luce che attraversa parallelamente lo strato RNFL, fase lenta di polarizzazione, e quella che lo attraversa perpendicolarmente, fase veloce di polarizzazione [15,16]. La misura dello Shift tra le due fasi definisce, con elaborazione algoritmica proprietaria, confrontato con un database normativo in dieci centri internazionali, l'integrità del RNFL (fig. 5).

Centinaia di studi scientifici hanno ampiamente dimostrato la validità del contributo del GDxPRO nella diagnosi precoce del danno glaucomatoso e l'ECC ottimizza ulteriormente le performance della versione precedente. Medeiros e altri autori (IOVIS 2007) hanno stabilito su 196 occhi che per la determinazione dello spessore TSNIT delle fibre (Temporale-Superiore-Nasale-Inferiore-Temporale) lo strumento si attesta allo

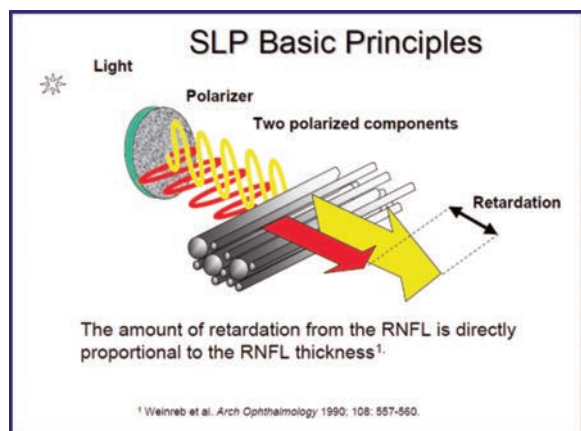


Fig. 4 - Schema della *"retardation"* delle componenti della luce polarizzata al passaggio delle fibre ottiche, direttamente proporzionale al loro spessore

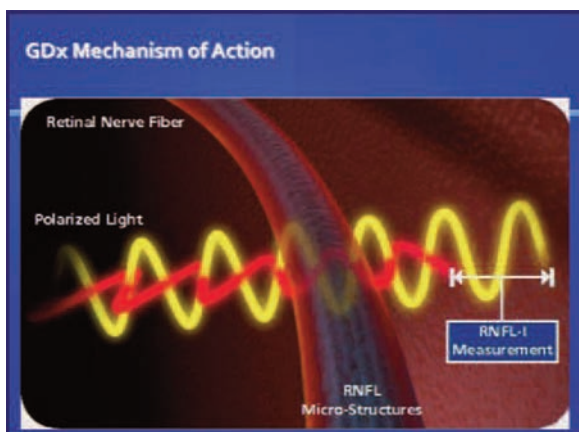


Fig. 5 - Schema della luce polarizzata nel GDx attraverso i microtubuli delle fibre ottiche.

0.93 della curva ROC [17]. Il Printout più rappresentativo del GDxPRO è il Nerve Fiber Analysis con sei mappe, tre grafici e una tabella di parametri per i due occhi in esame (fig. 6).

Divisi in due colonne, a destra e sinistra per i rispettivi occhi, le tre mappe in sequenza dall'alto in basso rappresentano:

- Nervi ottici e retina circumpapillare (Fundus Image);*
- Mappe dello spessore del RNFL (Nerve Fiber Thickness Map);*

- Mappe di deviazione del RNFL con il database normativo su 540 occhi (Deviation Map).*

I tre grafici disposti inferiormente confrontano lo spessore del RNFL dei due occhi attorno al bordo papillare in modo separato e sovrapposto. Questi grafici visualizzano l'andamento degli spessori delle fibre intorno alla papilla. La tabella dei parametri clinici, posta centralmente al Printout di stampa, TSNIT Parameters Table, identifica, in modo numerico, i valori degli spessori delle fibre ottiche visti in grafico, utilizzando colori dal bianco ($p \geq 5\%$) al rosso ($p \leq 0.5\%$) in modo da evidenziare al massimo gli spessori patologici in tutti i settori topografici dell'area peripapillare. In fondo alla tabella è posto il Nerve Fiber Indicator, NFI, parametro calcolato dal software dello strumento, utilizzando una rete neurale calibrata per distinguere le aree peri-papillari patologiche dalle normali. Secondo Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, Mohammadi K e Weinreb RN è il parametro più sensibile nella discriminazione tra occhi normali e glaucomatosi [15-17]. Inoltre, sempre per gli stessi autori, l'indagine GDx rispetto alla fotografia Red-Free è risultata maggiormente predittiva nel distinguere i soggetti sani dai glaucomatosi. Il NFI è espresso con valori che vanno da 0 a 100; l'aumento del valore numerico rende più probabile il danno glau-

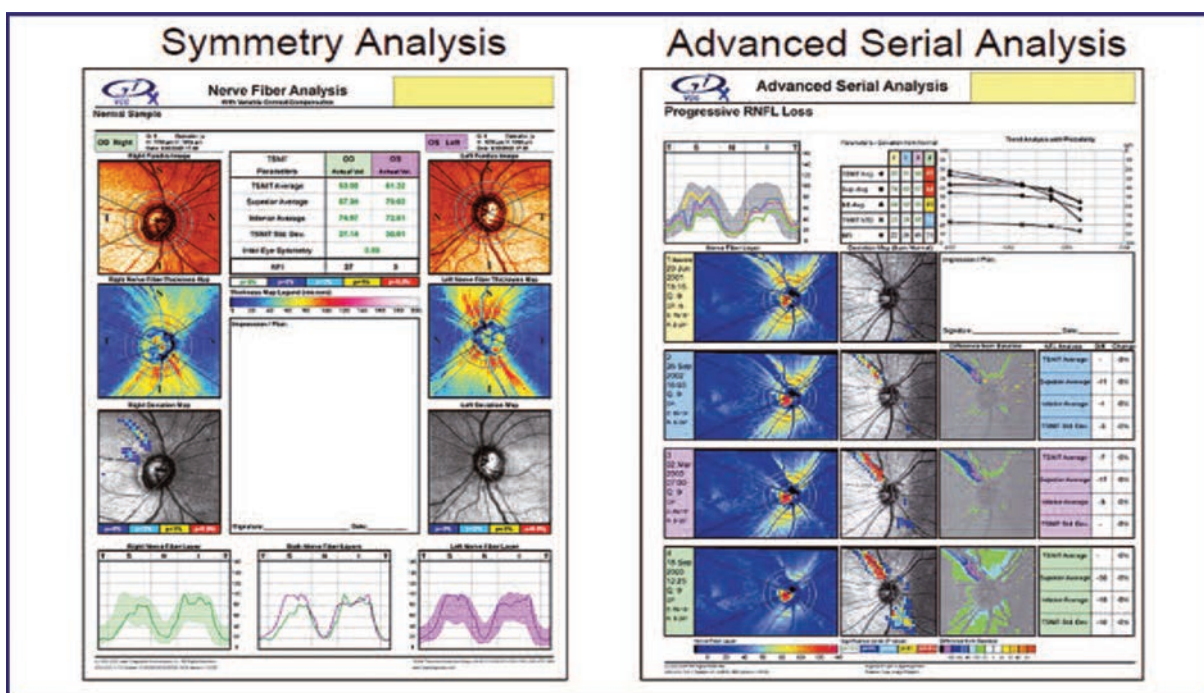


Fig. 6 - Printout del GDx con l'analisi simmetrica delle papille, delle fibre ottiche e delle variazioni progressive nel tempo degli spessori del RNFL.



comatoso. Valori fino a 30 indicano uno stato di normalità, da 31 a 50 un sospetto glaucoma, da 51 a 100 sicuramente un glaucoma. Un secondo Printout permette di seguire i pazienti nel tempo, Advanced Serial Analysis, evidenziando il Progressive RNFL Loss, mettendo in serie i grafici della progressione del danno con colori distinti secondo le date degli esami, tracciando una Trend Analysis with Probability basata sul dato NFI. Il GDxPRO è dotato, infine, del GPA, Guided Progression Analysis, software già applicato con successo sul perimetro Humphrey per seguire nel tempo le perdite del RNFL, così come avviene nei campi visivi con grafici e algoritmi proprietari che l'operatore può scegliere [18,19]. Il modello GDxPRO è, quindi, chiaramente vincente per molteplici fattori che elenco per brevità in modo nominale. In fase di acquisizione sono state migliorate:

- La messa a fuoco automatica, la vista del fondo in tempo reale, l'allineamento automatico della pupilla, la mira di bassa funzione visiva, il controllo immagine dell'iride, il Sistema Touch Screen.

In fase di analisi sono state migliorate e implementate:

- L'ECC (Enhanced Corneal Compensation), per la compensazione della birifrangenza della cornea;
- Il VCC già presente nel modello precedente, integrato ora con ECC;
- Il GPA (Guided Progression Analysis), per identificare nel tempo le perdite di fibre dal punto di vista statico.

HRT

L'HRT (Heidelberg Retina Tomograph, Heidelberg Engineering Germany) giunto alla terza versione, HRT III, è un oftalmoscopio confocale a scansione laser che utilizza una luce a lunghezza d'onda di 670 nm (fig. 7).

L'Oftalmoscopio Confocale a Scansione Laser, CSL, disponibile dal 1988 come prototipo e messo in commercio nel 1992, è frutto degli studi iniziati a Heidelberg negli anni Ottanta da R. Webb a Boston e da J. F. Bille [20]. Utilizza ottiche confocali per ottenere misure in profondità della retina procedendo per piani focali consecutivi, in modo da fornire mappe topografiche complete, dalla lamina cribrosa alla superficie interna della retina. Oltre a misurare lo spessore delle fibre

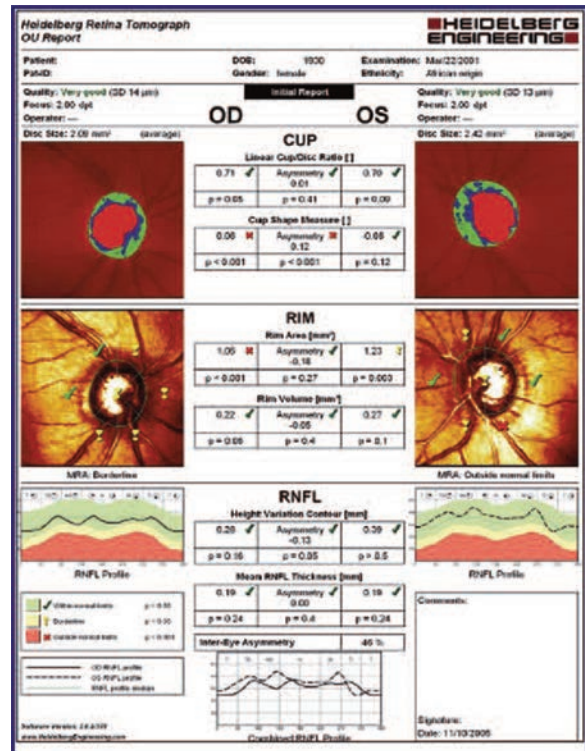


Fig. 7 - HRT III "OU Report" con i risultati del cambiamento dell'analisi topografica (in alto) e la regressione Moorfields Analysis (al centro). Misure dello spessore RNFL e dell'asimmetria tra gli occhi sono fornite nella sezione inferiore della stampa.

ottiche peripapillari, analizza tridimensionalmente la testa del nervo ottico, fornendo informazioni dettagliate sulla topografia del disco ottico. È uno strumento molto collaudato, essenziale per la rilevazione e la gestione del glaucoma, soprattutto per aiutare l'identificazione di lesioni pre-perimetriche e la progressione della malattia. Linda Zangwill e Robert Weinreb hanno dimostrato, analizzando 438 pazienti (865 occhi) con uno studio prospettico e multicentrico, che l'indagine di Moorfields MRA con HRT III è molto predittiva nell'individuare i futuri deficit campimetrici. Infatti, partendo dall'ampio studio sul trattamento dell'ipertensione oculare (OHTS), hanno dimostrato che l'analisi morfometrica sul disco ottico può rilevare la conversione in glaucoma nel 55% dei casi prima dell'insorgere di perdite rilevabili della funzione visiva riconoscendo, anzitempo, quei difetti delle fibre nei settori supero-temporali che si convertiranno in altrettanti deficit perimetrici, confermati a distanza di 5 anni di follow-up nel 40% dei casi [21]. Altrettanto impressionante è che il 93% di tutti i casi segnalati come normali dall'HRT, rispetto al suo database normativo, è rimasto tale durante tutto il periodo d'osservazione.

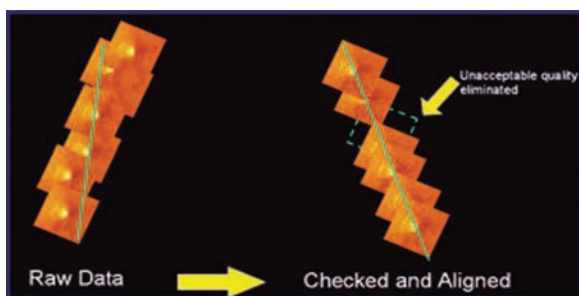


Fig. 8a - Formazione dell'immagine dei singoli strati all'HRT III.

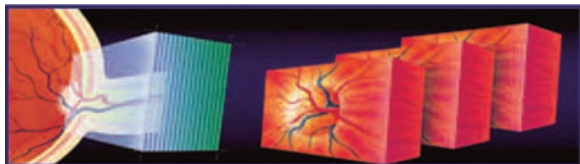


Fig. 8b - Formazione dell'immagine tridimensionale della papilla ottica assemblando le singole immagini all'HRT III.

Il CSLO di ultima generazione, l'Heidelberg Retina Tomografo HRT III, più compatto e maneggevole rispetto alle versioni precedenti, impiega la stessa tecnologia di acquisizione delle immagini e software degli originali tomografi Heidelberg HRT I e II. Le modifiche fondamentali consistono soprattutto nel miglioramento della Moorfields Regression Analysis (MRA). Quest'algoritmo stima la rima neuro-retinica globale suddividendola in sei settori, e la paragona al database in dotazione dello strumento. La MRA è stata introdotta da oltre 10 anni e rappresenta una formula di regressione con capacità diagnostiche tra l'80% e il 91% secondo vari studi, migliore di altri parametri morfologici presi singolarmente. Il nuovo software dell'HRT III utilizza, inoltre, un'analisi automatica per la valutazione del danno glaucomatoso, il Glaucoma Probability Score (GPS), indice di probabilità di glaucoma, calcolato sulla profondità e pendenza dell'escavazione papillare, con riferimento agli assi verticale e orizzontale.

L'indice può assumere valori tra 0 e 100 (normale tra 0-28; sospetto tra 28-64; alterato tra 64-100). Utilizzando la tecnica della Machine Learning, una delle aree fondamentali dell'intelligenza artificiale, attraverso la costruzione di algoritmi, il software dell'HRT III riesce ad apprendere e riconoscere automaticamente modelli d'indagine complessi, prendere decisioni sulla base dell'archivio dei tre gruppi etnici in memoria, fornire indizi di normalità o di patologia sulle scansioni eseguite. In quest'ultima versione la "contour line" può essere tracciata con una certa indipendenza dall'operatore su base di modelli tridimen-

sionali; il GPS, che costituisce il suo punto di forza, utilizza questa possibilità [22]. Tuttavia la contour line resta ancora un punto debole di questo strumento. Lo strumento esegue tre serie di 32 scansioni retiniche in 24 millisecondi, più veloce delle saccadi oculari involontarie (150 millisecondi), ogni scansione è composta di 384x384 pixel per un totale di 147.456 punti su 15° x 15° di superficie, con una risoluzione ottica di 10 µm in trasversale, 62 µm in longitudinale e una risoluzione digitale di 10 µm/pixel (trasversale). Un software proprietario, TruTrak, allinea le scansioni in pile d'immagini singole, esaminate per qualità, scartate se al di fuori di standard fissati dal software (figg. 8a,8b).

L'HRT III da poco tempo è proposto anche come HRT & HEP, specifico per il glaucoma dove, alle performance conosciute dell'HRT III, si sommano le qualità del nuovo perimetro HEP, Heidelberg Edge Perimeter, così da permettere un'indagine completa a 360 gradi sul glaucoma [23]. I nuovi Report di stampa dell'HRT & HEP indagano insieme le due facce della malattia glaucomatosa, la struttura e la funzione, integrando i dati sul nervo ottico e sullo spessore delle fibre dell'HRT III e i dati funzionali del campo visivo del perimetro HEP [24]. L'imaging finale è molto efficace e sicuramente accattivante. A fronte di tanti meriti ci sono alcuni limiti che anche questa versione supertecnologica presenta:

- La papilla ottica deve avere un range tra 1,68 e 2,75 per essere ben interpretata dal software dello strumento;
- Le performance diagnostiche possono essere influenzate dallo stadio della malattia;
- Il GPS ha una scarsa riproducibilità nei valori borderline tra 30 e 78, i più frequenti tra i pazienti sospetti, risultando meno attendibile del previsto;
- Alcuni studi multicentrici (Oddone, Centofanti, Iester et al.) hanno trovato un'accuratezza moderata degli algoritmi dell'HRT III ed evidenziato un'elevata sensibilità e bassa specificità del GPS.

Probabilmente è presto per dare un giudizio definitivo. L'HRT III resta un potente ausilio nella diagnosi e nel follow-up del malato glaucomatoso. I suoi software, in continua evoluzione, permettono certamente un'analisi morfologica molto ampia e completa della malattia glaucomatosa, aggiungendo dati preziosi per la piena comprensione della malattia.

OCT

La tomografia ottica a radiazione coerente ha positivamente sconvolto il campo dell'oftalmologia mondiale. Il primo strumento OCT1 della ditta Zeiss è del 1995. Rivolto inizialmente all'indagine retinica, la tomografia si è dimostrata altrettanto valida nello studio della papilla ottica e del RNFL.

Il software dello Stratus, in produzione fino al primo lustro del 2000, già offriva un'indagine accurata sulla papilla ottica, rilevando i dati anatomici bidimensionali della papilla e lo spessore del RNFL a 3,4 mm dal bordo del disco ottico. Inoltre era capace di determinare gli spessori decrescenti delle fibre ottiche da 2,9 mm a 6,8 mm dal bordo papillare, permettendo di valutare, in modo panoramico, gli spessori delle fibre a distanza, anticipando, per un certo verso, le recenti e più sofisticate indagini GCC [25,26].

Con l'introduzione degli Spectral Domain è stato possibile acquisire immagini più rapidamente e con maggiore risoluzione. Attraverso l'utilizzo della trasformata di Fourier si è passati da 400 misurazioni assiali al secondo, con risoluzione di 10-15 micron del Time Domain, a 25/500 misurazioni assiali al secondo, con risoluzione di 3-6 micron degli Spectral Domain. Numerosi studi hanno ampiamente dimostrato che gli Spectral Domain OCT sono riproducibili sia in occhi sani che glaucomatosi. Una problematica che sta emergendo, con l'uscita sul mercato di tanti modelli di OCT, è la confrontabilità dei dati, l'agreement tra gli OCT [30].

La concordanza nelle misurazioni eseguite da strumenti diversi sullo stesso paziente è un fatto clinicamente rilevante ai fini diagnostici e prognostici. Stratus e Cirrus della Zeiss mostrano una correlazione più che accettabile, così come Stratus e RTVue di Optovue [27-30]. Confronti tra tutti gli OCT non sono ancora disponibili, anche se lavori in questo senso sono stati già intrapresi per lo spessore retinico (Pierro Comunicazione SOI 2011); generalmente il termine di paragone è stato per molti anni lo Stratus. La capacità degli OCT nel riconoscere pazienti malati era, in genere, maggiore in presenza di danni medio-elevati, meno efficiente con danni lievi, nei pazienti cosiddetti preperimetrici e nel discriminare i vari stadi di malattia. Con i nuovi Spectral a 100.000 A-Scan/sec e oltre la sensibilità degli OCT è molto migliorata.

I Printout di stampa degli Spectral, nell'indagine sul nervo ottico e sul RNFL, evidenziano in modo originale i dati anatomici dell'indagine tomografica. L'OCT RTVue ha proposto per primo, in modo originale, l'indagine dello spessore GCC nella regione maculare dove si ritrovano oltre il 50% delle cellule gangliari retiniche, area dove, più attendibilmente e precocemente, una loro eventuale diminuzione può essere individuata e rilevata da misurazioni strumentali nei danni glaucomatosi precoci [30]. L'Optovue ha sviluppato, infatti, l'indagine dello strato GCC, somma delle fibre nervose assonali (NFL), dei nuclei delle cellule gangliari (GCL) e dello strato plessiforme interno (IPL), quest'ultimo costituito dai dendriti delle gangliari in sinapsi con le bipolar. Dopo L'Optovue anche gli altri OCT permettono quest'indagine [31,32].

Larry Alexander e Michael Sinai, in studi aziendali (Optovue), affermano che nel glaucoma variazioni di spessore del complesso GCC precedono quelle del RNFL. Affidandosi a un esteso database normativo formato da 1000 occhi sani di varia nazionalità, 600 statunitensi tra 18 e 82 anni, RTVue utilizza colori caldi, hot colors, (Yellow & Red) per le regioni retiniche più spesse, e colori freddi, cooler colors, (Blue & Green) per le regioni più sottili.

La visione d'insieme del Glaucoma associa tre possibili Printout: l'Optic Nerve Head (ONH) Report, il Ganglion Cell Complex (GCC) Report e il Combined ONH & GCC Report. Sono riportati gli indici statistici di deviazione standard in modo efficace ma non immediatamente intuitivo rispetto ai Report degli altri OCT Spectral [29-33]. Altri studi saranno necessari per validare l'importanza della variazione spessore GCC nel paziente iperteso e/o glaucomatoso. Il dato che anche tutti i devices offrono questa possibilità d'indagine è supportato da numerosi lavori pubblicati e convalidato dall'indagine vascolare in macula nel 6 mm che gli Angio-OCT ora permettono. La versione RTVue XR con 70000 A/Scan al secondo, uscita qualche anno fa, ha offerto nuove emozioni iconografiche e utili dettagli strutturali e funzionali.

Il Cirrus indaga in modo tridimensionale le fibre ottiche con un cubo di 6 x 6 millimetri estraendo 256 scansioni A di 30 micrometri di pixel lungo il percorso del cerchio che corre parallelo al bordo del disco ottico, raffigurando i dati in una mappa di falsi colori dello spessore del RNFL; i colori caldi indicano, come sempre, maggiori spes-

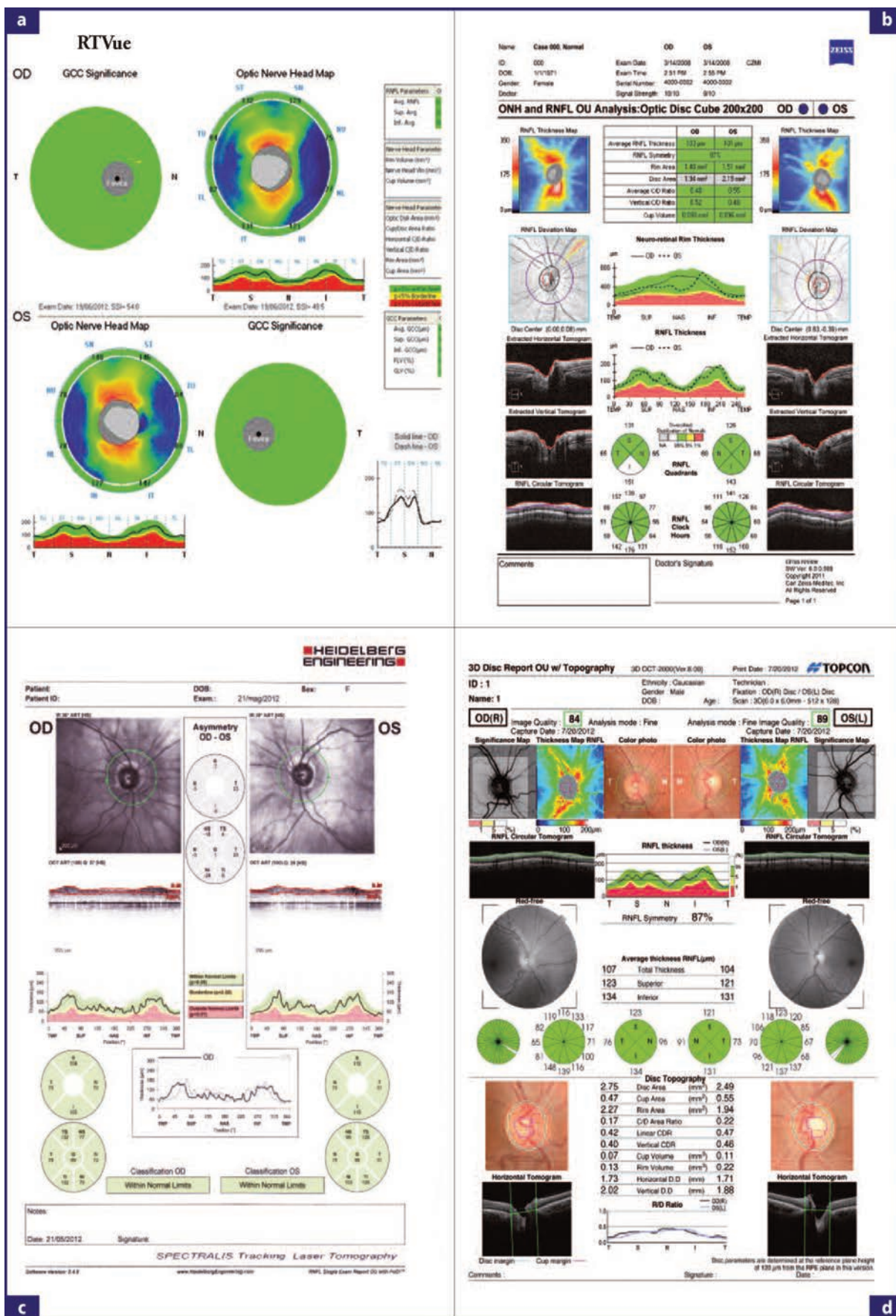


Fig. 9 - Printouts glaucoma di (a) RTVue, (b) Cirrus HD-OCT, (c) Spectralis OCT e (d) Topcon OCT 2000.

sori delle fibre, i freddi spessori minori. Al contrario, nel tracciato a doppia gobba delle fibre, la linea nera dello spessore RNFL, per essere normale, deve restare sempre inscritta nella banda verde; e questo vale per tutti i sistemi OCT, nella rappresentazione del RNFL/TSNIT, intorno al disco ottico (fig. 9).

Nelle ultime versioni del Cirrus  analisi del complesso delle cellule gangliari, Ganglion Cell Complex (Ganglion Cell Layer + Inner Plexiform Layer, GCL+IPL) è posta con particolare cura iconografica nel Printout di stampa. Il database comprende 282 soggetti normali di età superiore a 18 anni, con un errore rifrattivo tra +8 D e -12 D. La misura dello spessore del GCC viene ottenuta in un cubo di 6 mm x 6 mm su due anelli ellittici centrati sulla fovea di 0.5 mm e 2,0 mm rispettivamente. Questa regione retinica sembra meno soggetta a variazioni interindividuali rispetto alla regione peripapillare dove si misura lo spessore del RNFL e ciò garantirebbe, nei confronti dello spessore del RNFL, risultati migliori e più attendibili, con predittività significativamente superiori [37,38]. Questi primi dati sono naturalmente da confermare su grandi numeri e da valutare nel tempo per un completo valore scientifico. Il programma GPA del Cirrus, inoltre, consente di seguire il decorso della malattia con la possibilità di vedere, in un unico Report, il campo visivo dell'Humphry integrato ai dati strutturali con un sicuro effetto empatico [38]. L'OCT Spectralis Heidelberg propose nei primi modelli un Printout con lo spessore del RNFL per i due occhi separatamente in 6 settori peripapillari in modo semplice ed efficace. I nuovi modelli offrono eccellenti iconografie complete e dettagliate [35,36].

L' OCT Topcon nella versione 2000 offriva una stampa molto dettagliata sul disco ottico e sulle fibre, iconograficamente accattivante anche dal punto di vista cromatico, completa in ogni parametro utile per quantificare variazioni rispetto al database normativo in memoria. La nuova versione OCT Topcon con tecnologia Swept Source, DRI OCT-1, (Deep Range Imaging OCT-1) fino a 100000 A Scan al secondo, al fronte di una rivoluzione tra SD-OCT e SS-OCT, ancora non ha dimostrato performance veramente innovative nel mondo degli OCT [39]. La tecnologia SS-OCT è ancora tutta da scoprire, studiare e verificare. 

CONSIDERAZIONI FINALI

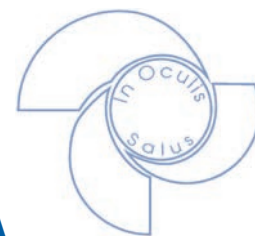
La tecnologia Hi-Tech sicuramente avrà sempre più spazio nella diagnosi e prognosi delle patologie oculari, in special modo nel glaucoma. Negli ultimi anni la tomografia a radiazione coerente è stata utilizzata in altri settori diagnostici, come in cardiologia e neurologia. Nelle malattie sistemiche demielinizzanti e nell'Alzheimer si stanno trovando interessanti correlazioni tra spessore del RNFL, spessore della macula e stadio di avanzamento di queste patologie, mentre in cardiologia la tomografia a coerenza ottica è utilizzata nello studio delle pareti delle coronarie, aprendo nuovi orizzonti di ricerca. L'ulteriore sviluppo di queste tecnologie e la loro applicazione in campi diversi renderà maggiormente accurate e precise le informazioni strutturali delle sezioni di tessuto esaminate, offrendo preziose informazioni, assimilabili sempre più ad un esame istologico in vivo. Nel glaucoma l'indagine delle fibre e della papilla ottica avvicinerà gli aspetti strutturali e funzionali, in un mix d'imaging più completo e variegato. L'alto costo industriale e di distribuzione rende non sempre fruibile, su larga scala, le strumentazioni innovative prodotte. La speranza è che l'aumentata esigenza di diagnosi precoce, essenziale per efficaci terapie e per ridurre i costi sociali delle patologie invalidanti come il glaucoma, renda, quasi inevitabilmente, questi strumenti HiTech di più larga diffusione e a costi minori, con beneficio della salute di tutti.

REFERENCES

- 1) Hartline, H. K. (1938). The response of single optic nerve fibers of the vertebrate eye to illumination of the retina. *American Journal of Physiology*, 121, 400–415.
- 2) <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/hartline-lecture.pdf>.
- 3) Takao Hashimoto, Satoshi Katai, Yasunori Saito, Fumitoshi Kobayashi, and Tetsuya Goto. ON and OFF channels in human retinal ganglion cells. *J. Physiol.* 2013 Jan 1; 591(Pt 1): 327–337.
- 4) B. B. Boycott and H. Wässle. The morphological types of ganglion cells of the domestic cat's retina. *J. Physiol.* (1974), 240, pp. 397–419.
- 5) Hering E. Zur lehre vom lichtsinn Outlines of the Theory of the Light Sense 1878 Carl Ge-

- rold's Sohn: Vienna;Translated by In: Hurvich LM and Jameson D (eds).Harvard University Press: Cambridge, MA, 1964.
- 6) Hughes GW, Maffei L. On the origin of the dark discharge of the retinal ganglion cells. *Arch Ital Biol.* 1965; 103:45–59.
- 7) Hoon M, Okawa H, Della Santina L, Wong RO. Functional architecture of the retina: development and disease. *Prog Retin Eye Res* 2014; 42:44-84.
- 8) Asari H, Meister M. Divergence of visual channels in the inner retina. *Nat Neurosci* 2012;15(11):1581-9.
- 9) Neitz J, Neitz M. Evolution of the circuitry for conscious color vision in primates. *Eye (Lond)* 2017;31(2):286-300.
- 10) Blumenthal EZ, Williams JM, Weinreb RN, Girkin CA, Berry CC, Zangwill LM. Reproducibility of nerve fiber layer thickness measurements by use of optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2000;107(12):2278 –2282.
- 11) Schuman JS. Spectral domain optical coherence tomography for glaucoma (an AOS thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc* 2008; 106:426–458.
- 12) Hoyt, W. F., Frisen, L., & Newman, N. M. (1973). Fundoscopy of nerve fiber layer defects in glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 12,814–829.
- 13) Budenz DL, Chang RT, Huang X, Knighton RW, Tielsch JM. Reproducibility of retinal nerve fiber thickness measurements using the stratus OCT in normal and glaucomatous eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(7):2440 – 2443.
- 14) Quigley, H. A., Reacher, M., Katz, J., Strahlman, E., Gilbert, D., & Scott, R. (1993). Quantitative grading of nerve fiber layer photographs. *Ophthalmology*, 100(12), 1800–1807.
- 15) Medeiros FA, Alencar LM, Zangwill LM, Sample PA, Susanna R, Jr, Weinreb RN. Impact of atypical retardation patterns on detection of glaucoma progression using the GDx with variable corneal compensation. *Am J Ophthalmol.* 2009; 148:155–63
- 16) Medeiros FA, Alencar LM, Zangwill LM, Bowd C, Vizzeri G, Sample PA, et al. Detection of progressive retinal nerve fiber layer loss in glaucoma using scanning laser polarimetry with variable corneal compensation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009; 50:1675–81.
- 17) Medeiros FA, Bowd C, Zangwill LM, Patel C, Weinreb RN. Detection of glaucoma using scanning laser polarimetry with enhanced corneal compensation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48:3146–53.
- 18) Alencar LM, Zangwill LM, Weinreb RN, Bowd C, Vizzeri G, Sample PA, et al. Agreement for detecting glaucoma progression with the GDx guided progression analysis (GPA), standard automated perimetry and optic disc photography. *Ophthalmology.* 2010; 117:462–70.
- 19) Luciana M. Alencar,Christopher Bowd, Robert N. Weinreb, Linda M. Zangwill, Pamela A. Sample, and Felipe A. Medeiros. Comparison of HRT-3 Glaucoma Probability Score and Subjective Stereophotograph Assessment for Prediction of Progression in Glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, May 2008, Vol. 49, No. 5.
- 20) Strouthidis NG, Garway-Heath DF. New developments in Heidelberg retina tomograph for glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol.* 2008; 19:141–8.
- 21) Arthur SN, Aldridge AJ, De Leon-Ortega J, McGwin G, Xie A, Girkin CA. Agreement in assessing cup-to-disc ratio measurement among stereoscopic optic nerve head photographs, HRT II, and Stratus OCT. *J Glaucoma.* 2006; 15:183–9.
- 22) Harizman N, Zelefsky JR, Ilitchev E, Tello C, Ritch R, Liebmann JM. Detection of glaucoma using operator-dependent versus operator-independent classification in the Heidelberg retinal tomograph-III. *Br J Ophthalmol.* 2006; 90:1390–2.
- 23) Zangwill LM, Jain S, Racette L, Ernstrom KB, Bowd C, Medeiros FA, et al. The effect of disc size and severity of disease on the diagnostic accuracy of the Heidelberg Retina Tomograph Glaucoma Probability Score. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48:2653–60.
- 24) Kourkoutas D, Buys YM, Flanagan JG, Hatch WV, Balian C, Trope GE. Comparison of glaucoma progression evaluated with Heidelberg retina tomograph II versus optic nerve head stereophotographs. *Can J Ophthalmol.* 2007; 42:82–8.
- 25) Budenz DL, Fredette MJ, Feuer WJ, Anderson DR. Reproducibility of peripapillary retinal nerve fiber thickness measurements with stra-

- tus OCT in glaucomatous eyes. *Ophthalmology* 2008;115(4):661–666 e4.
- 26) Chen TC, Zeng A, Sun W, Mujat M, de Boer JF. Spectral domain optical coherence tomography and glaucoma. *Int Ophthalmol Clin* 2008;48(4):29–45.
 - 27) Mumcuoglu T, Wollstein G, Wojtkowski M, et al. Improved visualization of glaucomatous retinal damage using highspeed ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2008;115(5):782–789 e2.
 - 28) Vizzeri G, Weinreb RN, Gonzalez-Garcia AO, et al. Agreement between spectral-domain and time-domain OCT for measuring RNFL thickness. *Br J Ophthalmol* 2009;93(6):775–781.VOL. 150.
 - 29) Gonzalez-Garcia AO, Vizzeri G, Bowd C, Medeiros FA, Zangwill LM, Weinreb RN. Reproducibility of RTVue retinal nerve fiber layer thickness and optic disc measurements and agreement with Stratus optical coherence tomography measurements. *Am J Ophthalmol* 2009;147(6):1067–1074, 1074 e1.
 - 30) Vizzeri G, Weinreb RN, Gonzalez-Garcia AO, Bowd C, Medeiros FA, Sample PA, et al. Agreement between spectral-domain and time-domain OCT for measuring RNFL thickness. *Br J Ophthalmol*. 2009; 93:775–81.
 - 31) Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, Vessani RM, Susanna R, Jr, Weinreb RN. Evaluation of retinal nerve fiber layer, optic nerve head, and macular thickness measurements for glaucoma detection using optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*. 2005; 139:44–55.
 - 32) Sharma P, Sample PA, Zangwill LM, Schuman JS. Diagnostic tools for glaucoma detection and management. *Surv Ophthalmol*. 2008; 53: S17–32.
 - 33) Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, Vessani RM, Susanna R, Jr, Weinreb RN. Evaluation of retinal nerve fiber layer, optic nerve head, and macular thickness measurements for glaucoma detection using optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*. 2005; 139: 44–55.
 - 34) Townsend KA, Wollstein G, Schuman JS. Imaging of the retinal nerve fibre layer for glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2009;93(2):139–143.
 - 35) Fayers T, Strouthidis NG, Garway-Heath DF. Monitoring glaucomatous progression using a novel Heidelberg Retina Tomograph event analysis. *Ophthalmology*. 2007; 114:1973 80.
 - 36) Vizzeri G, Weinreb RN, Martinez de la Casa JM, Alencar LM, Bowd C, Balasubramanian M, et al. Clinicians agreement in establishing glaucomatous progression using the Heidelberg retina tomograph. *Ophthalmology*. 2009; 116:14–24.
 - 37) Sung KR, Kim DY, Park SB, Kook MS. Comparison of retinal nerve fiber layer thickness measured by Cirrus HD and Stratus optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2009; 116:1264–70.
 - 38) Leung CK, Cheung CY, Weinreb RN, Qiu K, Liu S, Li H, et al. Evaluation of Retinal Nerve Fiber Layer Progression in Glaucoma with Optical Coherence Tomography Guided Progression Analysis (GPA) *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010; 51:217–22.
 - 39) Kim JS, Ishikawa H, Sung KR, et al. Retinal nerve fibre layer thickness measurement reproducibility improved with spectral domain optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol* 2009;93(8):1057–1063.



CAPITOLO 6

IL DOLORE DELLA REGIONE ORBITARIA DI ORIGINE NON BULBARE

INTRODUZIONE

La definizione che la IASP, International Society for Study of Pain, dà del dolore è la seguente: “il dolore è una spiacevole esperienza sensoriale ed emozionale associata a una lesione tissutale in atto o potenziale, o descritta nei termini di danno” (H. Merskey and N. Bogduk, 1994). Cartesio, già quattro secoli fa, intuì la funzione del dolore come sistema di autodifesa; nei suoi scritti sul dolore esprime, nello stesso tempo, tutto il suo smarrimento e l'incertezza per la molteplicità delle sue cause, come emerge chiaramente dall'espressione “campanello d'allarme in una torre campanaria”. La IASP afferma inoltre che “il dolore è sempre soggettivo” e bisogna accettarlo anche in assenza di obbiettività organica e funzionale. Il termine inglese “pain”, più di altri idiomi, evidenzia, oltre lo stato fisico, quello psichico presente in chi vive quest'esperienza. Deriva dal latino “poena”, pena, punizione, condizione più complessa ed elaborata rispetto all'esperienza fisica e sensoriale del semplice dolore.

Albert Schweitzer, medico alsaziano, teologo, musicista e missionario in Africa, premio Nobel per la pace nel 1952, affermava che “il dolore è un nefando signore dell'umanità, più temibile della morte stessa”, a sottolineare la tragica condizione che può assumere in chi lo subisce in modo devastante e/o permanente.

Per capire appieno l'importanza del dolore cefalico e orbitario in particolare, è necessario introdurre il concetto di “intrusione” del dolore, che David Balan nel 1968 rendeva comprensibile associandolo alla “distalità”, divario fenomenico tra un “evento” e il “suo” che lo percepisce. Una percezione dolorosa recepita “dentro di noi” può variare per grado di “intrusione”, per la diversa “distalità fenomenica” nella sua gravità soggettivamente avvertita. Infatti, è esperienza comune che un dolore a un piede è vissuto come meno grave di un dolore cefalico.

Il dolore nocicettivo spesso è fisiologico, di difesa e allarme, mentre il dolore neuropatico o psicogeno è legato a un'alterazione anatomico-funzionale del sistema nervoso centrale e/o periferico. Il dolore della regione orbitaria di solito è neuropatico, con associazione di elementi psicogeni ed emotivi (fig. 1). Si discuterà del dolore orbitario di origine non bulbare, tanto frequente nei nostri pazienti, a volte da noi sottovalutato nelle reali correlazioni cliniche e psicologiche, per “imprinting culturale”, per formazione (tab. 1).

Trascureremo per brevità le tante forme secondarie come appare nell'elenco dell'ICHD-II 2004, International Classification Of Headache Disorders, che possono coinvolgere l'occhio e la regione orbitaria, per soffermarci solo su alcune (tab. 2).

TABELLA 1 - Definizioni del dolore da parte della IASP (H. Merskey and N. Bogduk 1994)

- **Allodinia:** dolore dovuto a uno stimolo che normalmente non provoca dolore.
- **Analgesia:** assenza di dolore a stimolazioni che normalmente sarebbero dolorose.
- **Causalgia:** sindrome caratterizzata da dolore bruciante prolungato, allodinia e iperpatia in seguito a lesione nervosa traumatica, spesso accompagnata da disfunzioni vasomotorie e modificazioni trofiche tardive.
- **Disestesia:** sensazione anormale sgradevole sia spontanea sia provocata;
- **Parestesia:** sensazione anormale non sgradevole sia spontanea sia provocata.
- **Ipoestesia:** diminuita sensibilità allo stimolo, esclusi i sensi speciali;
- **Iperalgesia:** aumentata risposta a uno stimolo normalmente doloroso.
- **Ipoalgesia:** diminuita risposta a uno stimolo normalmente doloroso.
- **Iperpatia:** dopo uno stimolo, soprattutto se ripetuto, si ha una reazione dolorosa anormale.
- **Soglia del dolore:** la più piccola esperienza di dolore che si può riconoscere come tale.
- **Tolleranza al dolore:** il livello massimo di dolore che una persona può sopportare.
- **Sofferenza:** stato di angoscia, associato o non associato a dolore, connesso a eventi che minacciano l'integrità della persona.

TABELLA 2 - Classificazione delle cefalee ICHD II**CEFALEE PRIMARIE**

1. Emicrania
2. Cefalea di tipo tensivo
3. Cefalea a grappolo e altre cefalalgie autonomico-trigeminali
4. Altre cefalee primarie

CEFALEE SECONDARIE

5. Cefalea attribuita a trauma cranico e/o cervicale
6. Cefalea attribuita a disturbi vascolari cranici o cervicali
7. Cefalea attribuita a disturbi intracranici non vascolari
8. Cefalea attribuita all'uso di una sostanza o alla sua sospensione
9. Cefalea attribuita a infezione
10. Cefalea attribuita a disturbi dell'omeostasi
11. Cefalea o dolori facciali attribuiti a disturbi di cranio, collo, occhi, orecchie, naso, seni paranasali, denti, bocca o altre strutture facciali o craniche
12. Cefalea attribuita a disturbo psichiatrico

NEURALGIE CRANICHE E DOLORI FACCIALI CENTRALI O PRIMARI E ALTRE CEFALEE

13. Neuralgie craniche e dolori facciali di origine centrale
14. Altre cefalee, neuralgie craniche e dolori facciali di origine centrale o primari

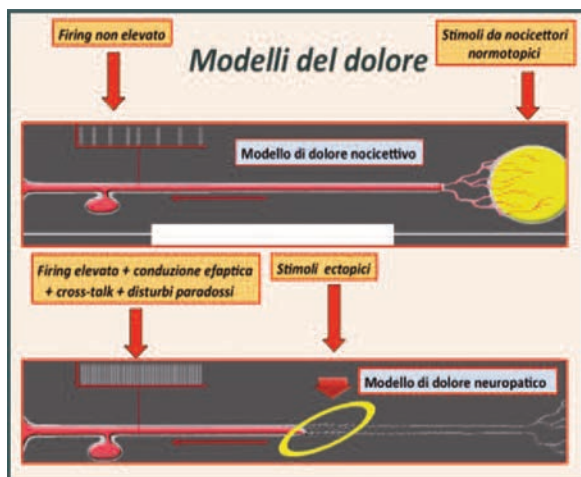


Fig. 1 - Modelli del dolore nocicettivo e neuropatico.

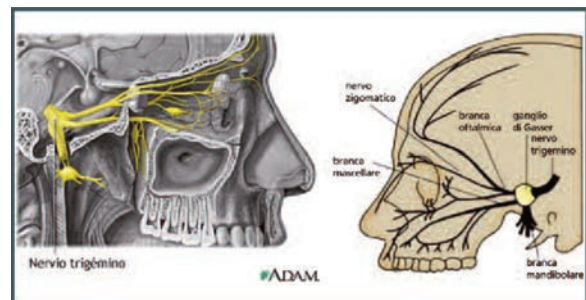


Fig. 2 - Nervo trigemino in sezione anatomica e in schema.

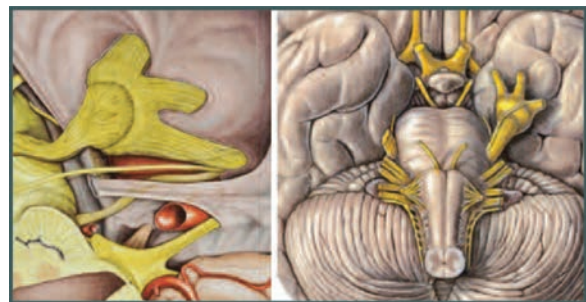


Fig. 3 - Ganglio del Gasser, l'emergenza anatomica e i tre rami.

BREVI NOTE DI ANATOMIA E FISILOGIA

Il trigemino è il quinto e più voluminoso dei dodici nervi cranici, principalmente sensoriale e in minima parte motorio (fig. 2). Sovraintende alla sensibilità del territorio del viso, dell'orbita e del bulbo oculare in particolare. La sua origine reale si trova nei nuclei centrali bulbo-ponto-mesencefalici, mentre l'emergenza anatomica è nella parte ventrale del ponte, dove si espande, dopo breve percorso autonomo (2 cm), nel grande ganglio semilunare del Gasser (Johann Lorenz Gasser, anatomico viennese 1723-1765) della grandezza di un fagiolo, alloggiato e protetto da uno sdop-

piamento della dura madre, il cavo del Merckel (cavum trigeminale), all'apice della rocca petrosa, nella fossa cranica media (fig. 3).

Il vero scopritore del ganglio trigeminale fu Giulio Cesare Casseri o Casserio, circa duecento anni prima. Con anatomici del calibro del Fabrici, Vesalio, Falloppio e del Corti, il Casserio contribuì alla fama europea di Padova come città della me-



Fig. 4 - Teatro Anatomico Palazzo Bo Padova

dicina moderna, dove fu istituita la prima sala settoria per lo studio sistematico dell'anatomia, il Teatro Anatomico al Palazzo Bo (1594) (fig. 4). Il trigemino, in realtà, è composto di tre nervi e i suoi fasci destinati alle tre branche continuano a restare distinti anche all'interno del ganglio gasseriano. Gli stretti rapporti anatomici del ganglio del Gasser, immerso nel liquor cefalorachidiano, con il seno petroso, il seno cavernoso, la carotide interna e le meningi, lo rendono facilmente influenzabile da queste strutture. Un aumento di tensione liquorale, delle meningi o della falce del cervelletto, alla quale il nervo oftalmico dà terminazioni nervose può, infatti, essere avvertita come dolore retro-bulbare.

Il conflitto vascolare esistente con l'arteria cerebellare superiore o anomalie della basilare sono, del resto, riconosciute tra le cause principali della nevralgia trigeminale. I suoi tre rami terminali, in senso medio-laterale, sono la branca oftalmica V1, la mascellare V2, entrambe esclusivamente sensitive, e la mandibolare V3, mista, con fibre motorie per la masticazione. Il nervo oftalmico V1, branca minore del trigemino, responsabile di gran parte delle algie orbitarie, termina anch'esso con tre rami, che latero-medialmente sono:

- *il nervo lacrimale*, che si distribuisce alla ghiandola lacrimale principale e alla palpebra superiore;
- *il nervo frontale*, diretta prosecuzione dell'oftalmico, che si distribuisce al cuoio capelluto, al naso, alle palpebre e alla congiuntiva; ha come rami terminali, il sopraorbitale, il frontale e il sopra-trocleare;
- *il nervo naso-ciliare*, con fibre sensitive, simpatiche e parasimpatiche; ha come rami ter-

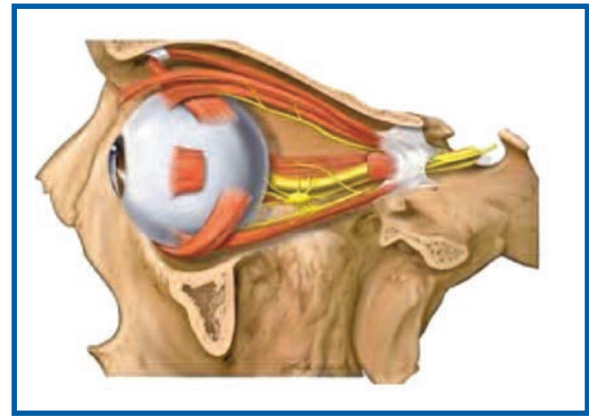


Fig. 5 - Ganglio ciliare

minali la radice lunga del ganglio ciliare, i due nervi ciliari lunghi, l'etmoidale anteriore, posteriore e l'infra-trocleare.

Il ganglio ciliare, parasimpatico, della grandezza di una lenticchia è annesso al nervo oftalmico V1 (nervo del Willis). Questo ganglio, fondamentale per l'apparato visivo, si localizza nella cavità orbitaria tra il nervo ottico e il muscolo retto esterno (fig. 5); fornisce al bulbo oculare un numero mutabile di nervi ciliari brevi, 15/20, che portano efferenze nervose:

- *sensitive* del Ganglio del Gasser;
- *parasimpatiche*, per la costrizione della pupilla e del muscolo ciliare;
- *vasomotorie simpatiche*.

Al ganglio ciliare, a sua volta, arrivano le seguenti afferenze:

- *la radice breve o corta, parasimpatica*;
- *la radice lunga, sensitiva*;
- *la radice simpatica*.

La radice breve o corta, ramo del 3° nervo cranico, oculomotore comune, porta fibre del nucleo mesencefalico di Edinger e Westphal (accessorio del 3° nervo cranico), parasimpatiche, per la costrizione dello sfintere pupillare; la radice lunga, del nervo naso-ciliare, di passaggio nel ganglio ciliare, porta fibre sensitive; la radice simpatica, del plesso cavernoso, porta funzioni vasomotorie. Le fibre simpatiche, per la dilatazione pupillare, arrivano direttamente all'iride tramite i due nervi ciliari lunghi (del n. naso-ciliare dell'oftalmico, V1).

L'importanza del trigemino risiede nel territorio cui sovrintende. Il cranio, per la complessità degli organi di senso che accoglie, riveste funzioni vitali

per la sopravvivenza dell'uomo. Per questi motivi filogenetici l'impalcatura nervosa sensoriale doveva esser la più estesa e completa possibile, e il trigemino assolve pienamente queste funzioni. La nevralgia trigeminale, di cui parleremo in seguito, è una delle algie nervose più importanti e dolorose cui l'uomo può essere sottoposto. La comprensione fisiopatologica del dolore ha avuto una clamorosa svolta con la scoperta della teoria del cancello, Gate Control Theory (figg. 6a, 6b). Questa teoria ci fornisce un modello esplicativo delle modalità di attivazione molecolare dei recettori cellulari, con particolare riferimento ai processi nocicettivi per la percezione e trasmissione del dolore. Formulata nel 1962 da Ronald Melzack e Patrick Wall, costituisce uno dei più rilevanti

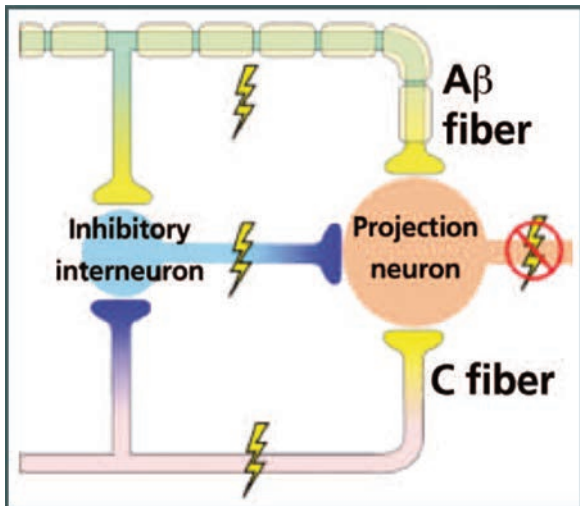


Fig. 6a - Cancelli chiusi: la fibra Aβ stimola l'interneurone inibitorio con blocco della trasmissione dell'impulso dolorifico al cervello.

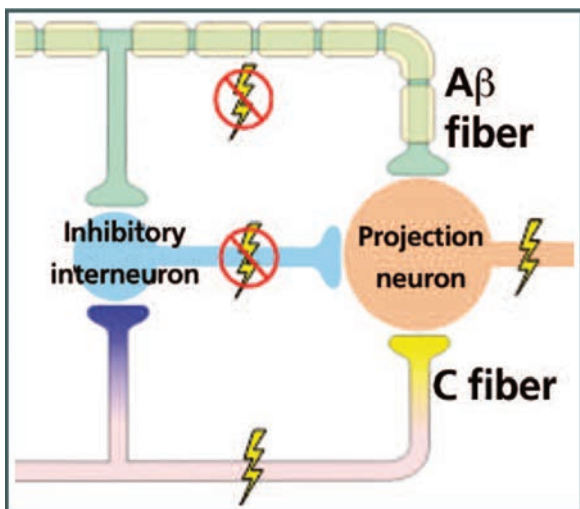


Fig. 6b - Cancelli aperti: la fibra C blocca l'azione inibitoria dell'interneurone e il segnale dolorifico è libero di passare.

passi avanti nei meccanismi molecolari alla base della nocicezione. "Pain Mechanisms: A New Theory", pubblicazione di questi due scienziati, apparsa nel 1965 su Science (Science: 150, 171-179, 1965), è stata definita come "The most influential ever written in the field of pain". Il dolore, captato a livello periferico dai nocicettori, è trasmesso per mezzo di due tipi di fibre nervose:

- Aδ (A-delta) mielinizzate a trasmissione veloce;
- C demielinizzate a trasmissione lenta.

La Classificazione di Erlanger e Gasser (1937) divide le fibre nervose in tre gruppi A, B e C, per la velocità di conduzione, la presenza di rivestimento mielinico e per il loro diametro. Le Fibre A, mieliniche, a loro volta sono distinte in alfa, beta, gamma e delta; le Fibre B, mieliniche pregangliari, fanno parte del sistema autonomo, le fibre C, amieliniche, di più piccolo diametro, costituiscono, infine, più della metà di tutte le fibre sensitive dei nervi periferici e delle postgangliari del sistema autonomo.

Tutte queste fibre si dirigono dal recettore periferico al midollo spinale, dove prendono sinapsi con un neurone midollare. Il loro assone, attraverso il fascio spino-talamico, invia il messaggio dolorifico ad una struttura encefalica, la corteccia cerebrale, il talamo, l'ipotalamo e l'amigdala, per l'elaborazione finale (fig. 7).

Melzack e Wall hanno individuato l'esistenza di piccoli interneuroni specifici, i "neuroni corti", intercalati nel circuito di trasmissione dell'impulso della fibra del nocicettore al neurone midollare, localizzati nella sostanza gelatinosa del Rolando,

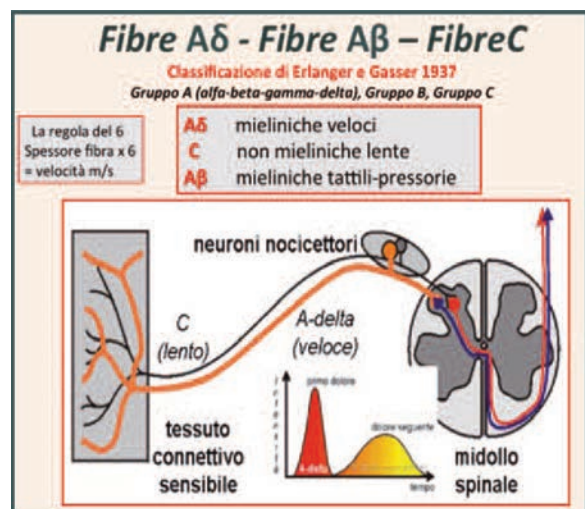


Fig. 7 - Fibre nervose periferiche e connessione centrale

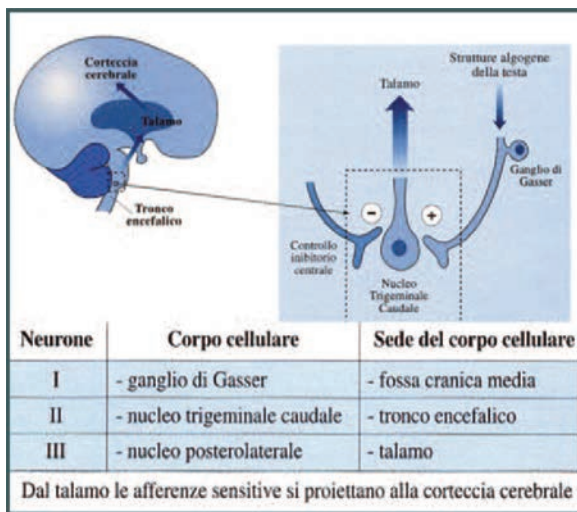


Fig. 8 - Trasmissione degli impulsi nella via trigeminale.

nel corno posteriore della sostanza grigia del midollo spinale; utilizzano come neurotrasmettitore un oppioide endogeno, l'encefalina. Le fibre A β , A δ e C, con le loro sinapsi midollari, determinano la qualità del segnale trasmesso. Se prevalgono le fibre A β di grosso calibro tattili-pressorie, il "cancello" si chiude e non passa nessuno stimolo doloroso, se prevalgono le fibre A δ o C, nocicettive lente e veloci rispettivamente, il "cancello" si apre e l'impulso dolorifico passa e arriva ai centri superiori. Questa modulazione esiste anche nella trasmissione degli stimoli della regione cefalica, per il territorio trigeminale, con modalità ancora da scoprire interamente (fig. 8).

L'IHS, International Headache Society, Società Internazionale delle cefalee, organizzazione mondiale leader per lo studio e la prevenzione del dolore cefalico, ha redatto la classificazione internazionale delle cefalee, arrivata alla seconda edizione, ICHD-II 2004, International Classification Of Headache Disorders, che include oltre duecento tra cefalee e algie craniche, raggruppate in gruppi gerarchici.

Ogni lavoro scientifico riguardante le cefalee e le algie craniche, per essere accettato e pubblicato, deve far riferimento a questa classificazione internazionale, universalmente accettata. L'ICHD-II 2004 divide le cefalee e algie craniche in tre grandi gruppi:

- A) Cefalee primarie (22)
- B) Cefalee secondarie (48)
- C) Nevralgie craniche, dolori facciali centrali e altre cefalee (21)

Questi tre gruppi, a loro volta, comprendono sottogruppi, con numerose entità autonome, clinicamente individuate e circoscritte. In questo mare magno, nel quale è difficile districarsi, trovare un orientamento sicuro non è certo compito dell'oftalmologo. L'oculista però è spesso chiamato a intervenire in prima battuta in molte di queste multiformi e angoscianti patologie; avere un orientamento di base è più che necessario. La regione orbitaria e il bulbo sono, infatti, coinvolti direttamente o indirettamente nella maggior parte delle algie craniche. Considerare le diverse forme cefalalgiche che coinvolgono la regione orbitaria, è, quindi, opportuno e doveroso.

Questo articolo vuole essere un tentativo per rendere maggiormente agevole il cammino nelle algie craniche, spesso difficoltose per approccio clinico, poco familiari a noi oculisti, compiutamente conosciute da pochi cultori della neuro-oftalmologia.

EMICRANIA CON AURA

Il gruppo delle Cefalee Primarie, secondo la classificazione ICHD-II 2004, comprende quattro sottogruppi:

- 1) Emicrania (IHS 1)
- 2) Cefalea di tipo tensivo (IHS 2)
- 3) Cefalea a grappolo e altre cefalalgie autonome trigeminali (IHS 3)
- 4) Altre cefalee primarie (IHS 4)

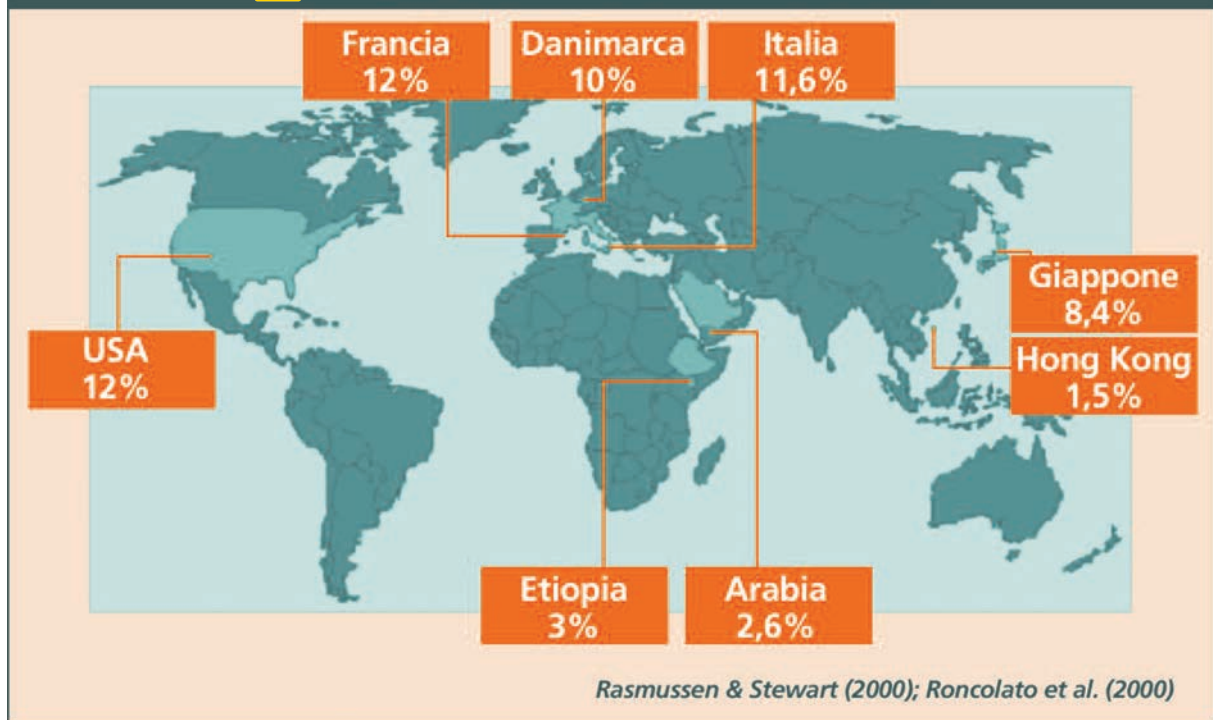
Il capitolo delle emicranie a sua volta prevede:

- 1) Emicrania senza aura (IHS 1.1.)
- 2) Emicrania con aura (IHS 1.2.)
- 3) Sindromi periodiche dell'infanzia possibili precursori comuni dell'emicrania (IHS 1.3.)
- 4) Emicrania retinica (IHS 1.4.)
- 5) Complicanze dell'emicrania (IHS 1.5.)
- 6) Probabile emicrania (IHS 1.6.)

Il GBD, Global Burden of Disease Study, con il contributo di centinaia di esperti da tutto il mondo, tra cui i ricercatori dell'OMS, Organizzazione Mondiale della Sanità, pone le emicranie, tra tutte le 291 cause di morte e d'invalidità censite, al 19° posto nel Report del 2001. Per l'OMS una disabilità, disability, è "una qualsiasi limitazione o perdita della capacità di compiere un'attività nel modo o nell'ampiezza considerati normali per un essere umano", distinguendola



TABELLA 3 - Prevalenza dell'emicrania nel mondo



dalla menomazione e dall'handicap, maggiormente inficianti le capacità personali e lavorative del soggetto. In Italia, come in Europa in genere, l'emicrania ha una frequenza del 12% circa, diminuendo drasticamente al 2% nel continente africano e a Hong-Kong (tab. 3).

L'emicrania con aura, conosciuta anche come emicrania oftalmica, classica, emiparestesica, emiplegica, afasica, come emicrania accompagnata o complicata, è la forma con la quale l'oculista si confronta più frequentemente. L'emicrania con aura è un disturbo ricorrente, costituisce il 20% delle emicranie; l'altro 80% è rappresentato dalle forme senza aura, con una frequenza tra donne e uomini di 2-3,5: 1 tra i 20 e i 60 anni d'età. È un disordine caratterizzato da attacchi periodici con sintomi neurologici focali reversibili, che si manifestano gradualmente in 520 minuti e terminano in 60 minuti circa, con una certa predisposizione ereditaria (autosomica dominante a penetranza incompleta). La cefalea, con le caratteristiche dell'attacco emicranico, segue quasi sempre i sintomi dell'aura.

Nel 15% dei casi la cefalea può essere assente, equivalente emicranico, o avere caratteristiche differenti dall'emicrania classica. Si manifesta temporalmente in quattro fasi: *sintomi premonitori*,

aura, *emicrania*, *sintomi residui* e *la risoluzione* dell'evento con un periodo di normalità sintomatologica. I sintomi premonitori, sono molto vaghi: fame, sbadigli, aumento delle percezioni sensoriali, ritenzione idrica, che avvalorerebbero un'origine ipotalamica dell'affezione.

Di solito sono turbamenti dell'umore mal definiti e raramente riferiti dai pazienti, se non richiesti con insistenza nell'anamnesi. L'aura si manifesta con sintomi transitori che precedono o più raramente accompagnano la fase algica; può avere caratteristiche *visive* (90%), *sensitive* (57%), più raramente *afasiche* (20%) o *motorie* (6%).

I *fenomeni visivi* dell'aura possono essere positivi, come la comparsa di luci bianche o colorate, lampi, linee ondulate e/o tremolanti, noti come scotomi scintillanti, spettri di fortificazione o teicopsie, oppure essere negativi, macchie scure o perdita parziale o totale del visus, che preoccupano maggiormente il paziente.

I *fenomeni sensitivi* dell'aura possono essere anch'essi positivi, parestesie come punture di spillo, formicolii, o negativi, fenomeni ipoestesici; sono unilaterali, a lenta progressione, la cosiddetta "marcia dell'aura sensitiva".

I *fenomeni afasici* dell'aura, più rari, si associano ai fenomeni sensitivi che coinvolgono il viso,

TABELLA 4 - Tabella riassuntiva della diagnosi differenziale tra emicrania e cefalea di tipo tensivo (da Stefania Battistini - Dipartimento di Neuroscienze Siena)

	Emicrania	Cefalea di tipo tensivo
Familiarità	presente	assente
Distribuzione per sesso F:M	3:1	2:1
Qualità del dolore	pulsante	gravativo-costrittivo
Sede	unilaterale	bilaterale
Intensità	medio-forte	lieve o media
Durata	4-72 ore	30 minuti - 7 giorni
Profilo temporaleepisodico	episodico	episodico
Sintomi e segni associati	nausea e/o vomito, fono e fotofobia	fono e fotofobia
Comportamento del paziente	isolamento, buio, silenzio, riposo	lievi modificazioni

Spesso entrambe le patologie coesistono in uno stesso paziente rendendo difficile la diagnosi differenziale

e interessano l'espressione verbale, con frequente "amnesia nominum". Infine, i *fenomeni motori* si presentano con ipostenia ad un arto e/o un'emi-paresi di breve durata, sempre unilaterali, associati comunemente a fenomeni visivi o sensitivi.

L'emicrania, che esordisce di solito dopo l'aura, può comparire anche senza alcun sintomo, aumenta nel tempo, raggiungendo la massima intensità in 30-120 minuti; raro un suo esordio notturno, nel sonno.

All'emicrania possono associarsi nausea, vomito, fonofobia e fotofobia di varia intensità; le luci, i rumori, i minimi urti o i movimenti esacerbano il dolore, costringendo i malati a rimanere immobili al buio, lontano da fonti sonore. Seguono i sintomi residui, spossatezza, astenia, modificazione dell'umore e dell'appetito, con intensità differente da soggetto a soggetto.

La frequenza degli attacchi varia da uno alla settimana nel 15% dei casi a uno al mese nel 30% dei casi. La diagnosi differenziale deve essere fatta con la cefalea di tipo tensivo, la più diffusa delle cefalee primarie; distinguerle risulta spesso difficile perché possono essere associate tra loro (**Tabella 4**).

In caso le crisi durino più a lungo, oltre le 72 ore, entriamo nel campo delle complicanze dell'emicrania, nella classificazione ICHD-II 2004 suddivise in:

- emicrania cronica (IHS 1.5.1.)*
- stato emicranico (IHS 1.5.2.)*
- aura persistente senza infarto (IHS 1.5.3.)*
- infarto emicranico (IHS 1.5.4.)*
- epilessia indotta dall'emicrania (IHS 1.5.5.)*

a cui si rimanda perché non inerenti la nostra esposizione. Per quanto riguarda l'eziologia, le alterazioni della microcircolazione cerebrale e/o cardiaca sono tra le ipotesi più probabili. In particolare viene evocata la possibilità della presenza di un forame ovale cardiaco pervio e l'alta frequenza delle emicranie con aura in soggetti che svolgono attività sportiva di un certo impegno.

Pur con queste ipotesi, solo in parte suffragate da dati di letteratura, le vere cause dell'emicrania con aura restano ancora non pienamente determinate.

EMICRANIA RETINICA

L'emicrania retinica, presente nella classificazione ICHDII 2004 (IHS 1.4.) come entità autonoma nel gruppo delle emicranie, è caratterizzata da attacchi ripetuti, almeno due, con disturbi visivi monoculari consistenti in fosfeni, scotomi o amaurosi totale che, a differenza dell'emicrania con aura, sono strettamente monoculari, in associazione a cefalea con carattere emicranico.

I disturbi oculari, reversibili, dovrebbero essere confermati da un esaminatore durante l'attacco o almeno da disegni eseguiti dall'interessato, adeguatamente istruito. Queste restrizioni cliniche esprimono la difficoltà nella diagnosi di certezza di questa particolare e rara affezione, (46 casi certi descritti al mondo e quasi nessuna bibliografia). Il quadro retinico, al di fuori dell'attacco, è assolutamente normale; durante la fase acuta, al contrario, è presente un vasospasmo diffuso del letto arterio-lare retinico, unico reperto di certezza diagnostica.

Gli attacchi sono, com'è stato detto, monoculari e reversibili, con durata maggiore di 30 e minore di 60 minuti, con dolore intenso gravativo retro-oculare. Nel 50% dei casi è stata descritta in letteratura perdita finale del visus, anche se l'affezione, per l'ICHD-II 2004, resta reversibile e transitoria.

Deve essere distinta dall'amaurosi fugax, con la quale facilmente si confonde, che ha come possibile e temibile causa una dissezione o una serrata stenosi delle arterie carotidee. La sua eziologia resta tuttora largamente incerta.

CEFALEA A GRAPPOLO

Nota in letteratura anglosassone come *Cluster Headache*, (IHS 3.1.), termine coniato nel 1952 da Charles Kunkle, a noi oculisti interessa perché la sintomatologia coinvolge sempre il territorio oftalmico. Conosciuta anche come cefalea del suicidio, (termine utilizzato anche per la nevralgia trigeminale), cefalalgia istaminica, nevralgia ciliare, eritromelalgia del capo o cefalea di Horton, è stata descritta, inizialmente, secondo varie fonti, dal neurologo inglese Wilfred Harris (1869-1960) come nevralgia migrante o, più probabilmente, da Thomas Willis (Wiltshire 1621 London 1675), pioniere nella ricerca della vascolarizzazione del cervello (Poligono del Willis), che ne dette notizia nel 1672, individuandola in una donna che ne soffriva da più giorni, alla stessa ora, ore 16, e perciò da lui denominata "cefalea ad orologeria".

È caratterizzata da dolore nel territorio orbitario o periorbitario, unilateralmente, con possibile cambiamento del lato coinvolto tra un attacco e l'altro nel 15% dei casi. L'irradiazione può avvenire più frequentemente verso la fronte e la tempia, sindrome superiore, o lo zigomo, l'arcata dentaria e il mento, sindrome inferiore, più rara. La cefalea a grappolo è la forma meno frequente tra le cefalee primarie.

Nella popolazione la cefalea a grappolo ha una prevalenza di 1 caso su 1000, un rapporto tra i sessi invertito rispetto all'emigrania, 6 : 1 (2001) a favore dei maschi, divario che sta restringendosi nel tempo (4,3 : 1 nel 2008), un esordio tra i 20 e i 40 anni, senza familiarità certa (forse autosomica dominante).

A una fase attiva degli attacchi, "grappolo" o "cluster", di due settimane fino a tre mesi, segue una fase inattiva, di remissione, di 6/12 mesi, con paziente completamente asintomatico.

La crisi compare all'improvviso, senza prodromi, con massima intensità in 5-10 minuti, dolore fortissimo, trafittivo, lancinante, insopportabile, stato d'agitazione del paziente, durata complessiva tra 15 e 180 minuti, una frequenza di 1-3 crisi al giorno, con disturbi neurovegetativi omolaterali al dolore.

I sintomi e segni neurovegetativi per 85% sono oculari, con iperemia congiuntivale, lacrimazione, miosi e ptosi palpebrale, per il 70% sono nasali, con ostruzione dei meati e rinorrea.

A questo quadro clinico si aggiunge sudorazione nella sede del dolore, flushing facciale con cute dell'emivolto arrossata, calda e umida, nausea, fotofobia, fonofobia, tachicardia all'inizio della crisi seguita da bradicardia e aumento della pressione arteriosa sistemica all'acme della crisi.

Fattori scatenanti favorevoli sono l'alcool, il fumo di sigaretta, l'istamina di origine alimentare che, se non prontamente inattivata, per un eventuale deficit dell'enzima diaminossidasi, può scatenare un attacco di cefalea in occasione dell'assunzione di cibo, come alcuni tipi di pesce. Si è notato che oltre il 50% dei fumatori con cefalea a grappolo fuma più di 20 sigarette al giorno, correlazione ancora poco chiara.

Per quel che riguarda le forme cliniche, infine, la cefalea a grappolo può presentarsi in forma cronica, più rara, o in forma episodica (80%), se il periodo di remissione è superiore a un mese. La classificazione ICHD-II 2004 tra le forme di cefalea a grappolo prevede la forma denominata *SUNCT* (IHS 3.3.), "Short-lasting Unilateral Neuralgiform headache attacks with Conjunctival injection and Tearing", che potrebbe essere tradotta come cefalea unilaterale di tipo nevralgico di breve durata con iniezione congiuntivale e lacrimazione.

Il dolore, strettamente unilaterale in sede orbitaria, sovraorbitaria o temporale, trafittivo o pulsante, ha una durata di 5-240 secondi, una frequenza da 3 a 200 volte al giorno, non attribuito a nessun'altra condizione patologica.

Per rientrare in questa fattispecie clinica ci devono essere, per la classificazione ICHD-II 2004, almeno 20 attacchi che soddisfino le caratteristiche suddette. Secondo i dati della letteratura lesioni della fossa cranica posteriore o dell'ipofisi possono manifestarsi con algie simili alla SUNCT, anche se confonderla con una nevralgia trigeminale è molto facile. Anche la SUNCT vede l'oftalmologo frequentemente coinvolto in prima bat-

tuta; avere un giudizio diagnostico prudente e lungimirante è opportuno e necessario, anche se oltremodo difficoltoso.

NEURALGIA DEL TRIGEMINO

Il “gruppo C” della classificazione ICHD-II 2004 tratta delle nevralgie craniche e dolori facciali (fig. 9). Sono patologie dolorose croniche con attacchi improvvisi, sempre unilaterali, nella zona d’irradiazione dei nervi interessati dall’evento patologico.

La nevralgia del trigemino (IHS 13.1.) è la più comune tra le nevralgie craniche, coinvolgendo 3-5 persone su

abitanti; il 90% delle nevralgie facciali sono, infatti, trigeminali. Con prevalenza di 2 : 1 tra femmine e maschi, nel 75% ha un esordio dopo i 50 anni; un inizio giovanile impone il sospetto diagnostico di una forma sintomatica, secondaria (IHS 13.1.2.), molto più rara e temibile; nel 2/4% di casi si può trattare di una Sclerosi Multipla. La forma idiopatica o essenziale (IHS 13.1.1.) ha sempre un esame neurologico negativo.

La sintomatologia della nevralgia trigeminale si manifesta con dolore intenso, parossistico, ad accessi, con carattere lancinante, a “scossa elettrica”, a colpo di pugnale, di tipo urente, che inizia e termina in modo brusco. Le crisi sono brevi, di pochi secondi, meno di 2 minuti, con una frequenza di 5/10 al giorno, subentranti nelle forme gravi, con scariche a salve. Il dolore, spesso stereotipato nel singolo paziente, può essere innescato da stimoli banali, come il lavarsi il viso o i denti, radersi la barba o fumare; rari, per non dire eccezionali, gli attacchi notturni.



fig. 9 - Gruppo C (ICHD-II) con schema del trigemino.

Il dolore insorge spontaneo e/o scatenato dalla pressione, anche leggera, su zone “trigger”, zone grilletto, in assenza di deficit neurologici; se bilaterale, 3/5% dei casi, bisogna sospettare una forma secondaria, sclerosi multipla in primis, come nelle forme ad esordio giovanile. Interessa il territorio d’innervazione del quinto nervo cranico, più frequentemente la II° e III° branca; la I° branca, interessata singolarmente solo nel 5% dei casi, è spesso coinvolta con le altre due, per cui un’estensione algica alla regione oftalmica è molto frequente (tab. 5). Fra un attacco e l’altro vi è assenza di dolore, perfetta sensibilità della faccia e della cornea; con il ripetersi degli eventi dolorosi può residuare un dolore sordo e subdolo, persistente.

Durante la crisi dolorosa vi può essere contrattura della muscolatura facciale omolaterale, da cui il termine, ormai desueto, “Tic Douloureux” (André, 1756), dato inizialmente alla malattia. Nel

TABELLA 5 - Frequenza della nevralgia trigeminale

Gruppo C Nevralgia del trigemino	
Lateraltà:	
Destra	60%
Sinistra	39%
Entrambi i lati	1%
Branche coinvolte:	
V1	2%
V2	20%
V3	17%
V1 e V2	14%
V2 e V3	42%
V1, V2 e V3	15%

Gruppo C Nevralgia Trigeminale (in dolenzia, esordio del sorriso)

- **Classica** unilaterale, di breve durata, tipo scossa elettrica, inizia e termina in modo brusco, da pochi sec. a 2 minuti, con pause remissive, con contrazione muscolatura omolaterale (Tic dolorosa), scatenata dai Trigger Point, 3-5% bilaterale
Risponde alla terapia farmacologica
Dovuta a compressione vascolare
- **Secondaria o sintomatica** casi con documentate patologie, (neurinoma, S.M nel 2-4%, piercing alla lingua ecc.). Segni e sintomi identici alla classica ma **senza pause remissive**.
Non risponde alla terapia farmacologica
Non dovuta a compressione vascolare

Fig. 10 - Schema riassuntivo della nevralgia trigeminale

corso della crisi il paziente resta immobile, interrompendo ogni sua attività, al contrario della cefalea a grappolo, dove prevale uno stato di agitazione. L'evoluzione è discontinua; solitamente si aggrava con sempre minori periodi di remissione tra una crisi e l'altra (fig. 10).

La diagnosi differenziale deve essere fatta essenzialmente con la cefalea a grappolo, con cui non è difficile confonderla (tab. 6). La genesi della nevralgia trigeminale non è ancora pienamente chiarita; il conflitto vascolare è invocato da più parti come causa più probabile. L'arteria cerebellare superiore è la struttura vascolare che più frequentemente comprime la radice o il ganglio del Gasser, con lesione delle guaine mieliniche, come testimoniato dalle risonanze magnetiche, per anomalie di calibro e di percorso di quest'arteria.

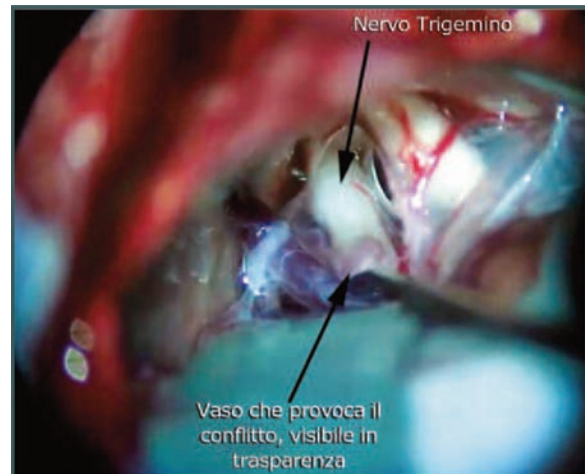


Fig. 11 - Conflitto vascolare nella nevralgia trigeminale (da Neurochirurgia Udine).

Anche alcune malformazioni del tronco dell'arteria basilare, (mega-dolico-ectasie arteriose intracraniche), potrebbero essere tra le possibili cause vascolari dell'affezione. Le decompressioni vascolari eseguite in corso di nevralgie trigeminali non trattabili con interruzione della relativa sintomatologia dolorosa in percentuale del 95%, avvalorerebbero tali ipotesi (fig. 11).

Del resto, la risposta positiva iniziale alla terapia farmacologica, che perde nel tempo efficacia, evidenzia una causa strutturale ancorché funzionale dell'affezione.

Maggiormente poco efficace, già dall'inizio, è la risposta ai fans nelle temibili forme secondarie o sintomatiche, tra cui, curiosamente, troviamo anche il piercing della lingua. Una volta accertata l'eziologia, si tratta di forme secondarie, che aumenteranno sempre più di numero, per il maggior



TABELLA 6 - Differenze tra Cefalea a grappolo e Nevralgia del trigemino
 (da Stefania Battistini, Dipartimento di Neuroscienze Siena)

	Cefalea a grappolo	Nevralgia del trigemino
Età di insorgenza	20-40 aa	> 50 aa
Sede del dolore	territorio I branca trigeminale	territori II-III branca trigeminale
Durata della crisi	30-180min	pochi sec-2 min
Frequenza delle crisi	1-3 crisi/die (raggruppate in grappoli o ininterrotte)	da 5-10 accessi al di subentranti
Intensità del dolore	forte-molto forte	forte-molto forte
Qualità del dolore	lancinante, trafittiva	a "scossa elettrica"
Fattori scatenanti la crisi	nitroglicerina, istamina	pressione su zone trigger
Distribuzione per sesso	M:F=6:1	M:F= 1:1,5
Sintomi di accompagnamento	omolaterali al dolore: iniezione congiuntivale, lacrimazione, miosi, ptosi palpebrale, ostruzione nasale, rinorrea	spasmo muscolare facciale (tic) omolaterale al dolore

utilizzo dell'imaging nella diagnostica. L'estremità cranica può essere interessata da altre forme nevralgiche, come quelle a partenza dal nervo glossofaringeo, dal laringeo superiore o nelle algie che sono dette "atipiche", non di nostra competenza, alle quali si rimanda.

OFTALMOPLERGIE DOLOROSE

In questa dizione uniamo le due affezioni dolorose con paralisi della muscolatura estrinseca dell'occhio che più da vicino interessano noi oftalmologi: *la Sindrome di Tolosa-Hunt e l'Emicrania Oftalmoplegica di Moebius*.

La Sindrome di Tolosa-Hunt (IHS 13.16.), nota anche come oftalmoplegia dolorosa o sindrome oftalmoplegica, è dovuta ad una collagenopatia da immunodeficienza con infiltrazione granulomatosa della porzione intracavernosa della carotide interna.

Il dolore è retro e sopraorbitario, di grave intensità, che spesso precede di qualche giorno il manifestarsi dell'oftalmoplegia. La paralisi dei muscoli estrinseci oculari coinvolge con maggiore frequenza il III° nervo cranico, anche se il IV° e il VI° possono essere contestualmente interessati, ma quasi mai isolatamente. Il nervo ottico, nei casi più gravi, a volte è coinvolto, con deficit visivo più o meno severo.

L'affezione risponde positivamente alla terapia cortisonica e si risolve, di solito, senza reliquati, colpendo l'età adulta, sopra i 41 anni, in egual frequenza i due sessi.

L'Emicrania Oftalmoplegica (IHS 13.17.), nota anche come paralisi oculomotoria recidivante o periodica, è un'affezione molto rara, con una sintomatologia molto simile alla Tolosa-Hunt, colpisce l'età infantile, anche sotto l'anno di vita. Questo dato la rende particolarmente drammatica.

Si presenta con forte cefalea di tipo emicranico in regione orbitaria, monolaterale che dura qualche giorno prima dell'insorgere della paralisi del III° nervo cranico; il IV° e VI° possono variamente essere coinvolti. A testimoniare la maggiore drammaticità del quadro clinico, oltre l'età, c'è il dato dello scarso e/o parziale recupero dei deficit neurologici, presenti della fase acuta, a volte solo dopo alcune settimane dalla lancinante cefalea.

Le cause sono poco certe; si riscontrano aneurismi della carotide interna o una neuropatia demielinizzante ricorrente alla captazione del gado-

linio all'imaging radiologica. Entrambe queste due algie dolorose associate ad oftalmoplegie sono, per fortuna, rare e affrontabili con uno strumentario e una farmacopea ben più sofisticate e efficaci rispetto ai tempi in cui furono, per la prima volta, diagnosticate. Questo non deve in nessun modo far sottovalutare la loro aggressività; solo una diagnosi e terapia precoce ci permetteranno di fronteggiarle e sconfiggerle con maggiore speranza di successo e minori deficit funzionali permanenti.

CONSIDERAZIONI FINALI

Tracciare delle considerazioni finali in campo di dolore cranico significa dimenticare che ci troviamo di fronte ad un dramma che l'uomo ha, da sempre, dovuto affrontare, e dal quale ne è uscito spesso sconfitto, se non altro dal punto di vista psichico. Arthur Schopenhauer e Søren Kierkegaard, ritenuti universalmente i massimi filosofi del dolore, più di altri hanno incarnato nelle loro opere la tragicità del dolore umano.

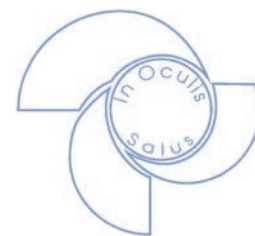
"Sei sono dolore e bisogno, e il settimo è noia" affermava Schopenhauer descrivendo l'essenzialità della settimana per la maggior parte del genere umano. Il dolore trigeminale e cranico in generale è, senza dubbio, il più temibile dei dolori che l'uomo possa subire durante la sua vita, e noi oftalmologi siamo spesso i primi testimoni delle manifestazioni d'esordio di queste dolorose affezioni. Il nostro compito è indicare, presto e bene, le migliori strade da intraprendere per allentare la morsa che questi pazienti sentono stringersi intorno alla loro triste esistenza. L'occhio, e la regione orbitaria più in generale, sono al centro di queste patologie, tante volte definite "del suicidio".

Nell'affrontare questi temi non sentiamoci spettatori estranei. La diagnosi e la terapia delle algie orbitarie non bulbari coinvolge da vicino noi oftalmologi ed esige positive risposte e proposte, nei limiti delle nostre competenze. Siamo medici prima di essere oculisti!

L'affascinante e temibile mondo dell'encefalo un po' ci appartiene; l'unica finestra naturale che ad esso si affaccia e si apre è l'organo verso il quale ogni nostro sforzo è proteso e dedicato: non chiudiamo definitivamente alla speranza di questi pazienti la finestra dell'oftalmologia, che può offrire nuovi scenari, possibili soluzioni e a volte proposte positivamente alternative.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Bennett M.H., Jannetta P.J.: "Evoked potentials in Trigeminal Neuralgia". *Neurosurgery*, 1983; 13: 242-247.
- 2) Bergamini Luduvico.: "Manuale di neurologia clinica". II ed. 1986, Libreria Cortina Torino.
- 3) Bonica John J. with collaboration of Loeser John, Chapman Richard C., Fordyce Wilbert E.: "The Menagement of Pain". 1990, vol.I . Lea & Febiger, Philadelphia.
- 4) Bremerich A., Claeys Th., Kovacs B., Cesteleyn L.: "Somato-sensory evoked potentials in facial pain diagnosis". *ACTA Stomatologica Belgica*, 1991; 88: 117-121.
- 5) Buettener U.W., Petruch F., Scheglmann K., Stohr M.: "Diagnostic significance of cortical somatosensory evoked potentials following trigeminal nerve stimulation". *Clinical Applications of Evoked Potential in Neurology*, 1982; 339-345.
- 6) I.A.S.P. (International Association for Study of Pain); Chronic Classification of Cronic Pain: "Descriptions of pain syndromes and definitions of pain terms". *Pain*, 1986 suppl. 3°.
- 7) I.H.S. (International Headache Society): "Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgia and facial pain". *Cephalgia*, 1988 suppl 7°; 1-96.
- 8) Classificazione Internazionale delle Cefalee (ICHD-2)
- 9) Lebovits Allen H., PhD: "Chronic Pain: The multidisciplinary approach". *International Anesthesiology Clinics*, 1991; 29: 1-7.
- 10) Loeser F. D.: "Tic douloureux and atypical face pain". Dal "Textbook of Pain" by Wall Patrich and Melzack Ronald 2°edi. London,Churchill Livingstone 1984.
- 11) Loeser John D.: "Tic douloureux and atypical facial pain". *J. Canad. Dent. Assn.*, 1985; 12: 917-92.
- 12) Love S., Coakham H.B. Trigeminal neuralgia. Pathology and pathogenesis. *Brain* (2001), 124, 2347-60.
- 13) Bennetto L. et al Trigeminal neuralgia and its management. *BMJ* 2007, 334: 201-5.
- 14) Matwychuk M.J. Diagnostic challenges of neuropathic tooth pain. *J Can Dent Assoc* 2004, 70(8): 542-6.
- 15) Emril D.R. Treatment of trigeminal neuralgia: role of radiofrequency ablation. *J Pain Res* 2010, 3: 249-54.
- 16) Zakrzewska J., Linskey M. trigeminal neuralgia. *Clin Evidence* 2009, 03: 1207.
- 17) Krafft R.M. Trigeminal neuralgia *Am Acad Fam Physicians* 2008, 77(9): 1291-1296.
- 18) Kunkel R.S. Headaches in older patients: special problems and concerns. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 2006, 73 (10): 922-928.



CAPITOLO 7

OCT E GLAUCOMA

INTRODUZIONE

Lo scopo della scienza medica è la conoscenza, cura e completa guarigione delle patologie umane. A questo primario e nobile fine si è aggiunta la prevenzione, avvertita dall'opinione pubblica con crescente interesse. Evitare e prevenire futuri e più gravi danni irreversibili, specialmente in patologie croniche, sono obiettivi primari della moderna medicina. Il glaucoma, più di altre patologie, risente questa diffusa esigenza; tutta la ricerca e le indagini strumentali sono ispirate a individuare i danni iniziali, limitarli, intraprendere le cure più efficaci con i minori effetti collaterali. La moderna farmacopea, non solo oftalmologica, si rivolge con crescenti speranze verso la neuroprotezione, nuova frontiera terapeutica molto promettente, tutta da verificare e scoprire. Gli sviluppi delle ricerche in questo campo sembrano confermare le iniziali e favorevoli attese.

La strada intrapresa verso farmaci preventivi e neurorigenerativi nel glaucoma oltrepassa, in prospettiva, la semplice cura medica; ha come approdo finale, forse chimerico, la "restitutio in integrum" del sistema nervoso visivo. Studi sulla reversibilità del danno delle cellule ganglionari tuttavia incoraggiano queste tendenze. La Tomografia Ottica a radiazione Coerente, prima Time e ora Spectral Domain SD-OCT, si presta bene a questi fini, misurando in vivo lo spessore delle fibre ottiche retiniche. Lo spessore del RNFL, *Retinal Nerve Fiber Layer* ha, com'è noto, fisiologicamente un andamento a doppia gobba. Partendo e terminando circolarmente in senso orario per 360° da ore 9 del disco ottico, gli spessori delle fibre hanno un aumento nei settori Temporale e Superiore e una diminuzione nei settori Nasale e Inferiore.

Gli spessori rilevati sono disegnati in bande di colore verde, giallo e rosso, per valori normali borderline o patologici, rispetto al database normativo, presente in tutti gli SD-OCT. Lo spessore delle fibre ottiche in area peripapillare, indagato inizialmente da Gdx e HRT, permette di andare oltre la semplice diagnosi clinica di danno, di svelare i primi segnali della sofferenza delle fibre ottiche, di fornire indicazioni per la terapia più idonea,

evitando perdite altrimenti irreversibili, rilevabili tardivamente con la Perimetria Automatica Standard SAP. Questa fine possibilità diagnostica si sposa bene con la neuroprotezione; le strade del progresso strumentale e terapeutico sembrano procedere nella stessa direzione, verso lo stesso fine, una possibilità concreta di prevenire i danni da glaucoma.

OCT E GLAUCOMA IN PROGRESS

Lo Stratus TD-OCT Zeiss arrivato sul mercato alla fine del 2001, misurava le fibre ottiche a 3,4 mm e da 2,9 mm a 6,8 mm dal bordo papillare, in modo progressivo e decrescente verso la periferia, lungo le arcate vascolari. Visionare le fibre era possibile prima solo con fotografia Red Free digitale o con filtri selettivi e con GDx e HRT. Qui dimostrò che una diminuzione dell'uno per cento (1%) delle fibre nei primati era visibile con la fotografia in luce blu precorrendo la strada della prevenzione, oggi più efficacemente attuabile con la tomografia [1].

Numerosi studi affermano inconfutabilmente che la diminuzione dello spessore del RNFL precede di molti anni il danno visibile al campo visivo, silente nelle primissime fasi della malattia. Secondo vari autori il danno delle fibre ottiche alla SAP deve arrivare al 40%/70% per essere validamente registrabile [2,3]. L'indagine tomografica si estende, oltre che alle fibre, alla morfometria della papilla ottica con confronto normativo quasi completo. Tutti i Glaucoma-Report degli SD-OCT sono correlati, infatti, di un database di riferimento non solo per le fibre RNFL, ma anche per la papilla ONH. Gli HD-OCT Cirrus Zeiss in particolare offrono con il Report "RNFL and Optic Disc Cube 200x200" i seguenti dati:

- Average RNFL Thickness
- RNFL Symmetry
- Rim Area
- Disc Area
- Average C/D Ratio
- Vertical C/D Ratio
- Cup Volume

- *Neuro-retinal Rim Thickness*
- *RNFL Thickness*
- *RNFL Quadrants*
- *RNFL Clock Hours*

I dati del Disc Area sono privi di database normativo, evidenziato dallo sfondo in grigio del relativo riquadro, per l'ampia variabilità anatomica di questa regione. Gli altri indici sono correlati di database valido per superfici della papilla comprese tra 1,3 mm² e 2,5 mm². Oltre questi limiti anatomici gli indici escono dal database normativo, non sono riconosciuti dal software, che attribuisce colori verde/giallo/rosso per valori normali/sospetti/patologici; uno sfondo grigio di non riscontro e senza giudizio clinico-strumentale è dato per i valori al di fuori del database normativo.

Queste limitazioni dimostrano da un lato la serietà della statistica usata e dall'altro la difficoltà a validare dati anatomico-geometrici e/o di vo-

lume per la neuroretina. Nella versione del software 6.0 dei Cirrus è possibile eseguire scansioni sulle cellule ganglionari in macula con "Ganglion Cell OU Analysis", utilizzando Macular Cube 512x128, più dettagliato rispetto al Cube 200x200, utilizzato per la papilla ottica (fig. 1). Questo Report, ancora utilizzabile per tutti i Cirrus, costituisce la risposta della Zeiss al GCC Report del RTVue100 Optovue (fig. 2). Lo studio nel glaucoma sta portando le scansioni tomografiche sulle cellule ganglionari dall'originale e naturale area peripapillare alla macula, come vedremo e discuteremo in seguito. Le indagini strumentali sulle fibre ottiche sono state negli anni Novanta appannaggio di altre tecnologie; per i nascenti TD-OCT il terreno di ricerca era precipuamente retinico, con positivi e importanti contributi diagnostici. I software dei nuovi SDC hanno sviluppato sempre più l'imaging sulle fibre e sulla papilla ottica, rispondendo alle esigenze

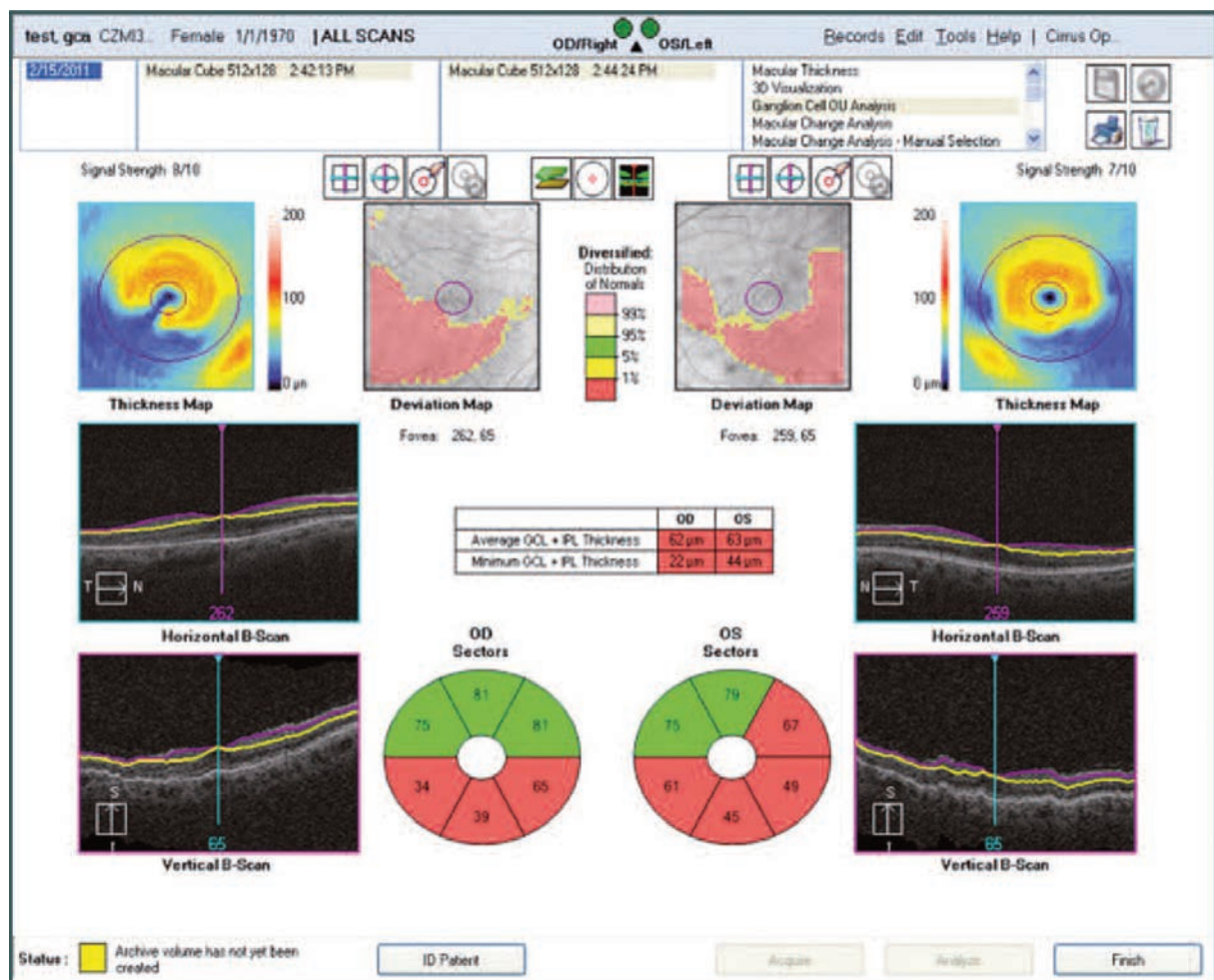


Fig. 1 - Report Macular Cube (512x128) Ganglion Cell OU Analysis in Cirrus Zeiss.

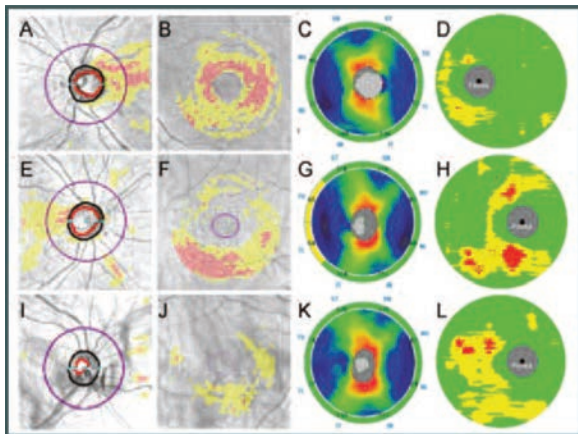


Fig. 2 - Report RTVue Optovue. Danno evidente al GCC in macula e poco evidente intorno alla papilla ottica.

di prevenzione del glaucoma, con Printout di stampa completi e iconograficamente accattivanti. È stato inoltre allargato il campo d'indagine al segmento anteriore, esclusivo settore dell'ecografia B-Scan e dell'UBM in particolare, completando il panorama tomografico del glaucoma a 360° (Figg. 3a,3b). Molti dei nuovi SD-OCT possono eseguire indagini per il glaucoma:

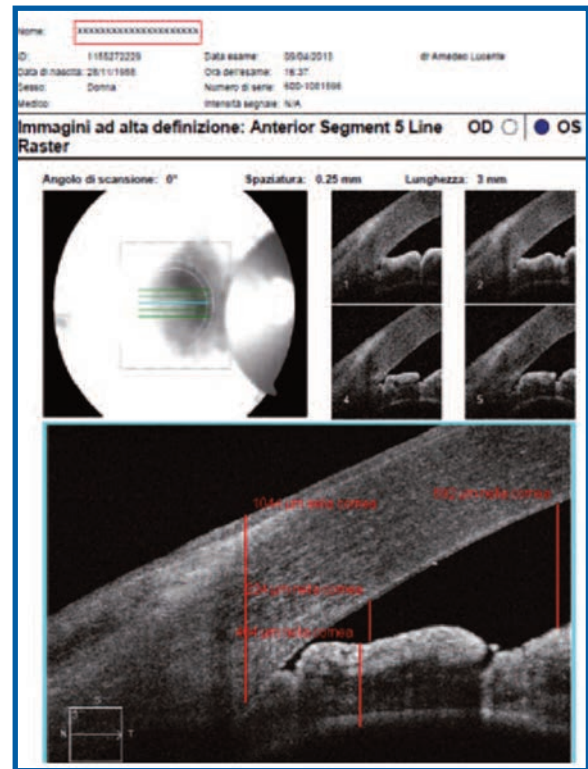


Fig. 3a - Segmento anteriore al Cirrus Photo.

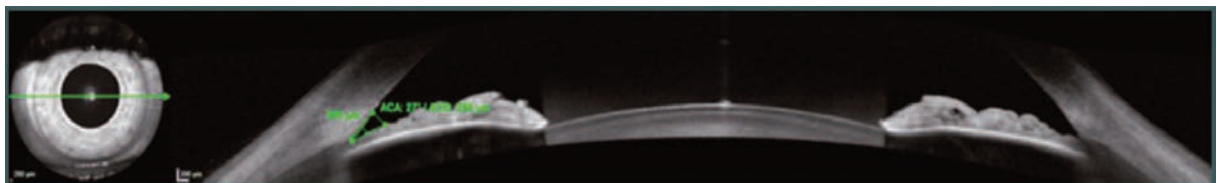


Fig. 3b - Segmento anteriore allo Spectralis

- Sullo spessore del RNFL, Retinal Nerve Fiber Layer;
- Sullo spessore del GCC, Ganglion Cell Complex;
- Sulla morfometria dell'ONH, Optical Nerve Head;
- Sulla morfometria del Segmento Anteriore, AS-OCT.

La tomografia AS-OCT, Anterior Segment Optical Coherence Tomography [4], possibile inizialmente solo l'OCT Visante Zeiss Time Domain, dedicato esclusivamente allo studio del segmento anteriore, è ora effettuabile con tecnologia SD-OCT, con migliore risoluzione, anche se con minori possibilità di visionare per intero il segmento anteriore da bianco a bianco. Il corpo ciliare e la camera posteriore poco visibili col Visante, restano difficilmente esplorabili anche con gli SD-OCT; in modo completo sono visibili per ora solo con l'eco-

grafia. Gli SD-OCT permettono, con molte variazioni e limiti tra i vari modelli, (confrontare i prezzi d'acquisto!) di eseguire tomografie ad alta definizione del segmento posteriore e anteriore, esame retinico con fotografia a Colori, Aneritra, Blue, Rosso, Autofluorescenza Blue/Infrarosso, Angiografia con fluoresceina e/o indocianina, con i vantaggi facilmente intuibili.

RNFL, GCC SD-OCT

Le immagini OCT sono ottenute per il riflesso della luce coerente di ritorno dalla retina, con una risoluzione dipendente dalla lunghezza d'onda utilizzata. Dal ritardo della radiazione riflessa dal tessuto in esame, rispetto a un percorso di riferimento, ne deriva una rappresentazione grafica dell'esame tissutale, base tecnologica del *Time Domain*. Superando questi limiti, la tecnologia

Spectral Domain, con interpretazione matematica della radiazione, cattura tutta la linea in analisi all'istante, e realizza una velocità finale 50 volte maggiore, con raddoppio della risoluzione tissutale in profondità, o risoluzione assiale [5].

L'aumentata velocità e la conseguente diminuzione dell'interferenza hanno permesso di migliorare ed evidenziare i più piccoli difetti strutturali dei tessuti indagati. Con una migliore risoluzione è possibile vedere tutti i singoli strati della retina. Numerosi studi hanno dimostrato che gli SD-OCT sono equivalenti, se non superiori, nella stima dello spessore del RNFL, al Time Domain [6,7], e questo ha fatto diventare gli SD-OCT ugualmente affidabili come altre tecnologie dedicate specificamente all'indagine glaucomatosa, la Polarimetria (GDx) e la Tomografia a Scansione Laser (HRT). Le cellule ganglionari retiniche costituiscono il punto di raccolta e passaggio del messaggio visivo dai coni e bastoncelli, con l'interposizione delle bipolari, ai neuroni dei corpi genicolati laterali e poi alla cortice cerebrale, dove lo stimolo luminoso prende forma compiuta. Le cellule ganglionari si estendono nella retina su tre livelli:

- Strato delle fibre ottiche, Retinal Nerve Fiber Layer, RNFL;*
- Strato dei corpi delle gangliari o multipolari, Ganglion Cell Layer, GCL;*
- Strato plessiforme interno, Inner Plexiform Layer, IPL.*

Queste strutture costituiscono in tomografia la cosiddetta retina interna, di cui fanno parte lo strato nucleare interno costituito dai nuclei delle bipolari, orizzontali, delle cellule del Muller e amacrine, lo strato plessiforme interno, sinapsi tra ganglionari e bipolari, la Membrana Limitante Interna, MLI, di pertinenza delle cellule del Muller. Alla retina esterna resta, nelle scansioni tomografiche verso la coroide, lo strato plessiforme esterno, sinapsi tra bipolari e coni/bastoncelli, lo strato nucleare esterno, formato dai corpi citoplasmatici dei coni e bastoncelli, la Membrana Limitante Esterna, MLE, di pertinenza come la MLI delle cellule del Muller, la Zona Mioide e Ellissoide di pertinenza dei coni, i segmenti esterni dei coni, più lunghi in fovea con aspetto ad accento circonflesso, e la zona inter-digitativa dei dischi terminali dei coni e bastoncelli, con il complesso EPR/Bruch (fig. 4). Non bisogna quindi identificare tomogra-



Fig. 4 - Immagine retinica da Physical Review Letters. Particolare delle cellule del...

ficamente la retina interna con il solo complesso GCC. Nel corso della vita si ha una fisiologica perdita di cellule ganglionari, cellule perenni, stimata intorno al 33% all'età di 75 anni, 5000/9000 circa per anno [8]. Fino alla perdita di un terzo del loro contingente il campo visivo non mostra alterazioni, come riferito.

Altro capitolo è evidenziata la grande varietà di cellule gangliari nei primati, già riscontrata e descritta da S.L. Polyak nel 1941 (fig. 5). Queste speciali cellule neuronali hanno la particolarità di

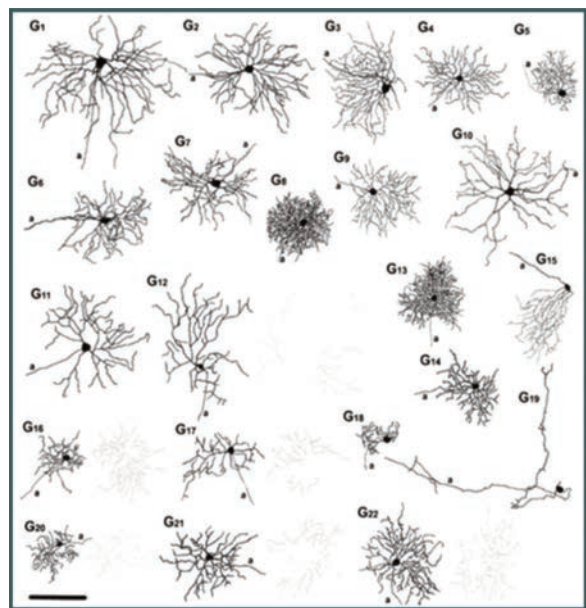


Fig. 5 - Varietà delle cellule ganglionari nei primati.

trasmettere a grande distanza il messaggio visivo tramite i loro assoni, che passano dal chiasma ottico e arrivano al corpo genicolato laterale. La vitalità degli assoni del nervo ottico, fondamentale per il trasporto dei messaggi visivi, è assicurata dal loro soma o pirenoforo, corpo cellulare delle cellule gangliari retiniche. Gli assoni, senza ribosomi, infatti, sono privi di attività di sintesi proteica e traggono nutrimento dal citoplasma del pirenoforo di cui sono diretta emanazione. Esistono nei mammiferi assoni di varia lunghezza, da un millimetro fino a un metro e oltre; si comprende bene la loro dipendenza biologica dal soma, che ne garantisce il necessario flusso assonico di nutrimento. Le fibre ottiche di provenienza foveale, 30/50% di tutte le fibre retiniche, molto sottili, sono di pertinenza di cellule gangliari P (piccole, parve, beta o midget cells), il 90% di tutte le ganglionari della retina.

A queste cellule è deputata la fine visione discriminativa; i loro messaggi arrivano alla corteccia visiva primaria (V1, area 17 di Brodmann). Il rinnovato interesse per lo strato nervoso retinico in macula ha avuto inizio per merito dell'Optovue Inc (Fremont CA, USA) che ha sviluppato, nel software per l'OCT SD-RTVue 100, la tecnologia per determinare lo spessore del GCC, Ganglion Cell Complex. Il GCC misura nell'area maculare lo spessore delle fibre assonali RNFL, dei nuclei delle gangliari GC dello strato plessiforme interno IP. In pratica tutto il contingente neurale di trasmissione dell'impulso visivo retinico. Molti studi, non solo aziendali, attestano che una variazione dello spessore del GCC in area maculare sia più sensibile ai danni iperbarici rispetto alla diminuzione dello spessore riscontrabile nel RNFL intorno alla papilla ottica [9,10].

Questo dato scientifico ha messo in moto un nuovo fervore di studi e di ricerca tecnologica da parte di altre case costruttrici di OCT, in primo luogo Zeiss. A volte accade che motivazioni puramente economiche portino a innovazioni utili in campo diagnostico e terapeutico; in questo caso nel rilevare prima i danni neuronali, se confermato ulteriormente. Da vile necessità, nobile virtù! La tomografia a coerenza ottica d'altronde non è solo appannaggio dell'oftalmologia. Applicazioni tomografiche fanno ormai parte della semeiotica strumentale cardiologica, neurologica, audiologica, angiologica, oncologica, ginecologica, urologica, otoiatria, gastroenterologica, con grande

qualità d'imaging e notevoli contributi di conoscenza in ogni campo.

Türkyilmaz ha osservato, utilizzando HD-OCT Cirrus, nei diversi profili di spessore del RNFL, una diminuzione dell'Average RNFL in bambini ($11,3 \pm 2,7$ anni) con anemia ferropriva confrontati per livello ematico dell'emoglobina rispetto a un gruppo sano di controllo; prova delle notevoli possibilità diagnostiche e applicative che hanno i nuovi SD-OCT anche in medicina generale, tutte da scoprire interamente [11].

L'interessante articolo termina evidenziando la necessità, ancor più indispensabile in età pediatrica, di non trascurare la storia anamnestica dei pazienti sottoposti a esame OCT, e di avere cautela nell'etichettare come glaucomatosi occhi con una semplice diminuzione dello spessore RNFL. In oftalmologia i campi applicativi si sono allargati dalla retina al segmento anteriore, dal film lacrimale al fine studio del meccanismo dell'accomodazione, mostrando l'estrema duttilità applicativa dello spettro luminoso, con scansioni tomografiche a diversi livelli anatomici.

DATI DALLA LETTERATURA SU GCC

Bendschneider D. e altri autori in uno studio su 170 soggetti sani tra 20 e 70 anni, hanno riscontrato, con Spectralis HRA + OCT (Heidelberg Engineering), uno spessore medio dell'RNFL di 97.2 ± 9.7 micron, un suo decremento di 1.90 micron ogni dieci anni, una significativa correlazione tra RNFL, lunghezza assiale ($r = -0.391$, $P = 0.001$) ed errore rifrattivo ($r = 0.396$, $P < 0.001$) del bulbo, nessuna correlazione con il diametro del disco ottico ($r = 0.124$) [12]. Per quanto riguarda lo spessore del complesso GCC, in un lavoro di comparazione su 52 pazienti con glaucoma cronico semplice, 51 con glaucoma normotensivo e 58 soggetti sani di controllo, Kim N.R. e altri autori, utilizzando l'OCT RTVue-100 (Optovue Inc, Fremont, CA, USA), per mezzo dell'analisi statistica della varianza, riferiscono che la media dello spessore RNFL tra i due gruppi di pazienti glaucomatosi è sovrapponibile ($P = 0.053$) e che lo spessore medio del GCC differiva significativamente tra i pazienti con glaucoma normotensivo e quelli ad angolo aperto ($P = 0.001$).

In particolare riferiscono una diminuzione largamente diffusa del pattern delle fibre ottiche, Global Loss Volume GLV, più accentuata nel glau-

coma cronico semplice rispetto al normotensivo, mentre il Focal Loss Volume FLV, perdita focale delle fibre, è indifferente tra i due gruppi di pazienti glaucomatosi. Gli autori affermano, infine, che tra RNFL e GCC non ci sono rilevanti differenze nella capacità discriminativa del glaucoma e che il valore dello spessore GCC può coadiuvare e integrare il dato RNFL [13].

J. Kotowski e sette studiosi, appartenenti a tre centri di ricerca autonomi di Pittsburgh (Pennsylvania, Usa), hanno rivolto la loro attenzione sulla validità delle scansioni tomografiche maculari nella diagnosi del glaucoma. Nel loro studio su 51 soggetti sani, 49 con sospetto glaucoma e 63 con glaucoma accertato, tenuto conto della MD del campo visivo, hanno utilizzato HD-OCT Cirrus (Carl Zeiss Meditec, Dublino, California, Usa). Emerge all'analisi con la curva di ROC una discriminante sostanzialmente equivalente dello spessore del GCC nell'area maculare rispetto allo spessore del RNFL circumpapillare [14]. Ganel su 40 pazienti, 20 con glaucoma e 20 con sospetto glaucoma, utilizzando Optovue OCT-RTVue100, conferma questi dati e afferma che "The ability to diagnose glaucoma with macular GCC thickness is comparable to that with peripapillary RNFL thickness". Continua dicendo che "Macular GCC Thickness measurements may be good alternative or a complementary measurement to RNFL thickness and visual field test in the clinical evaluation and management of glaucoma" [15].

L'area foveale, pur essendo un millimetro e mezzo di diametro, contiene oltre la metà delle cellule ganglionari, ed è responsabile, com'è noto, della visione distinta. Nel glaucoma si perdono cellule ganglionari in modo costante e difficilmente quantificabile numericamente; poterle conteggiare in area maculare offre vantaggi topografici "di superficie" e un più efficace, sensibile e agevole rilievo statistico. Stephan Holzer, con HD-OCT

Cirrus, su 112 soggetti sani, "age range" tra 2076 anni e 25 pazienti glaucomatosi, "age range" tra 4279 anni, per mezzo dell'elaborazione con software Matlab R200b (The Mathworks Inc. Cambridge, UK) studiato per migliorare maggiormente il posizionamento delle scansioni OCT in macula, riferisce che nei pazienti glaucomatosi si ha un decremento del RNFL e del RGIPL, Retinal Ganglion Inner Plexiform Layer, corrispondente al deficit paracentrale riscontrabile al campo visivo.

L'autore inoltre ci fornisce informazioni sui valori dell'Average Thickness degli strati retinici nei soggetti sani e glaucomatosi, introducendo il concetto di "neural plasticity" degli strati retinici nervosi, caratteristica biologica tutta da verificare, molto affascinante, non però nuova nella letteratura retinica, che gli SD-OCT ora in modo oggettivo potrebbero confermare [16]. Dal suo studio emergono i seguenti spessori retinici:

Soggetti sani

RNFL = 32,95 micron

RGIPL = 79,02 micron

Retina = 321,46 micron

Pazienti Glaucomatosi

RNFL = 24,85 micron

RGIPL = 57,46 micron

Retina = 281,30 micron

Differenziale sani/glaucomatosi

RNFL = 8,1 micron

RGIPL = 21,56 micron

Retina = 40,16 micron

Tsai CS et al. già nel 1991, a conferma che il concetto di plasticità neuronale non è nuovo, pubblicavano studi in cui era evidenziata la reversibilità dell'escavazione della papilla ottica dopo un'adeguata diminuzione della pressione oculare, con ritorno del Cup/Disc a valori antecedenti la fase ipertensiva [17]. Molti altri studi smentiscono l'idea dell'irreversibilità del danno glaucomatoso, almeno nelle fasi iniziali.

C K S Leung, J Woo, M K Tsang e K K Tse, in un case report, evidenziano la reversibilità e plasticità delle strutture neuronali bulbari, e scrivono: "Reversal is likely to be dependent on the degree of IOP reduction, the age of presentation, and may vary with the compliance of the lamina cribrosa and the composition of supporting tissue of retinal ganglion cells" [18]. La definizione del fenomeno "buffer-zone", intervallo temporale entro il quale le alterazioni neurologiche del bulbo oculare possono essere reversibili, è ancora da stabilire e studiare pienamente (figg. 6a,6b). La struttura della lamina cribrosa sicuramente è coinvolta in questo fenomeno; studi sono in corso per validare questa tesi. Il richiamo ideale allo spessore corneale come possibile indice di "debolezza" strutturale bulbare a sollecitazioni iperbariche anche modeste, come nel glaucoma normotensivo, è molto suggestivo.

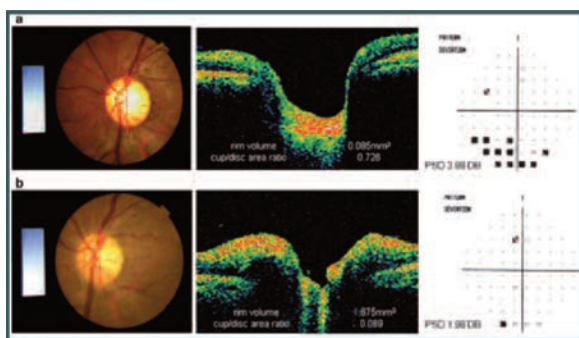


Fig. 6a - Fundus photographs, OCT optic nerve head scans (vertical cut) and Humphrey visual field pattern deviation plots of the left eye obtained the day before trabeculectomy (a) and 1 week postoperatively (b). The red lines on the fundus photographs indicate the location of the OCT scans in the middle panel.
Eye (Lond). 2006Jan; 20(1):132-4

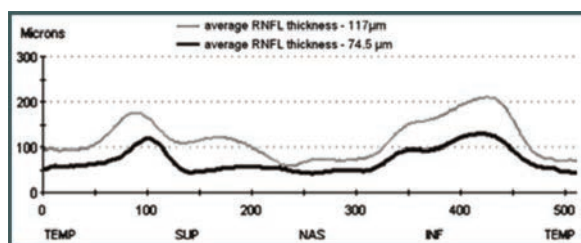


Fig. 6b - RNFL prima e dopo la chirurgia filtrante. RNFL è aumentato da 74.5 a 117 micron.

Altri studi futuri sulla correlazione tra spessore corneale e consistenza della lamina cribrosa sicuramente potranno meglio far comprendere gli aspetti non chiari dell'evoluzione del danno iperbarico. Sung KR e altri autori, in un recente lavoro del 2012, asseriscono che l'esigenza semeiotica a misurare lo spessore del GCC è dovuta al fatto che lo spessore RNFL non offre dati sempre utilizzabili e precisi; la scannerizzazione maculare, più ripetibile, offre migliori possibilità nella diagnosi del glaucoma per la minore variabilità anatomica e il limitato "tilting" del piano di scansione maculare rispetto all'area papillare. Gli stessi autori affermano che la combinazione della misura tomografica degli spessori RNFL e GCC migliora la strategia complessiva diagnostica nel paziente glaucomatoso, per la possibilità di segmentare al meglio la retina in HD-Resolution; terminano dicendo che il ruolo del GCC, nella progressione del danno, è tuttavia ancora pienamente da studiare e investigare [19]. Molte sono le ricerche che richiedono successive conferme; i dati della letteratura sono ancora contrastanti, lontani da obiettività diagnostico/cliniche universalmente accertate.

Stabilire la precocità e la sensibilità al danno iperbarico delle cellule ganglionari maculari GCC

piuttosto delle fibre assionali RNFL in area peripapillare, contribuirebbe a essere più tempestivi nella terapia, ad individuare prima i soggetti a rischio, a stabilire, con precisione, la pressione target individuale ed evitare ogni minima perdita di cellule ganglionari retiniche. Nuovi studi saranno necessari su grandi numeri per capire se esiste veramente una vulnerabilità selettiva degli assoni ganglionari in aree topografiche retiniche differenti, maculare piuttosto che papillare. Una risposta più compiuta si potrà avere con l'uso negli SD-OCT dell'Ottica Adattiva OA che, "attivati" per strati cellulari selezionati, potrebbe fornirci informazioni interessanti sulle cellule ganglionari in pre-apoptosi/apoptosi nei pazienti ipertesi, evidenziare, eventualmente, l'esistenza di zone retiniche maggiormente sensibili al danno pressorio oculare, GCC v/s RNFL o viceversa.

Tutto questo fervore dell'imaging è stato utile per un rapido adeguamento dei software degli SD-OCT (Cirrus della Zeiss con il Software 6.0 e per certi versi Spectralis con le mappe maculari) a considerare il GCC con dignità scientifica nei loro Glaucoma Reports, implementando il database normativo delle cellule ganglionari in area maculare [20-21].

IMAGING OCT & GLAUCOMA

I Report del Glaucoma dei nuovi modelli SD-OCT sono eccezionalmente completi e iconograficamente molto accattivanti. Alla completezza d'imaging che le diverse macchine in commercio offrono è possibile avere nello stesso Printout di Stampa i dati perimetrici insieme ai dati OCT.

Per ottenere la combinazione dei dati perimetrici con quelli tomografici la Zeiss utilizza la piattaforma informatica FORUM per interfacciarsi con il Campo Visivo Humphrey; tramite la piattaforma informatica HEYEX la famiglia degli Spectralis Heidelberg s'interfaccia con il nuovo Perimetro HEP, Heidelberg Edge Perimeter, mentre l'Optovue con RTVue si prepara a interfacciarsi con il campo visivo Octopus Haag-Streit. La Zeiss e l'Heidelberg, in modo efficace, pratico e affascinante, già fruibile, permettono il confronto immediato, in un unico Report di Stampa, dei dati strutturali e anatomici forniti dai loro tomografi con i dati funzionali e statistici dei loro rispettivi campi visivi.

L'affidabilità di cui gode il perimetro Humphrey pone il sistema Zeiss come riferimento nella diagnosi della malattia glaucomatosa, perché più dif-

fusamente utilizzato negli studi scientifici con Impact Factor IF elevato. In particolare il software di gestione FORUM della Zeiss, utilizzato per oftalmologia e neurochirurgia, nella versione Archive & Viewer 3.1, velocizza la gestione del flusso dei dati, con possibilità d'accesso anche con applicazioni i-Phone/i-Pad. Il software mette in comunicazione più strumenti Zeiss, Campo Visivo Humphrey e Matrix, la famiglia dei Cirrus, lo IOL Master, il Visucam 500, il fluorangiografo FF 450 e i Clarus 500/700, permettendo l'accesso ai dati paziente in ogni momento e da più postazioni remote (<https://www.zeiss.it>).

L'Heidelberg con HEYEX, Heidelberg Eye Explorer, pone in comunicazione gli OCT Spectralis, il perimetro HEP, Heidelberg Edge Perimeter, (con perimetria standard e Flicker), e l'HRT, Heidelberg Retina Tomograph. Le piattaforme informatiche, forse superflue in ambiente strettamente privato, sono indispensabili in strutture complesse con più operatori, dove i flussi dati, nell'ordine di Giga-byte/ora, devono essere velocemente fruibili e trasferibili (<https://www.heidelbergengineering.com>).

Le piattaforme informatiche FORUM e HEYEX lavorano insieme con i sistemi DICOM, Digital Imaging Communication in Medicine, standard internazionale per definire il formato delle immagini e relative informazioni (ISO 12052), sistema informatico il più sviluppato al mondo.

RNFL vs GCC E OCT-REPORTS

Le case costruttrici di OCT che più di altre si sono cimentate nell'indagine selettiva in area maculare delle cellule e fibre ganglionari sono state inizialmente l'Optovue e la Zeiss. L'Optovue, prima ad avere l'approvazione FDA negli USA per la tomografia in Fourier o Spectral Domain (SD-OCT RTVue100 ha puntato in modo deciso sull'indagine dello strato GCC (<https://www.optovue.com>). Inizialmente negli studi aziendali e in seguito con sempre più rischi di letteratura scientifica, precedentemente citati, l'Optovue propone un proprio "The Glaucoma Continuum", modificando la nota immagine di Weinreb R.N. e altri (Am J Ophthalmology 2004; 138:458-467) (<https://www.heidelbergengineering.com>) (fig. 7).

In un grafico ad angolo piatto dei danni glaucomatosi, subito dopo l'apoptosi accelerata delle cellule ganglionari, è posta la loro morte rilevabile nello spessore del GCC in macula. Continuando a

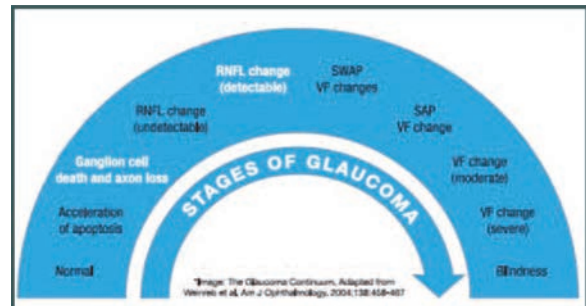


Fig. 7 - Stages of Glaucoma adattato da Weinreb.

risalire l'arco, da sinistra verso destra, si trova la diminuzione del RNFL peripapillare, nell'area temporale più tardivamente. La perdita delle ganglionari in macula, con la diminuzione dello spessore del GCC, è quindi assunta definitivamente e scientificamente come acquisita da Optovue.

Nell'indagine GCC si possono avere in macula deficit delle ganglionari in forma globale, Global Loss Volume GLV, o focale Focal Loss Volume FLV. Le cellule ganglionari, come riferito, in macula sono quasi tutte piccole o parve; caratteristica anatomica che concorre certamente a renderle maggiormente sensibili alle variazioni iperbariche. Gli SD-OCT dell'Optovue, RTVue e in modo meno completo il più semplice iVue, possono eseguire una panoramica tomografica molto vasta e completa sul glaucoma: l'ONH Change Report, il GCC Change Report, il Comprehensive OU Glaucoma Report, il 3D Optic Disc-Volume Rendering e l'indagine sull'angolo camerulare. L'analisi GCC in area maculare è eseguita dal RTVue 100 con il protocollo MM7, che prevede 934 A-Scan orizzontali e 800 verticali di 7 mm centrate 1mm temporalmente alla fovea, distanziate 0,5 mm (15 linee verticali in tutto); il volume retinico è calcolato tra la MLI e lo strato plessiforme interno (<https://www.optovue.com>) (fig. 8).

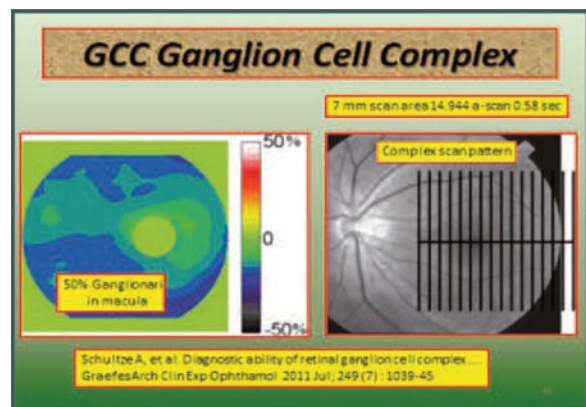


Fig. 8 - Scansioni in macula del RTVue Optovue.

I valori degli spessori GCC sono rappresentati con colore verde (normal range p-value 5% to 95%), in giallo (borderline results p-value < 5%) e rosso (outside normal limits p-value < 1%) rispetto al database di oltre 300 occhi sani. La famiglia degli SD-OCT Spectralis Heidelberg, OCT, OCT Plus, HRA+OCT, nel Glaucoma Report espone dati su papilla ottica, rima neurale e spessore RNFL, con relativo database. Rispetto ai Glaucoma Report degli altri SD-OCT sono meno ricchi di dati e semplificati. Con le mappe retiniche selettive, da poco immesse nei software, si offre una misurazione settoriale degli spessori maculari, elaborati con algoritmi proprietari. I primi modelli non misuravano lo spessore delle ganglionari, ma i dati sono interessanti nella valutazione retinica glaucomatosa. In compenso si può eseguire una scansione di 16 mm in cornea con visione di entrambi gli angoli camerulari, in modo molto suggestivo (<https://www.heidelbergengineering.com>) (fig. 3b).

Il Report Glaucoma della famiglia HD-OCT Zeiss, Cirrus 500/5000, Cirrus Photo 600/800, e ora Cirrus 6000 sono molto completi. Sono possibili i seguenti Report:

- RNFL and ONH con Optic Disc Cube 200x200;
- Ganglion Cell OU Analysis con Macular Cube 512x128;
- Report GPA per la progressione nel tempo dei danni nello stesso paziente.

Il Ganglion Cell Analysis Report è effettuato con Macular Cube (512x128 o 200x200 con scansioni ellittiche), centrato in fovea per la valutazione del Ganglion Cell Layer GCL, sommato all'Inner Plexiform Layer IPL. L'area di scansione è divisa in sei regioni confrontate con database normativo. Inoltre è possibile vedere e stampare in un unico Report i dati ottenuti per macula, nervo ottico e fibre di ciascun occhio in modo complessivo ed esauritivo (fig. 1). Tutti i device sono ora dotati dell'opzione angiografica con implementazione dei report, con indici di flusso e di densità vasale.

CONSIDERAZIONI FINALI

I Glaucoma Report COMBO sono possibili per ora solo con Zeiss (fig. 9) e Heidelberg (fig. 10). A breve Optovue proporrà un suo Report tra RTVue

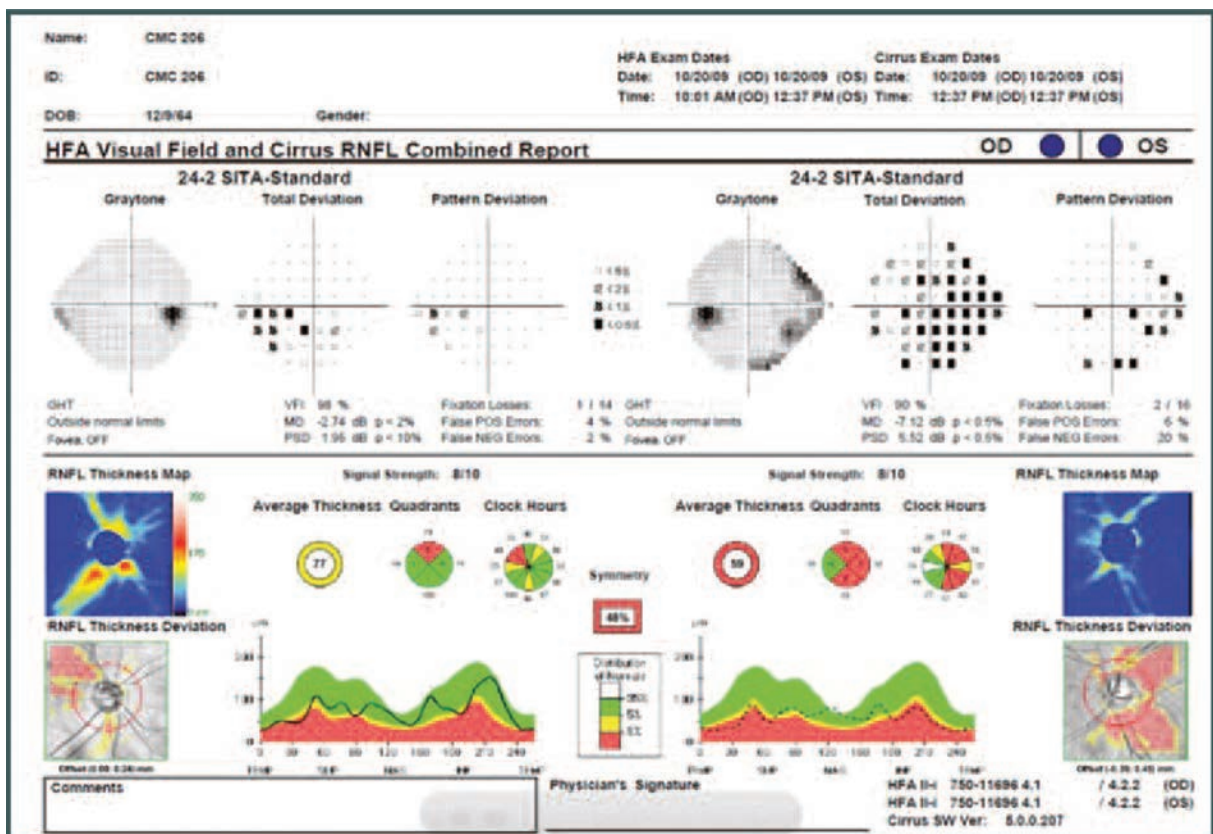


Fig. 9 - HFA Visual Field and Cirrus RNFL Combined Report.



Fig. 10 - RNFL & Visual Field Combined OU Report.

e il campo visivo Octopus Haag-Streit. La possibilità di mostrare in un unico Report i dati strutturali derivanti dalla tomografia con quelli funzionali del campo visivo mi sembra una novità rilevante nel mondo del glaucoma insieme al GCC. Questa affermazione potrebbe essere non condivisa; il dibattito è bello perché alimenta la democrazia e la conoscenza.

Non si tratta di dare punteggi di merito a questa o a quell'invenzione, perché di scoperte vere non si tratta. Piuttosto sono nuovi modi d'interpretare e di proporre i risultati strumentali, modi nuovi di operare, protocolli da stabilire e condividere. Il fatto di mettere insieme dati strutturali e funzionali non è una semplice novità o un manierismo iconografico. È un modo efficace e moderno di unire le due facce del glaucoma prima distanti e non dialoganti, un modo sintetico di avere sottocchio tutto il quadro semeiologico, poter comprendere prima e meglio le correlazioni e le eventuali antinomie esistenti, spesso presenti nel glaucoma e che possono passare inosservate.

Lo sviluppo di piattaforme informatiche, necessarie per il dialogo tra strumenti complessi, è un passo in avanti dell'imaging dell'oftalmologia, un completamento che mancava. Molte sono le

patologie generali in cui si è trovata una rilevante diminuzione delle fibre ottiche retiniche senza ancora una precisa e compiuta risposta scientifica: l'Alzheimer, il Parkinson, alcune malattie ematologiche.

Avere un confronto combinato tra il campo visivo e la tomografia in un unico Report può essere utile anche in questi casi. Per molti versi è opinione diffusa che l'indagine OCT, a scopi preventivi, dovrebbe essere estesa a tutto campo dopo i cinquant'anni. Questa decisione ha già dato positive risposte, per altri fini e con altre modalità, nella Retinopatia diabetica. Nel DRIVE Study, Diabetic Retinopathy Initial Validation Enrolment, svolto dal Rotterdam Eye Hospital con un cSLO, confocal Scanning Laser Ophthalmoscope non miotico, Zero-dilation (i-Optics), si è ottenuto, oltre a un rapido azzeramento dei tempi d'attesa, una migliore prevenzione retinica dai danni vascolari, senza differenze con i tradizionali fundus camera e dilatazione pupillare [20].

Un allargamento dello screening con la tomografia sarebbe certo troppo dispendioso per pazienti e spesa sanitaria nazionale, specie in tempi di ristrettezze economiche, personali e nazionali, almeno fino a quando sicuri studi prospettici ran-

domizzati indicheranno che, prevenzioni allargate allontanano l'esordio e l'evoluzione di maculopatie e glaucoma, con un saldo finale positivo per la difesa della vista e per i relativi costi sociali, direttamente e indirettamente legati all'ipovedenza.

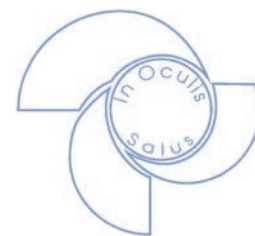
A conferma dell'importanza della prevenzione nel glaucoma, in recenti studi svolti negli USA sui costi di questa patologia, utilizzando stime di Medicare data, si è trovato un costo medio per durata della vita di 9200 \$ a persona, dovuto principalmente all'aumento di depressione, di fratture ossee e di altre patologie, non sempre direttamente correlate con la diminuzione della vista, conferma della centralità della funzione visiva nella psiche umana. Le novità informatiche che abbiamo visto irrompere sulla scena degli SD-OCT non sono ancora pienamente attuate; difficoltà sono evidenti, riscontrate da operatori e installatori a tutti i livelli. Tutto ciò a testimonianza della novità e dell'incertezza nel muoversi in campi nuovi e inesplorati che, se non velocemente percorsi con maturità e completezza dall'oftalmologia, la vedrà restare un passo indietro nello sviluppo dell'informatizzazione delle immagini.

Queste sfide tutte davanti a noi migliorano anche la prevenzione. È tempo di percorrerle senza timori e incertezze, per portare l'imaging dell'oftalmologia definitivamente verso orizzonti d'integrazione informatica, migliorando la cura e quindi la prevenzione di deficit visivi altrimenti irreversibili.

BIBLIOGRAFIA

- 1) H.A. Quigley, A Sommer. How to use nerve fiber layer examination in the management of glaucoma. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1987; 85: 254–272.
- 2) Caprioli J. Correlation of visual function with optic nerve and nerve fiber layer structure in glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1989; 33S:319–30.
- 3) Weinreb R. Comunicazione personale. ARVO Meeting 2004.
- 4) Steinert R., Huang D. *Anterior Segment Optical Coherence Tomography*, 1st edn. Thorofare, NJ: SLACK Inc., 2008.
- 5) Sung K.R., Kim J.S., Wollstein G., et al. Imaging of the retinal nerve fibre layer with spectral domain optical coherence tomography for glaucoma diagnosis. *Br J Ophthalmol.* 2011; 95(7):909–914.
- 6) Leung C.K., Cheung C.Y., Weinreb RN, et al. Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical coherence tomography: a variability and diagnostic performance study. *Ophthalmology.* 2009; 116 (7): 1257–1263.
- 7) Leung C.K., Ye C, Weinreb R.N., et al. Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical coherence tomography a study on diagnostic agreement with Heidelberg Retinal Tomograph. *Ophthalmology.* 2010; 117 (2):267–274.
- 8) Balazsi A.G., Rootman J., Drance S.M., Schultzer M., Yidegiligne H.M., Weis M.M. The normal human optic nerve. *Ophthalmology*, 1989; 96:1325–8.
- 9) A. Garas, P. Vargha, G. Holló. Reproducibility of retinal nerve fiber layer and macular thickness measurement with the RTVue-100 optical coherence tomograph. *Ophthalmology*, 2010 Elsevier
- 10) Schultze A, Lamparter J, Pfeiffer N. Diagnostic ability of retinal ganglion cell complex, retinal nerve fiber layer, and optic nerve head measurements by Fourier – Domain optical coherence tomography *Graefes Arch ClinExp Ophthalmol* 2011 Jul; 249(7): 1039–45
- 11) Türkyilmaz K., Oner V., Ozkasap S., Sekeryapan B., Dereci S., Durmus
- 12) M. Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in children with iron deficiency anemia. *Eur J Immunol.* 2013 Mar; 43(3):217–22. doi: 10.5301/ejo.5000206.
- 13) Bendschneider D., Tornow Ralf P., Horn F. K., Laemmer R., Roessler C.W., Juenemann A.G., Kruse F.E., Mardin C.Y.
- 14) Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Normals Measured by Spectral Domain OCT. *Journal of Glaucoma* Sept, 2010 vol. 19 Issue 7 Pag. 475–482.
- 15) Kim, Na Rae MD*,†; Hong, Samin MD, PhD*; Kim, Ji Hyun MD*; Rho, Seung Soo MD*; Seong, Gong Je MD, PhD*; Kim, Chan Yun MD, PhD. Comparison of Macular Ganglion Cell Complex Thickness by Fourier-Domain OCT in Normal Tension Glaucoma and Primary Open-Angle Glaucoma. *Journal of Glaucoma.* 22 (2): 133–139, February 2013.
- 16) Kotowski J., Folio L.S., Wollstein G., Ishikawa H., Ling Y., Bilonick R.A., Kagemann L., Schuman J.S. Glaucoma discrimination of segmented cirrus spectral domain optical coherence

- tomography (SD-OCT) macular scans. *Br J Ophthalmol*. 2012 Nov; 96 (11):1420-5. doi: 10.1136/bjophthalmol-2011-301021. Epub 2012 Aug 22.
- 17) Ganekal S. Ganglion cell complex scan. *Nepal J Ophthalmol*. 2012; 4(8):236-241.
 - 18) Holzer S. Retinal layer thickness is decreased in glaucomatous eyes. *Ophthalmology Times Europe*. Volume 9, Issue 2. 01 March 2013.
 - 19) Tsai C.S, Shin D.H, Wan J.Y, Zeiter J.H. Visual field global indices in patients with reversal of glaucomatous cupping after intraocular pressure reduction. *Ophthalmology*. 1991 Sep; 98(9):1412-9.
 - 20) C.K.S. Leung, J Woo, M.K. Tsang, K.K. Tse. Structural and functional recovery in juvenile open angle glaucoma after trabeculectomy. *Eye* (2006) 20, 132–134. doi: 10.1038/sj.eye.6701819; published online 11 March 2005.
 - 21) Sung K.R., Wollstein G., Kim N.R., Na J.H., Nevins J.E., Kim C.Y., Schuman J.S. Macular assessment using optical coherence tomography for glaucoma diagnosis. *Br J Ophthalmol*. 2012 Dec; 96(12):1452-5. doi: 10.1136/bjophthalmol-2012-301845. Epub 2012 Sep 27.
 - 22) Dirk De Brouwere, Peter van Etten, Jose Martinez. Zero-dilation scanning laser ophthalmoscopy for the early diagnosis of diabetic retinopathy: Results from the DRIVE study. Published by *Ophthalmology Times Europ*.



CAPITOLO 8

EDEMA MACULARE DIABETICO

INTRODUZIONE

Il Royal College of Ophthalmologists di Londra ha redatto nel 2012 la “Diabetic Retinopathy Guidelines”. Le novità scientifiche ispiratrici di questa edizione, leggibili nella prefazione, sono state gli OCT ad alta definizione HDOCT, la fluoroangiografia ad ampio campo e i laser multispot e/o micropulsati. La precedente edizione prevedeva, per lo screening, essenzialmente l’immagine oftalmoscopica digitale. L’esigenza di scrivere nuove linee guida muove dalla constatazione che le citate novità tecnologiche hanno cambiato, non poco, l’approccio diagnostico e terapeutico della Retinopatia Diabetica. Le linee guida sono state scritte e condivise dai quindici membri del “DR Guidelines Expert Working Party Members” e dal revisore esterno Lloyd Paul Aiello (direttore Joslin’s Beetham Eye Institute Boston, Massachusetts, USA). Questa versione sarà rivedibile nel dicembre 2015 [1]. Riporto parte del testo che si legge in prefazione: “*Similarly technological advances in retinal imaging especially the high definition OCT scans, wide field retinal angiography and new laser technology using multispot and micropulse abilities have widened clinical knowledge and treatment options*”.

EPIDEMIOLOGIA

La DR è una temibile complicanza della prolungata iperglicemia, degli squilibri elettrolitici, delle alterazioni microvascolari conseguenti. La perdita della visione è dovuta alle complicanze, frequentemente irreversibili, che la storia naturale della malattia ha evidenziato, prima che rimedi efficaci come la laserterapia, la chirurgia vitreale, gli anti-VEGF e gli inserti intravitreali a lento rilascio (Ozurdex, Iluvien) fossero disponibili e utilizzabili su larga scala e ne limitassero la comparsa: la retinopatia proliferante e l’edema maculare diabetico EMD. Nel mondo si stima in 250/285 milioni il numero totale dei diabetici, 366 milioni nel 2030 [2]. Oltre il 90% di tutti i pazienti diabetici è di tipo 2, non insulino-dipendente. L’incapacità di utilizzare insulina da parte delle cellule induce il pancreas ad aumentare la produzione; il risultato finale è il lento

esaurimento delle cellule beta β , le più numerose (60% / 80%) dei 5 tipi di cellule endocrine localizzate nelle isole del Langerhans nel parenchima pancreatico (1 milione circa grandi $\pm 100 \mu\text{m}$). Molti pazienti diabetici di tipo 2 diventano, nel tempo, insulinoresistenti/dipendenti. In Europa si ha una diffusione del diabete all’8,4% con stime in crescita al 9,2% nel 2025 (Regno Unito 4%, Francia 8,4%, Italia 8,7%, Spagna 7,5%, Germania 11,8%). Percentuali simili si riscontrano in Medio Oriente 7% e Nord-America 7,9%; minore diffusione è presente in Africa 2,4%, Pacifico Occidentale 3,1%, Sud Est Asiatico, America Centro-Meridionale 5,6%.

Un diabetico ha 20/25 volte più possibilità di diventare cieco rispetto a un non diabetico. La DR è, infatti, la causa più frequente di cecità tra i 30 e i 60 anni nelle società industrializzate. Anche se l’invecchiamento della popolazione ha fatto incrementare di molto il loro numero, la causa principale di questa “epidemia” è l’aumento dell’obesità. Il numero totale degli obesi, con indice di massa corporea superiore a 30 ($\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$), si è decuplicato (Boston Scientific) [3].

La definizione del Royal College della DR è la seguente: “*Diabetic retinopathy is a chronic progressive, potentially sight-threatening disease of the retinal microvasculature associated with the prolonged hyperglycemia and other conditions linked to diabetes mellitus such as hypertension*”. È evidente in tale definizione la cronicità, la pericolosità, la comorbidità, il rischio per la visione, sempre impellente in corso di questa malattia. Nell’UK Prospective Diabetes Study Group U.K.P.D.S.G. si evidenzia che, nei pazienti con pressione arteriosa sistemica inferiore a 150/85 mmHg, la progressione della DR si riduce del 34% rispetto a regimi pressori tra 150/85 e 180/105 mmHg. Da qui la necessità di richiedere sempre controlli vascolari completi con il riscontro di DR. Dopo 20 anni di malattia il 60% dei diabetici tipo 2 e, praticamente, il 100% di tipo 1, ha una qualche forma di retinopatia, più frequentemente donne che uomini [4]. Queste caratteristiche cliniche impongono controlli seriati e standardizzati, non sempre correttamente esposti ai pazienti e tanto meno da loro praticati.

CLASSIFICAZIONE

La classificazione della DR è dicotomizzata dalla presenza o meno di nevasi:

- a) Non-Proliferativa, NPDR (Background/Preproliferative):
 - National Security Council-United Kingdom, NSCUK
 - *Background (Level R1, Livello R1)*
 - *Preproliferative (Level R2, Livello R2)*
 - American Academy of Ophthalmology, AAO:
 - *Mild (Lieve)*
 - *Moderate (Moderata)*
 - *Severe (Severa)*
 - Scottish Diabetic Retinopathy Grading Scheme, SDRGS:
 - *Mild background (Level R1, Livello R1)*
 - *Moderate background (Level R2, Livello R2)*
 - *Severe background (Level R3, Livello R3)*
- b) Proliferativa, PDR:
 - *Location (Localizzata)*
 - *Severity (Severa)*

La maculopatia diabetica è classificata separatamente:

- *Focal oedema, edema focale*
- *Diffuse oedema, edema diffuso*
- *Ischaemic, forma ischemica*
- *Mixed, forma mista*

Le classificazioni attuali, come si evince, sono state scritte dall'AAO, American Academy of Ophthalmology e dal NSC-UK, National Security Council-United Kingdom con la variante scozzese, Scottish Diabetic Retinopathy Grading Scheme. Le alterazioni funzionali sono diverse per gravità ed evoluzione della malattia. L'EMD costituisce, per certi versi, un unicum nella storia della malattia retinica.

Può colpire la visione centrale in tutte le fasi della malattia e presentarsi, in modo imprevedibile, nella retinopatia non proliferante/proliferante, alterando significativamente la qualità della visione del diabetico, spesso in modo irreversibile, in presenza anche di modesti segni di vasculopatia, spesso in coincidenza di alterazioni sistemiche della malattia. I giovani con diabete di tipo 1 sono maggiormente coinvolti nella retina periferica, con più alta frequenza di retinopatia proliferante [5,6]. La presenza di un coinvolgimento retinico

globale non è, però, infrequente. L'EMD costituisce sempre una priorità terapeutica per i più gravi, precoci e irreversibili danni visivi che può comportare. Quest'articolo si limita ad alcuni aspetti clinici e d'imaging dell'EMD tralasciando i molti innovativi aspetti terapeutici che meritano uno spazio dedicato [7].

FISIOPATOLOGIA

Edema deriva dal greco (οίσημα) gonfiore, (edema in American English, oedema in British English), conosciuto anche come idropisia, idropisia o idrope, termini riservati a raccolte di liquidi in cavità sierose. È un aumento di liquidi negli spazi interstiziali capaci di accoglierlo, localizzato o generalizzato (anasarca). Dipende dall'equilibrio tra la pressione osmotica e idrostatica che influenzano, in modo contrario, la dinamica dei fluidi nei capillari. Le leggi di Starling (Ernest Henry Starling, Londra 1866/Giamaica 1927) e di Laplace (Pierre Simone Laplace, Beaumont-en-Auge Normandie 1749/Parigi 1827) regolano, entropicamente, questa fine dinamica emoreologica.

L'edema maculare diabetico è la manifestazione finale di un aumento abnorme di "entropia retinica", del disordine tissutale per la rottura di ogni equilibrio nella parete dei capillari, di una totale "deregulation emoreologica" generata dall'iperglicemia. Secondo la legge di Starling la pressione idrostatica favorisce il movimento dei fluidi verso l'esterno dei vasi; la pressione osmotico-colloide tende, invece, a trattenerli all'interno (forze opposte di Starling). Nei diabetici la pressione idrostatica è spesso aumentata per la frequente coesistenza d'ipertensione sistemica e/o per l'ipossia retinica focale. La legge di Laplace spiega perché in un vaso l'aumento della pressione interna dilata il suo diametro, deformandone la parete elastica.

Le alterazioni anatomiche che si determinano nelle pareti favoriscono la discontinuità delle giunzioni endoteliali e aumentano la permeabilità parietale capillare ai liquidi endovasali. Fisiologicamente la pressione idrostatica è bilanciata dall'osmotica. Le pareti dei capillari retinici sono di tipo non fenestrato, caratteristica istologica peculiare dei capillari retinici ed encefalici. Sono vasi a perfetta tenuta per la presenza di Tight e Adherens Junction, giunzioni serrate tra le singole cellule, ulteriormente rinforzate da astroцитi parietali nell'encefalo e da periciti nella retina per mezzo

delle loro propaggini citoplasmatiche in modo caratteristicamente geometrico (fig. 1).

L'insieme dei capillari intraretinici costituisce la cosiddetta Barriera Ematoretica Interna Blood-Retinal Barrier BRB, simile, per caratteristiche fisiologiche e strutturali alla più vasta Barriera Emato-Encefalica BEE. Entrambe sono permeabili solo a molecole sotto i 500 Dalton, come ossigeno, diossido di carbonio, etanolo, ormoni steroidei, zuccheri. Esiste nei tessuti umani un delicato equilibrio che favorisce il risparmio finale di elettroliti, preziosi per il fine mantenimento dell'equilibrio omeostatico dell'organismo. Ogni minima fuoriuscita di liquidi dal circolo ematico è drenata nei vasi linfatici e reimmessa in circolo. Nella retina non esistono vasi linfatici; l'aumento degli spazi intercellulari, per accumulo di liquidi, si manifesta principalmente con l'aumento dello spessore retinico in senso anteroposteriore piuttosto che latero-lateralmente.

La possibilità di riassorbire liquidi nella retina, causata dall'apertura della BRB "Open BRB" è più difficile che in altri distretti. La retina, per funzionare pienamente deve essere una "struttura asciutta". Si spiega così la presenza nella retina, in modo esclusivo, di capillari non fenestrati che non permettono passaggio di liquidi per salvaguardare l'esclusiva comunicazione sinaptica cellulare, marginale in tessuti meno specializzati. La rottura della BRB è identificata, com'è noto, dal leakage fluorescintico in retina e/o in vitreo.

La perdita dei periciti, l'ispessimento della membrana basale dei capillari e l'accumulo di materiale nella matrice extracellulare sembrano essere le prime alterazioni istologiche secondarie al danno iperglicemico. In particolare i periciti (Zimmermann 1923) sono implicati nell'angiogenesi, nella produzione di VEGF oltre ad essere "cellule chiavi" nella tenuta delle BRB/BEE, con meccanismi ancora non del tutto noti [8].

L'aumento della leucostasi e la diminuita deformabilità dei leucociti, frequente in corso d'iperglicemia prolungata, peggiorano l'emoreologia del microcircolo retinico, favoriscono l'occlusione dei capillari, determinano la finale ischemia tissutale. Quest'insieme di noxe innesca una cascata di eventi patogeni con effetto domino, sostenuta e alimentata da numerosi, importanti fattori bio-chimico-umoral:

- accumulo di polioili;
- rilascio di radicali liberi;
- produzione di citochine pro-infiammatorie;
- diminuzione di PEDF, anti-VEGF;

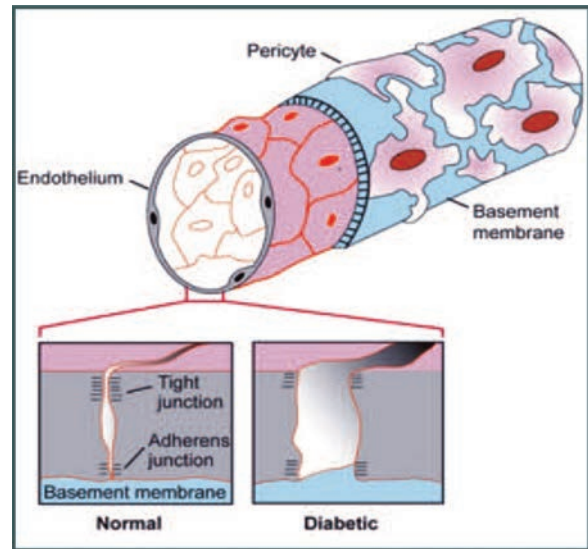


Fig. 1 - Capillari Retinici: Endotelio e periciti. Tight e Adherens Junction - www.caringfordiabetes.com

- aumento di VEGF;
- aumento d'istamina;
- aumento di ICAM-1;
- cambiamenti biochimici del vitreo/ialoide posteriore.

La cascata di eventi descritta, con rapidità variabile per intensità e durata, innesca il danno vasale del complesso giunzionale endoteliale (Tight e Adherens Junction). Alla rottura della BRB interna si può aggiungere, con la persistenza dei fattori elencati, la possibile rottura della Barriera Ematoretica Esterna costituita dall'EPR, anch'essa caratterizzata da giunzioni serrate tra le singole cellule pigmentate (fig. 2). Si ha così la possibilità di diffusione di liquidi dalla coriocapillare ben più temibile, perché i capillari sono fenestrati e permettono il passaggio di molecole fino a 800 Dalton.

I fattori che maggiormente sono coinvolti nel danno delle Tight Junction, tra quelli citati, sono i VEGF e le citochine. Il prevalere di alcuni elementi patogenetici nella catena degli eventi descritti accresce ora la componente trazionale vitreoretinica ora la tissutale dell'EMD, spesso indissolubilmente associate. Del resto gli spazi intercellulari del tessuto retinico sono sottoposti a un continuo accumulo di acqua per l'elevato metabolismo dei fotorecettori. Le cellule retiniche hanno, probabilmente, il più alto tasso ossidativo presente del nostro organismo.

La densità cellulare per mm² nella retina è tra le massime registrabili nei tessuti umani (circa 5 milioni di cellule pigmentate, 130 milioni di foto-

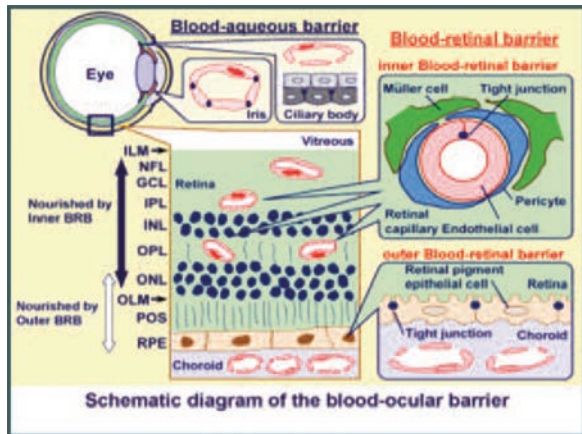


Fig. 2 - Schema delle barriere ematoretiniche - www.mersi.com

recettori, 1 milione di ganglionari, 1 milione di bipolari, cellule Orizzontali, Amacrine, del Müller, quest'ultime con densità crescente al grado di specializzazione funzionale retinica, nei mammiferi in fovea 25000/mm²).

Normalmente il rapporto glia/neurone nei mammiferi è di 9 a 1; nella retina ci dovrebbero essere quindi circa 9 milioni cellule di Müller (circa 1 milione sono le cellule ganglionari con i loro assoni, le fibre ottiche retiniche). Questa densità cellulare rende l'habitat retinico un tessuto ad altissima richiesta energetica, con dismissione finale di molte molecole di acqua. Il degrado ossidativo di una molecola di glucosio produce 42 molecole

di acqua; il glucosio è l'unica molecola capace di fornire energia alla retina.

Il lavoro metabolico di recupero dei liquidi catabolici interstiziali è svolto, attivamente e intensamente dalle cellule di Müller, che realizzano un evidente rapporto di partnership glia/neuroni. Il tappeto cellulare dell'EPR è attivo, con le stesse finalità, nello spazio sub-retinico, dove è altrettanto importante mantenere un'omeostasi perfetta. Il trasporto di acqua è guidato dal passaggio di ioni potassio nei canali delle membrane citoplasmatiche delle cellule del Müller e dell'EPR (acquaporine, proteine di canale scoperte da Peter Agre) [9].

Normalmente ioni potassio sono immessi nel circolo sanguigno per trasporto dagli spazi interstiziali. Se questo lavoro s'interrompe, la pressione oncotica/osmotica intercellulare aumenta, si accumula acqua e si forma edema. La downregulation dei canali potassio ha un ruolo importante nell'EMD. Le cellule sono le prime a soffrire di questo squilibrio elettrolitico, con ipotonia e rigonfiamento del citoplasma, che interessa prima i neuroni, più tardivamente le stesse cellule di Müller. Ciò contribuisce all'aumento iniziale dello spessore retinico registrabile nelle tomografie HD (figg. 3a,3b).

Molte altre sono le funzioni recentemente scoperte delle cellule di Müller, paragonate a delle vere e proprie "fibre ottiche viventi". Numerosi studi

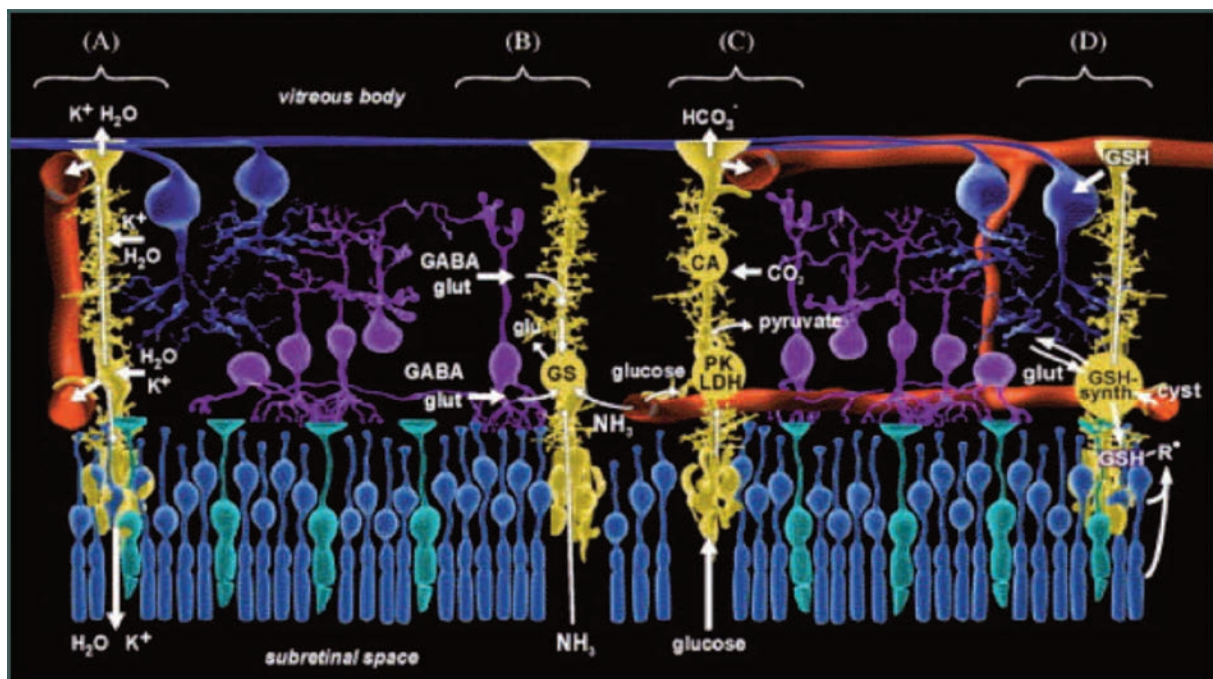


Fig. 3a - Cicli biologici intraretinici delle cellule del Müller - www.sciencedirect.com

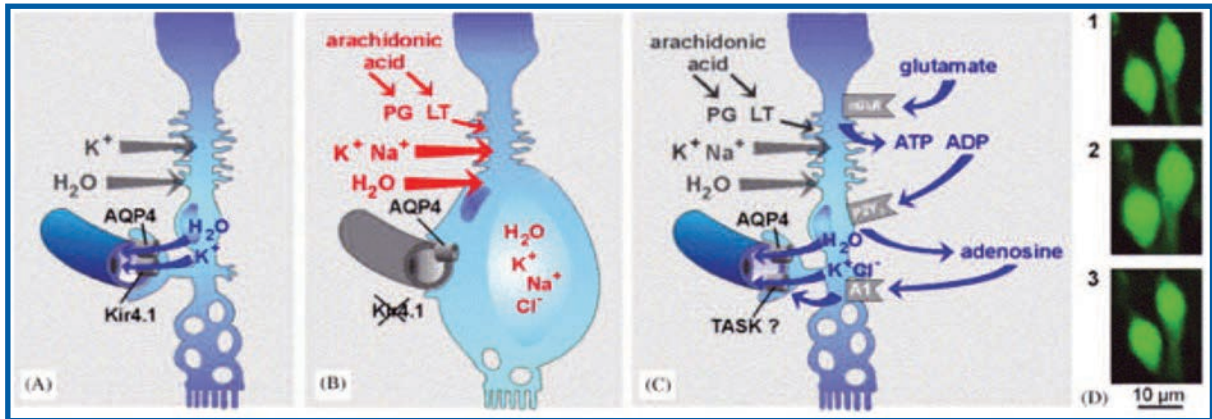


Fig. 3b - Funzioni citoplasmatiche delle cellule del Muller. Modificata da Pannicke et al. (2004) e Uckermann et al.(2006).

confermano un loro intervento sulla conduzione della luce attraverso gli strati interni dell'architettura della retina, migliorando la qualità finale del segnale/rumore e minimizzando il light scattering intraretinico. Dati di ricerca, ancora da definire e confermare pienamente, vedono le Muller coinvolte nella distribuzione spaziale e configurazione della luce in propagazione per la formazione tridimensionale dell'immagine. In condizioni patologiche infine, un loro sotto-insieme potrebbe trasformarsi in cellule con funzioni simil-staminali rigenerando fotorecettori e neuroni retinici in apoptosi [10].

CLINICA

L'edema maculare, oltre che nella DR, si può riscontrare in corso di molteplici evenienze patologiche, com'è a tutti noto. L'ETDRS, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study identifica l'EMD Clinicamente Significativo EMCS se sussistono almeno una delle seguenti caratteristiche (figg. 4a,4b,4c) [11]:

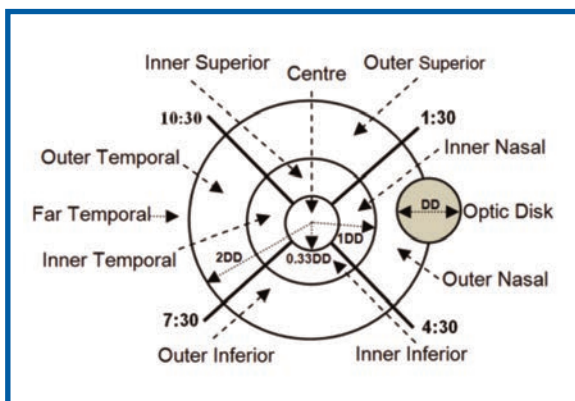


Fig. 4a - Topografia del polo posteriore rispetto al disco ottico.

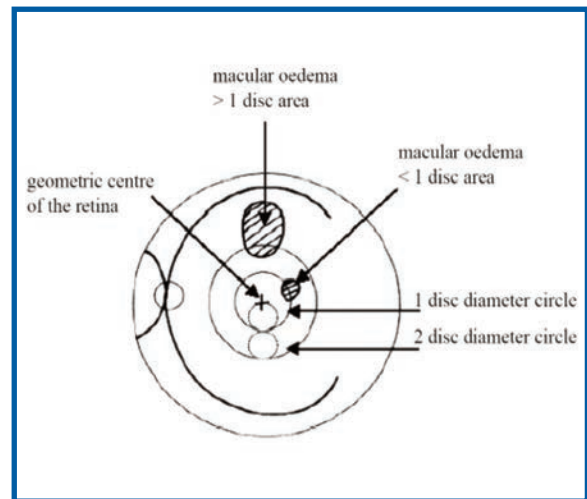


Fig. 4b - ECMS: limiti topografici al polo posterior.

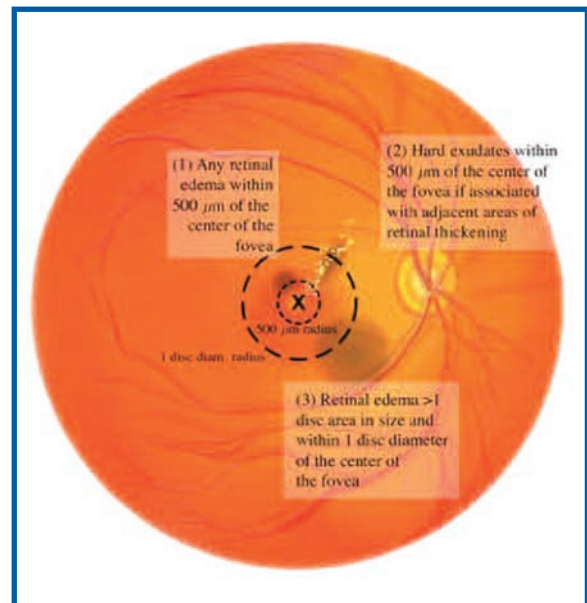


Fig. 4c - Clinically significant macular edema EMCS - Copyright ©2008 Lippincott Williams & Wilkins

- a) *Ispessimento diretto della fovea o entro 500 micron dalla foveola;*
- b) *Essudati duri in fovea o entro 500 micron dalla foveola, con ispessimento dell'area centrale;*
- c) *Ispessimento di una o più aree retiniche a un diametro papillare dalla foveola, di ampiezza uguale o maggiore a un diametro papillare (1500 micron).*

L'ETDRS svolto sotto l'egida del NEI National Eye Institute Bethesda USA (National Institute of Health), è stato uno studio randomizzato, iniziato nel dicembre 1979, completato nel giugno 1985, comprendente 3711 pazienti, uomini e donne, tra 18 e 70 anni, seguiti fino al 1989 in 22 diversi centri per un minimo di 4 anni, affetti da DR non proliferante/proliferante non precedentemente trattata, con o senza edema maculare. Lo scopo era di valutare la terapia argon laser e l'influenza dell'aspirina nel decorso della malattia.

Quest'ultimo aspetto è stato indagato per la minore prevalenza di DR nei pazienti con artrite reumatoide in terapia con forti dosi di acido acetilsalicilico o ASA. L'uso di aspirina non ha influenzato la progressione della DR, non ha aumentato il rischio di emovitreo, non ha inciso sulla visione finale; non è quindi controindicata nei pazienti con DR. Il suo uso si associa spesso a un ridotto rischio cardiovascolare, comorbidità frequente in corso di DR.

Il termine "Edema Maculare Clinicamente Significativo" EMCS è stato coniato per la prima volta nel corso di questo studio per indicare e sottolineare il coinvolgimento maculare entro i 500 micron dalla fovea, con diminuzione dell'acuità visiva. L'enorme mole di pubblicazioni derivate dall'ETDRS ha, tra l'altro, fatto emergere che:

- *il trattamento argon laser precoce nelle forme di DR con leakage alla fluoroangiografia determina una riduzione relativa del rischio visivo, statisticamente significativo, in particolar modo nei pazienti non insulino-dipendenti;*
- *nella retinopatia non proliferante lieve e moderata si è dimostrato sufficiente il solo controllo clinico assiduo;*
- *il trattamento laser argon è necessario appena si ha un viraggio verso la forma proliferante;*
- *la fotocoagulazione focale nell'EMCS sicuramente riduce il rischio di perdita visiva con possibili ma poco prevedibili miglioramenti;*

- *la migliorata prognosi con la laserterapia nella forma proliferante a 5 anni ha ridotto a 5% il rischio di cecità legale e a 1% il rischio di cecità assoluta.*

Prima della fotocoagulazione il rischio di cecità legale era del 50%. Il Diabetic Retinopathy Clinical Research Network DRCRnet, nato nel 2002 per la comunicazione tra i centri di ricerca, ha stabilito come significativo e pericoloso un incremento di spessore retinico ad 1 mm (1000 micron) dalla macula, aumentando il diametro centrale retinico d'interesse per fini visivi (DRCR.net Overview). Nell'edema maculare spesso lo spessore retinico e acuità visiva non concordano; si possono verificare diminuzioni visive e regressioni dell'edema dopo terapie iniettive o miglioramenti inaspettati e spessori maculari aumentati.

Gli ultimi modelli HD-OCT sono capaci di finemente segmentare, identificare, misurare le lesioni presenti, individuare le alterazioni istologiche e il relativo gruppo di cellule retiniche coinvolte. Con una lettura citologica dei tomogrammi le incongruenze prima descritte, che si basano solo sullo spessore, assumono interpretazioni più ragionate, la funzione si avvicina di più alla struttura, l'imaging ad alta definizione si collega meglio alle capacità visive. Su questa scia di lettura si è verificata una correlazione positiva e indicativa tra riduzione dello spessore della retina interna e acuità visiva, mentre un aumento degli spessori degli strati esterni nell'EMD, dopo vitrectomia, è frequentemente associato a prognosi visive peggiori [12].

IMAGING

Certamente l'avvento degli HD-OCT ha permesso di capire e meglio stadare l'EMD quantitativamente; non esiste attualmente studio e ricerca sulla retina senza imaging tomografico. I nuovi software permettono sempre più un'analisi anche qualitativa dell'EMD. Le alterazioni microstrutturali della retina esterna, visibili con le scansioni HD-OCT, dimostrano una relazione molto stretta con l'acuità visiva. Lo spessore retinico centrale in valore assoluto, come dimostrato dal DRCR Network è, invece, modestamente in relazione con il visus.

Le alterazioni delle bande tomograficamente iperriflettenti, corrispondenti alle giunzioni IS/OS dei fotorecettori (strato mioide ed ellissoide) sono

state valutate attentamente dopo vitrectomia via pars plana nell'EMD [13]. I pazienti con migliore rappresentazione degli strati iperriflettenti foveali dopo la vitrectomia erano quelli con migliori performance visive rispetto a pazienti con interruzioni degli strati mioide e/o ellissoide valutati per una distanza di 500 micron dalla fovea centrale.

Altra struttura istologica visibile agli HD-OCT con stretta corrispondenza tra rappresentazione tomografica, istologia e acuità visiva è la Membrana Limitante Esterna MLE. L'integrità di questa struttura è molto significativa per la prognosi visiva in molte patologie retiniche, compreso l'EMD. Oishi A. et al. riferiscono, riferendosi alla degenerazione maculare senile, che l'integrità della MLE è addirittura più utile rispetto alla rappresentazione tomografica IS/OS nella correlazione funzione e struttura [14,15]. Questi studi spostano il timing della tomografia HD definitivamente dal rilievo istologico al citologico, che sarà ulteriormente possibile con l'avvento, non molto lontano, delle nuove ottiche adattive o adattative nel percorso ottico dei futuri HD-OCT. Lo spessore retinico per ora resta il parametro di confronto più importante per stabilire l'efficacia delle nuove terapie. Il confronto tra gli spessori retinici rilevati dallo Stratus e i nuovi Spectral Domain è ancora argomento di discussione. Sono stati trovati spessori retinici maggiori con HD-OCT di 30/50 micron.

Questa differenza è dovuta alla riflettività istologico-tomografica usata dai software degli strumenti come limite: nel Cirrus HD-OCT il limite esterno è l'EPR, nello Stratus è la giunzione IS/OS dei fotorecettori; il limite interno per Time e Spectral Domain resta la Membrana Limitante Interna MLI [16]. Wolf-Schnurrbusch et al. hanno paragonato gli spessori retinici nell'area centrale di sei Spectral OCT (diametro centrale di 1000 micron in occhi sani).

La tabella 1 mostra i risultati trovati. Lo scarso agreement è dovuto alla differente capacità di risoluzione tra gli strumenti, al diverso software di segmentazione e/o all'allineamento adottato degli algoritmi; il maggior divario è tra Stratus e HD-OCT [17,18] (tab. 1).

È stato riscontrato che l'EMD può assumere diversi patterns d'imaging alla tomografia ad alta definizione. Kim et al. hanno proposto cinque patterns principali al prevalere del breakdown della BRB interna, esterna o di entrambe. I patterns principali all'HD-OCT secondo Kim sono [19, 20] (fig. 5):

TABELLA 1 - Spessori retinici Central Retinal Thickness CRT SD-OCT e Stratus. Mean CTR values ($\pm$ standard deviation) obtained in central 1.000 μ m diameter area

Instrument	CRT [μ m] (average $\pm$ SD)
Stratus OCT	212 $\pm$ 19
Spectralis HRA + OCT	289 $\pm$ 16
Cirrus HD-OCT	277 $\pm$ 19
Spectral OCT/SLO	243 $\pm$ 25
SOCT Copernicus	246 $\pm$ 23
RTVue-100	245 $\pm$ 28

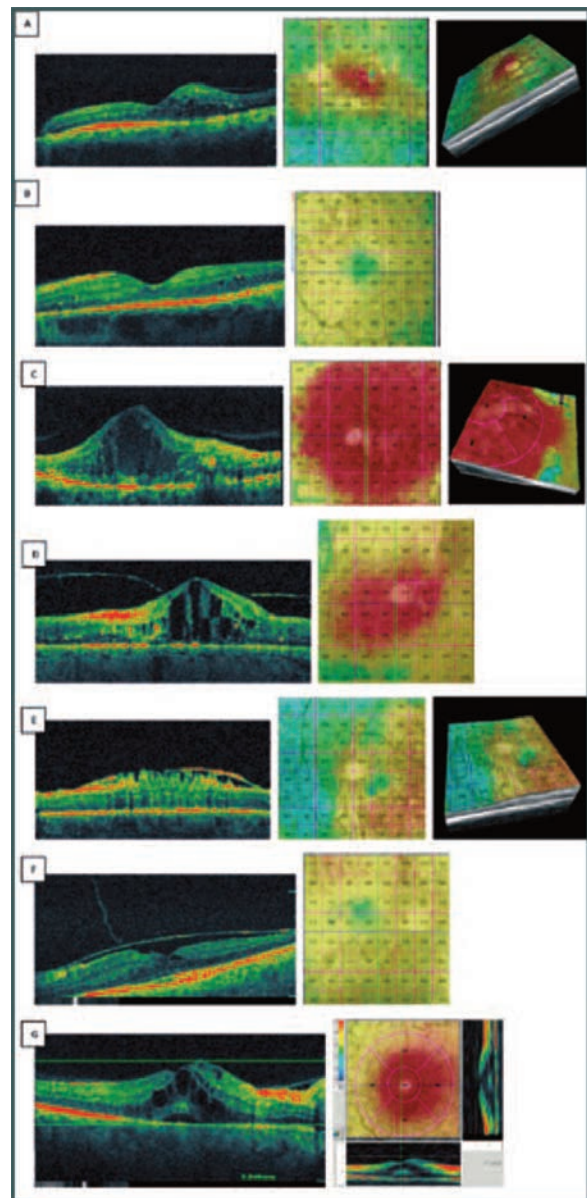


Fig. 5 - Imaging HD OCT dell'EMD secondo Kim, modificate da Maalej et al.

- A) Edema degli strati retinici interni (Breakdown of inner/outer BRB).
- B) Edema cistoide localizzato/diffuso (Breakdown of inner/outer BRB).
- C) Accumulo di fluido sottoretinico (Breakdown of outer BRB).
- D) Edema trazionale (Breakdown of inner BRB).
- E) Combinazione dei patterns A, B, C, D.

I diversi patterns evidenziati non sono mera classificazione d'imaging, una standardizzazione delle possibili tipologie tomografiche dell'EMD. Denotano ed evidenziano aspetti diversi fisiopatologici del breakdown della BRB stabilendo, per molti versi, differenti vie fisiopatologiche evolutive, che iniziano ad essere identificabili con la tomografia HD. Numerosi studi hanno dimostrato che gli HD-OCT permettono di scoprire condizioni di edema maculare in retine altrimenti giudicate normali alla biomicroscopia.

Il CSME, più urgente da identificare e diagnosticare, è difficilmente quantificabile solo con la biomicroscopia; solo il 14% dei pazienti con EMD subclinico, con spessore tra 200 e 300 micron è, infatti, accertabile con l'esame biomicroscopico [21].

Il leakage fluorescintico, com'è noto, è alla base e identifica la rottura della BRB cui segue ispessimento retinico per dispersione di liquidi. Un recente lavoro di Bernardes et al. ha dimostrato che è possibile scoprire e seguire le iniziali alterazioni della BRB nell'EMD con HDOCT, minimizzando l'uso invasivo della fluoroangiografia [22].

L'altro importante tassello tecnologico che ha spinto il Royal College of Ophthalmologists di Londra a redigere nuove linee guida nella DR è stato l'Ultra-Wide Field. L'Ultra-Wide Field è una recente tecnica d'imaging, presente dal 2011 in forma usufruibile su larga scala, studiata da almeno un decennio, che permette una visione ad ampio campo della retina. L'introduzione del nuovo dispositivo Optos Optomap 200Tx (Optos Inc., Marlborough, Mass; ora Daytona System – Prod. Optos USA) offre immagini della retina a tutto campo a colori, RedFree, fluoroangiografia, indocianina e autofluorescenza.

È possibile avere una visione del polo posteriore e della periferia, senza contatto, simultaneamente, per un'estensione di più dell'80% del polo posteriore (83%), 200 gradi della cupola posteriore retinica, oltre l'equatore, in una singola acquisizione.

Szilárd Kiss su Ocular Surgery News riferisce di aver utilizzato "ultra-widefield imaging system" in oltre 1000 pazienti per quattro anni (giugno 2012). Kiss dichiara testualmente tra l'altro: "However, it is turning out that there is more to life than just what we see in the posterior retina, especially for diseases like diabetes", la necessità cioè di allargare lo sguardo alla retina periferica specie nella DR.

Questo studio, pubblicato su Retina, ha rilevato che con l'ultra-widefield fluorangiografia può essere valutata una superficie retinica 3,2 volte più estesa rispetto all'imaging tradizionale con i sette campi standard 7SF (7 Standard Field) (figg. 6a,6b,6c).

Il coinvolgimento retinico nella DR, utilizzando questa nuova imaging, si è rilevato essere 3,9

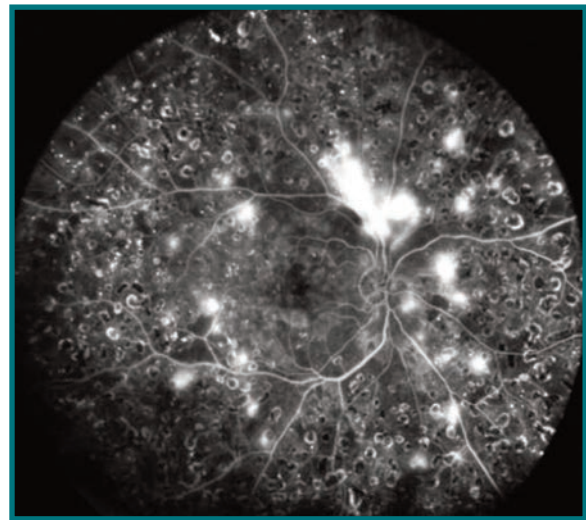


Fig. 6a - Fluorangiografia di retinopatia diabetica proliferante ultra-widefield già parzialmente trattata - R. Laurenghi.

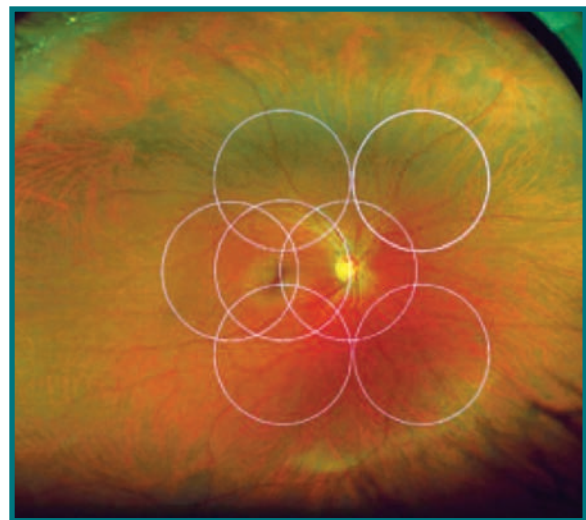


Fig. 6b - The seven standard ETDRS fields superimposed on a ultra-widefield fundus photo, showing the 75° view vs. the 200° view - Ravi D. Patel.



Fig. 6c - Angolo visivo dell'ultra-widefield.

volte superiori per le zone non perfuse, 1,9 volte per aree di neovascolarizzazione e 3,8 volte per zone di fotocoagulazione panretinica [23, 24].

L'intuizione e la necessità di allargare il campo dell'esplorazione retinica sono state merito di ricerche italiane [25, 26]. Da oltre un decennio Giovanni Staurenghi ha svolto e pubblicato numerosi studi con l'ausilio dell'oftalmoscopia SLO ad ampio campo. La lente a contatto da lui progettata, 230 SLO (Staurenghi 230 SLO lens, Ocular Instruments, Inc. Bellevue WA, USA), è stata un primo efficace ed economico passo in avanti verso l'ultra-widefield imaging. L'esplorazione a grande campo è diventata una necessità indifferibile nella diagnosi e terapia di molte malattie retiniche, altrimenti non valutate pienamente nella periferia retinica.

Di recente l'Heidelberg ha sviluppato una tecnologia no-contact, con lenti ultra-widefield, mo-

dulari, da abbinare nel percorso ottico allo Spectralis e all'HRA2 (Heidelberg Engineering Inc., Carlbad, Calif.).

Questo modulo non permette, per ora, un'efficace tomografia a grande campo ma apre, definitivamente, lo scenario a un'indagine clinica senza limiti, su tutta la coroide e la retina in campo fotografico, fluoroangiografico e/o con indocianina, limitato a 150 gradi [25, 26].

La rilevanza diagnostica e terapeutica dell'ultra-field imaging, insieme alla tomografia HD e ai laser multispot e/o micropulsati, è stata tale da motivare il Royal College of Ophthalmologists di Londra a redigere nel 2012, come riferito, nuove "Diabetic Retinopathy Guidelines". Sempre Kiss afferma che meno del 20% degli oculisti utilizza correntemente questa tecnica, e che oltre il 10% dei pazienti classificati sani all'imaging tradizionale presentano all'ultrafield imaging segni più o meno importanti di DR.

CONSIDERAZIONI FINALI

Le novità tecnologiche High-Tech stanno cambiando ogni consolidata abitudine clinica e terapeutica.

Offrono, con sempre maggiore copiosità, qualità istologica e dati fisiopatologici da correlare alla clinica, cosa sempre necessaria per non



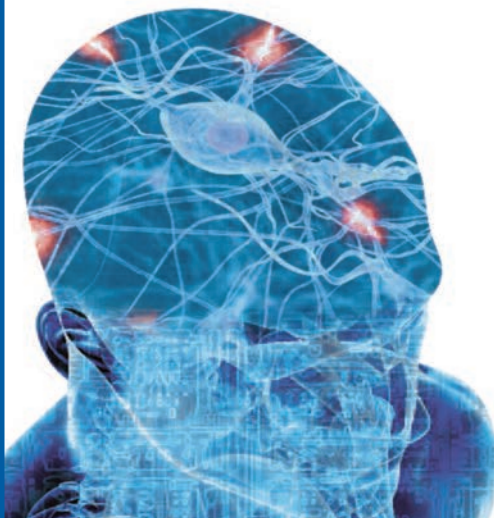
IRCCS - Fondazione "G.B. Bietti"
per lo Studio e la Ricerca in Oftalmologia ONLUS



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA
TOR VERGATA

GLAUCOMA A BRAIN DISEASE: 2014

From Experimental Models to Clinical Recommendation



ROMA - VILLA MIANI

11/12 Aprile 2014

PRESIDENTE:

M.G. Bucci

COORDINATORE SCIENTIFICO:

G.L. Manni

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA
E PROVIDER ECM

Jaka

info@jaka.it - www.jaka.it



omikron

smarrirci nell'abbondanza dei singoli risultati strumentali.

Gli algoritmi sono la chiave di lettura per rendere fruibili i dati rilevati, un aiuto indispensabile per la statistica e l'iconografia. Wikipedia definisce l'algoritmo "intuitivamente come una sequenza ordinata e finita di passi (operazioni o istruzioni) elementari che conduce a un ben determinato risultato in un tempo finito". Quest'accelerazione e continua evoluzione High-Tech non devono "ubriacarci".

Le recenti linee-guida dell'American College of Physicians (ACP), pubblicate sugli Annals of Internal Medicine (aprile 2012), così riassumono le evidenze cliniche emerse nel diabete:

- A) *La terapia antidiabetica orale andrebbe aggiunta alle raccomandazioni sullo stile di vita (dieta, attività fisica, calo ponderale) solo dopo aver constatato l'insuccesso di queste nel migliorare sufficientemente il compenso glicemico;*
- B) *Per la maggior parte dei pazienti, l'opzione di prima scelta è data dalla monoterapia con metformina;*
- C) *L'aggiunta a questa di un secondo farmaco va riservata ai soggetti con iperglicemia persistente.*

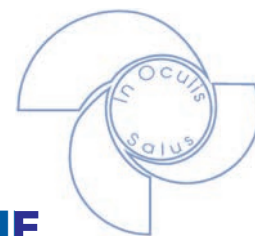
Affermano altresì che la comorbidità, l'aspettativa di vita e le preferenze del paziente devono contribuire alla scelta della terapia, così come dell'obiettivo glicemico da perseguire, con un'HbA1c target <7% per la maggior parte dei casi.

Queste precisazioni devono far ricordare che ogni nostro sforzo per la difesa della vista nella DR e, nell'EMD in particolare, si vanifica senza lo stretto contatto con il diabetologo, e che ogni segno semeiologico strumentale bisogna sempre incastonarlo nello stato generale del singolo paziente. Essere moderni e attenti oculisti, soprattutto oggi nell'era High Tech, vuol dire non dimenticare di essere, prima di tutto, anche autenticamente dei medici.

REFERENCES

- 1) Diabetic Retinopathy Guidelines, December 2012, Scientific Department, The Royal College of Ophthalmologists, 17 Cornwall Terrace Regent's Park London.
- 2) Marco Brancato. Trattamento dell'edema maculare diabetico: nuovi approcci farmacologici. tesi di laurea, anno accademico 2011/12; Relatore prof. S. Cillino; Università di Palermo.
- 3) British Heart Foundation. Estimated prevalence of diabetes by country, 2003 and 2005, Europe. 2.
- 4) UK Prospective Diabetes Study Group (U.K. P.D.S.G.). Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. Brit. Med. J. 1998, 317, 703.
- 5) Fong D.S. et al. Diabetic Retinopathy. Diabetes Care 2003, 26, Suppl 1, S99-S102.
- 6) G. Panozzo, B. Parolin. Edema maculare diabetico: dalla patogenesi al trattamento. FOVEA, Federazione Oculisti Veronesi Associati.
- 7) Francesco Bandello, Umberto De Benedetto, Karl Anders Knutsson, Maurizio Battaglia Parodi, Maria Lucia Cascavilla, Pierluigi Iacono. Evidence for Anti-vascular Endothelial Growth Factor Treatment of Diabetic Macular Oedema. Diabetic Macular Oedema. European Endocrinology, 2012; 8(1): 36-41.
- 8) Christer Betsholtz. Prize for ground-breaking knowledge on how blood vessels are formed. Press Release 2010-10-26. Karolinska Institutet, Svezia.
- 9) Wahl V, Vogler S, Grosche A, Pannicke T, Uefing M, Wiedemann P, Reichenbach A, Hauck SM, Bringmann A. Osteopontin inhibits osmotic swelling of retinal glial (Müller) cells by inducing release of VEGF. Neuroscience. 2013 Aug 29; 246: 59-72.
- 10) Andreas Reichenbach, Andreas Bringmann. New Functions of Müller cells. Glia 2013.
- 11) Kinyoun J, Barton F, Fisher M, Hubbard L, Aiello L, Ferris F 3rd. Detection of diabetic macular edema. Ophthalmoscopy versus photography-Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report Number 5. The ETDRS Research Group. Ophthalmology. 1989 Jun; 96(6): 746-50; discussion 750-1.
- 12) T. Murakami, K. Nishijima, T. Akagi, et al. Segmentational analysis of retinal thickness after vitrectomy in diabetic macular edema. Invest Ophthalmol Vis Sci, vol. 53, no. 10, pp. 6668-74, 2012.
- 13) Sakamoto A., Nishijima K., Kita M., Oh H., Tsuyikawa A., Yoshimura N. Association between foveal photoreceptor status and visual acuity after resolution of diabetic macular edema by pars plana vitrectomy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2009; 247:1325-1330.

- 14) Oishi A, Hata M, Shimozone M, Mandai M, Nishida A, Kurimoto Y. The significance of external limiting membrane status for visual acuity in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2010 Jul; 150(1): 27-32. e 1.
- 15) Chen, Francesca Mojana, William R. Freeman. The Association Between Percent Disruption of the Photoreceptor Inner Segment–Outer Segment Junction and Visual Acuity in Diabetic Macular Edema. *Am.J.Ophthalmol*. Volume 150, Issue 1, Pages 63-67. E 1, July 2010.
- 16) A.M. Schimel, Y.L. Fisher, H.W. Flynn. Optical coherence tomography in the diagnosis and management of diabetic macular edema: Time-Domain versus Spectral-Domain. *Ophthalmic Surgery, Laser & Imaging*. Vol.42, No.4 (Suppl), 2011.
- 17) Virgili G., Menghini F., Murro V., Peluso E., Rosa F., Casazza G. Optical coherence tomography (OCT) for detection of macular oedema in patients with diabetic retinopathy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011 Jul 6; (7): CD 008081.
- 18) U. Wolf-Schnurrbusch, L. Ceklic, C.K. Brinkmann, M. Iliev, M. Fre, S. Rothenbuehler, V. Enzmann, S. Wolf. Macular Thickness measurements in healthy eyes using six different optical coherence tomography instruments. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 50(7), 3432-3437 (2009).
- 19) B.Y. Kim. S.D. Smith, P.K. Kaiser. Optical coherence tomographic patterns of diabetic macular edema. *Am. J. Ophthalmol*. 142(3), 405-412 (2006).
- 20) Afef Maalej, Wathek Cheima, Khallouli Asma, Rannen Riadh and Gabssi Salem. Optical Coherence Tomography for Diabetic Macular Edema: Early Diagnosis, Classification and Quantitative Assessment. *J Clinic Experiment Ophthalmol* 2012, S:2.
- 21) G.E. Lang. Optical coherence tomography findings in diabetic retinopathy. *Diabetic Retinopathy*, vol. 39, ed. by G.E. Lang. *Dev Ophthalmol* (Karger, Basel.2007), pp.31-47.
- 22) R. Bernardes, T. Santos, P. Serranho, C. Lobo, J. Cunha-Vaz. Noninvasive evaluation of retinal leakage using optical coherence tomography. *Ophthalmologica* 226 (2), 29-36 (2011).
- 23) Wessel, MM, Aaker GD, Parlitsis G, Cho M, D'Amico DJ, Kiss S. Ultra-wide-field angiography improves the detection and classification of diabetic retinopathy. *Retina*. 2012; 32(4): 785-791.
- 24) Wessel MM, Nair N, Aaker GD, Ehrlich JR, D'Amico DJ, Kiss S. Peripheral retinal ischaemia, as evaluated by ultra-widefield fluorescein angiography, is associated with diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol*. 2012; 96 (5): 694-698.
- 25) Staurenghi G, Viola F, Mainster MA, Graham RD, Harrington PG. Scanning laser ophthalmoscopy and angiography with a wide-field contact lens system. *Arch Ophthalmol*. 2005 Feb; 123(2): 244-52.
- 26) Staurenghi G, Invernizzi A, de Polo L, Pellegrini M. Diagnosis and detection. *Eur J Ophthalmol*. 2011;21 Suppl 6: S27-36.



CAPITOLO 9

GLAUCOMA TRA STRUTTURA E FUNZIONE

INTRODUZIONE

È passato oltre un secolo dalla controversia tra la teoria “reticolarista” di Camillo Golgi (1804 – 1895) e la “dottrina del neurone” di Santiago Ramon y Cajal (1852 – 1934), entrambi Premi Nobel per Medicina nel 1906. Le conoscenze sulla conduzione dell’impulso neurale sono notevolmente migliorate nel tempo. Il sistema nervoso ha sempre affascinato studiosi e ricercatori; le cellule ganglionari retiniche non sono state indenni dai lunghi travagli scientifici che hanno caratterizzato la conoscenza del sistema nervoso.

In questo percorso di conoscenza la natura ha spesso costituito un importante campo di confronto, un punto di riferimento formale e funzionale [1]. Struttura e funzione in medicina sono state spesso indagate e messe a confronto pensando a cosa succede in natura; ad alterazioni anatomiche/istologiche dovrebbero corrispondere altrettanti deficit funzionali, ma non sempre è facile trovare le relative correlazioni. Il dualismo struttura/funzione nel glaucoma ha caratterizzato fortemente studi e conoscenze di quest’affezione.

Alterazioni strutturali e funzionali rilevate con strumenti sempre più moderni, non sono spesso in accordo nel follow-up di questa patologia. Danni strutturali più spesso precedono quelli funzionali, come evidenziato da studi e ricerche [2-4]. L’avvento dei nuovi OCT Spectral Domain ha aperto forme alternative d’imaging, approfondite possibilità di studio, modi più efficaci e iconograficamente affascinanti di correlazione tra istologia e funzione. Queste innovative possibilità sono oggi fruibili nei nostri Report grazie al dialogo tra dati tomografici e cluster campimetrici per mezzo di piattaforme informatiche.

I risultati raccolti, elaborati e assemblati, sono convogliati in un unico Report Combo. Al momento non tutti gli SD-OCT in commercio permettono questa correlazione, possibile solo tra device compatibili della stessa casa costruttrice. Questo articolo tratterà brevemente delle recenti ricerche scientifiche per quanto riguarda il rapporto struttura/funzione, dei Combo Report, delle novità su-

gli SD-OCT, campi di studio e imaging Hi-tech che stanno aprendo nuove e più approfondite conoscenze sulle cellule ganglionari, sul nervo ottico e sulla lamina cribrosa nel glaucoma.

STATO DELL'ARTE

L’imaging tomografico si è ritagliato un ruolo sempre maggiore nel management del glaucoma. Inizialmente l’interesse strumentale OCT nel glaucoma è stato diretto essenzialmente sulla testa del nervo ottico ONH e lo strato delle fibre nervose peripapillari RNFL. David F. Garway-Heath è tra i maggiori studiosi della relazione struttura/funzione nel glaucoma. A lui si deve la definizione puntuale e goniometrica dei campi settoriali del RNFL nei confronti di singoli cluster del campo visivo [5]. Uno dei suoi primi studi del 1997 “*Aging changes of the optic nerve head in relation to open angle glaucoma*”, termina con alcune considerazioni di fisiologia:

“Neuroretinal rim area declined at the rate of between 0.28% and 0.39% per year. Vertical optic cup diameter and optic cup area increased with age. The mean cup/disc diameter ratio increased by about 0.1 between the ages of 30 and 70 years”.

Queste informazioni sono preziose e indispensabili per un più obiettivo giudizio dei dati riportati nei Report Glaucoma e per validare meglio i database dei nostri device. Un secondo studio di Garway-Heath del 2000, comparativo tra le aree del campo visivo HFA 24-2 Humphrey e RNFL, è alla base di FORUM, piattaforma informatica che Zeiss utilizza come software di gestione e archiviazione dati pazienti e per coordinare gli HD-OCT Cirrus con il campo visivo HFA nell’indagine dei pazienti glaucomatosi (fig. 1) [6].

Forum è utilizzato da Zeiss come Heyex è usato da Heidelberg per il dialogo tra gli SD-OCT Spectralis e il suo campo visivo HEP. Le piattaforme informatiche permettono, tra le tante funzioni, l’elaborazione dei Combo Report, ultima novità nell’imaging del glaucoma. Lo scopo è di offrire un confronto e valutazione a 360° più organica dei due fronti d’indagine, strutturale e funzionale. Questa nuova recentissima possibilità tecnologica

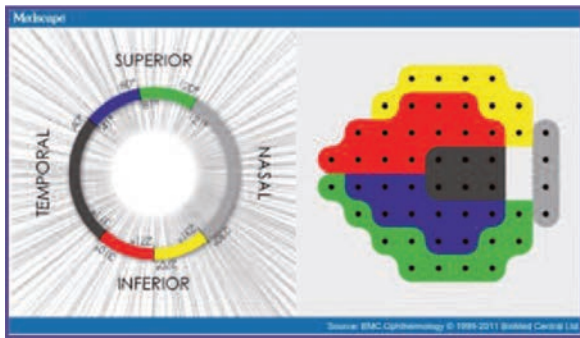


fig. 1 - Rapporto tra settori RNFL e cluster del campo visivo secondo Garway-Heath.

e iconografica usufruisce di molte applicazioni informatiche, banco di prova per la stabilità della trasmissione d'immagini. Il trasferimento di dati così complessi e pesanti è possibile per mezzo del sistema DICOM, Digital Imaging and Communications in Medicine, universalmente usato per le elaborazioni d'immagini nella scienza medica, inizialmente in campo radiologico. I Combo Reports non sono mera iconografia, un'esasperazione dell'imaging, un assemblaggio di esami diversi e complementari. Rappresentano un punto di osservazione privilegiato, un aiuto innovativo e valido,

una somma elaborata di tutte le informazioni essenziali e indispensabili per una piena, moderna e attenta comprensione del glaucoma, una prospettiva aperta con lo sguardo rivolto alla prevenzione e alla diagnosi differenziale. Allo stato attuale solo Zeiss e Heidelberg offrono questa possibilità informatica (fig. 2).

Optovue si avvia su questa strada confrontando i suoi SD-OCT con il perimetro Octopus, in ritardo sulla tabella di marcia nell'imaging del glaucoma. I Combo Reports sono per ora possibili solo tra strumenti riconosciuti dalle rispettive piattaforme informatiche. Il database di riferimento, anche per quest'elaborazione informatica, fa la differenza per l'affidabilità dei dati riportati.

La Zeiss parte con un grande vantaggio, forse incolmabile nel breve termine, perché utilizza il Campo Visivo HFA, universalmente riconosciuto e validato. Inoltre individua come settori funzionali del campo visivo correlati con RNFL Thickness, i cluster di Garway-Heath, strada condivisa anche da Heidelberg. Naveed Nilforushan, nel suo lavoro su Investigative Ophthalmology & Visual Science del 2012, riprende e migliora lo studio del 2000 di Garway-Heath [7]. L'autore passa inizialmente in

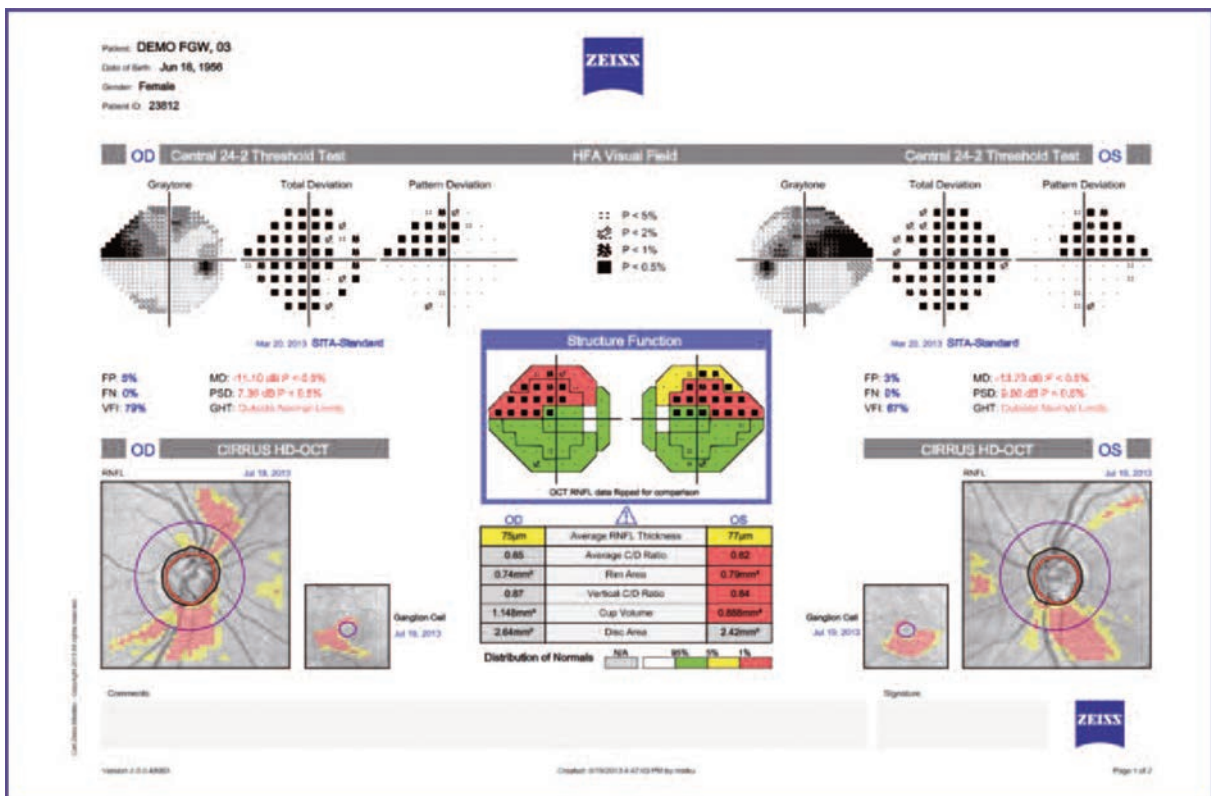


fig. 2 - Glaucoma Report Struttura-Funzione tra HD-OCT Cirrus e Campo Visivo HFA Humphry. Corrispondenza tra CV, RNFL Thickness e Ganglion Cell in (Zeiss).

rassegna la vasta letteratura in tema di struttura e funzione nel glaucoma ed evidenzia i contrastanti risultati strutturali, dovuti spesso a dispositivi Hi-Tech utilizzati con capacità risolutive non sempre adeguate e paragonabili. Al contrario, per l'indagine funzionale, lo strumento universalmente usato è stato il perimetro HFA Humphry. L'autore, nel suo studio cross-sectional su 136 occhi di 97 pazienti con sospetto/iniziale glaucoma ha, infatti, adoperato questo perimetro in modalità SAP Standard Achromatic Perimetry, con strategia 242 SITA, e il Cirrus Zeiss HD-OCT versione 5.1, analizzando tutti i dati con il test statistico di Wilk-Shapiro. I campi strutturali, rispetto a Garway-Heath, sono stati allargati alla Rim Area RA (fig. 3).

La maggiore correlazione statistica tra struttura e funzione è emersa tra i settori infero-temporali RNFL e/o della RA e i cluster supero-nasali del campo visivo, espressi in decibel, rispettando lo schema di Garway-Heath. La correlazione tra cluster del campo visivo e aree del RA sembra ancora più stringente rispetto ai settori RNFL. L'autore inoltre afferma che HRT Heidelberg Retina Tomograph, OCT e Scanning Laser Polarimetry SPL (GDx-VCC) hanno simili e paragonabili performance diagnostiche strutturali. Lo studio termina riferendo che i cambiamenti patologici di ONH, particolarmente la diminuzione dell'area della RA, intervengono, rispetto alla perdita di spessore RNFL, più precocemente.

Tali cambiamenti sono dovuti alla flessibilità della lamina cribrosa, soggetto-dipendente, struttura sempre più studiata e indagata con device Hi-Tech in quest'ultimo periodo, assimilabile per molti versi a un frattale, come del resto il trabecolato camerulare (Semeiotica Hi-tech del segmento anteriore; Oftalmologia domani Anno III n°1). Naturalmente questi dati richiedono successive conferme, evidenziate e precisate dallo stesso autore [7]. Da quanto detto emerge la necessità di spostare l'attenzione, specie nell'Early Glaucoma, dall'indagine tomografica RNFL Thickness allo spessore della RA. Tale struttura mostrerebbe, infatti, un danno iperbarico più precoce rispetto ad altre zone anatomiche delle ganglionari.

Dall'analisi sulla vasta letteratura sul danno neurale IOP dipendente è evidente la ricerca dei segni iniziali di deficit strutturali, se evidenziabili nell'assottigliamento RNFL, RA o nello spessore dei pirenofori ganglionari in macula GCC. Uno studio biomeccanico del danno strutturale e sulla

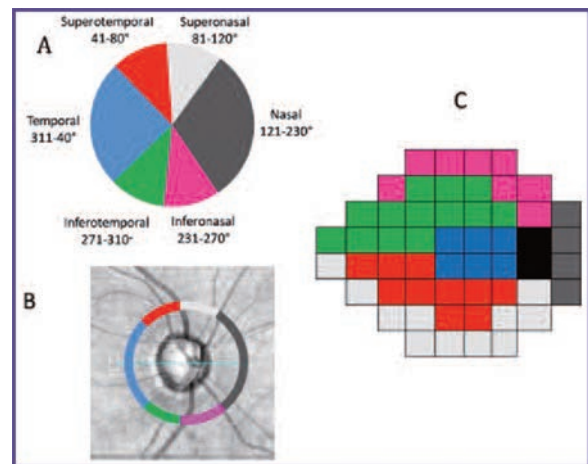


fig. 3 - Corrispondenza delle sei regioni della Rim Area (A), RNFL (B) e cluster del campo visivo (C) secondo Garway-Heath et al. (Niforushan N et al.)

deformabilità sclerale (Strain) è condotto da anni da Claude Burgoyne (Portland Oregon, USA). Da oltre un decennio Burgoyne studia gli effetti della IOP sulla sclera e, in particolar modo, sulla regione peripapillare. Nel 2004 iniziai un progetto di ricerca sulla deformazione papillare IOP dipendente con due ingegneri italiani del Dipartimento di Meccanica della Facoltà di Ingegneria di Cosenza, l'ingegner M. Fazio e l'Ingegnere L. Bruno. I primi risultati della nostra ricerca sono confluiti nelle tesi di laurea e dottorato di ricerca dell'ingegner M. Fazio, il quale, assieme al suo collega L. Bruno (ricercatore presso l'UNICAL di Cosenza), sta portando avanti questi studi nell'Università di Pittsburgh in Alabama, in seguito al suo definitivo trasferimento in suddetta Università. Così purtroppo va avanti, si fa per dire, la ricerca in Italia! [8-13]. I principali risultati di questi studi sperimentali in pieno sviluppo, su sclere umane di afroamericani e caucasici, prelevate 48 ore dopo il decesso dimostrano che: *"The posterior sclera stiffened significantly faster with age in both regions of the AD eyes compared to ED donors. The sclera in both regions stiffened significantly with age in the AD eyes, while only peripapillary region stiffened significantly with age in the ED eyes ($p < 0.001$)"*, dove AD significa African Donors e ED European Descent. Emergono numerosi e interessanti dati biomeccanico-strutturali:

- La IOP determina crescenti danni nei bulbi oculari con l'età;
- L'accentuata sensibilità della popolazione afroamericana allo stress della IOP;

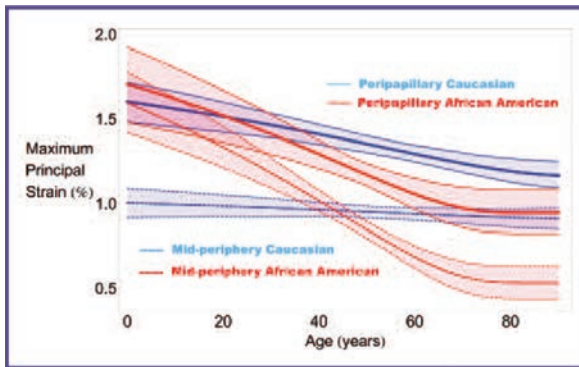


fig. 4 - Deformazione (Strain) sclerale della regione peripapillare e medio-periferica per razza ed età. Lo Strain decresce con l'età nel gruppo degli afroamericani (AD) in entrambe le regioni ($P < 0.001$) con ritmo più veloce rispetto ai caucasici (ED), con un massimo di deformazione nella regione peripapillare per entrambi i gruppi a tutte le età ($P < 0.001$). (M.A. Fazio, L. Bruno, J. Crawford C. Downs et al.)



c) La maggiore deformabilità tensile della sclera peripapillare rispetto alla media periferia, indipendentemente dalla razza;

d) Il più lento aumento della rigidità sclerale peripapillare dei caucasici rispetto agli afroamericani con l'età;

e) L'aumento della rigidità sclerale in medio-periferia degli afroamericani con l'età, non riscontrabile nei caucasici.

Queste caratteristiche biomeccaniche e strutturali contribuiscono, in modo rilevante, a determinare e giustificare la maggiore suscettibilità al danno pressorio degli afroamericani rispetto ai caucasici (fig. 4).

SD-OCT & GLAUCOMA

I Combo Reports sono disponibili per la strumentazione Zeiss (Forum Glaucoma Workplace) e Heidelberg (Heyex). Optovue si collegherà con il campo visivo Octopus (Bundle Haag-Streit), ma non è al momento possibile fruire dei relativi Reports. L'imaging che ne deriva è quanto mai accattivante e completo. I Combo Report non sono l'unica novità nel glaucoma. Nuovi e interessanti indici strutturali, di proprietà degli autori, sono stati recentemente pubblicati. L'indice CSFI di Felipe A. Medeiros, Renato Lisboa e Robert N. Weinreb in particolare, consente nell'indagine SD-OCT in glaucomi avanzati, di seguire meglio il danno strutturale, specialmente sotto i 50 μm di RNFL Thickness, valori scarsamente individuabili e apprezzabili con gli SDOCT, che offrono dati numerici

poco significativi, non rispondenti alla reale diminuzione delle cellule ganglionari e/o dei loro assoni, come evidenziato dai valori negativi di MD [14] (fig. 5).

Una recente Review di Chauhan e colleghi stabilisce che una diminuzione in MD di -0.50 dB/anno è improbabile possa portare una importante disabilità visiva; tassi di progressione più veloci di -2dB, sono da considerarsi invece pericolosi nel tempo per la funzione visiva [15]. Nello studio già citato di Medeiros, che ha portato alla formulazione dell'indice CSFI, si evidenzia inoltre che il danno in MD del campo visivo varia col variare del patrimonio di partenza delle cellule ganglionari, Retinal Ganglion Cell RGCs. In questo studio si trovano rappresentate curve molto interessanti che correlano MD, RGCs e RNFL. Le prime due curve mostrano la relazione tra MD e stima delle RGCs (fig. 6).

In un occhio sano, in media con 1.020.000 RGCs e 0.4 dB di MD, una perdita di 10.000 RGCs corrisponde a un danno di 0.04 dB di MD; una perdita importante di 100.000 RGCs porterà una diminuzione relativa di 0.33 dB di MD. Al contrario, in occhi glaucomatosi con danni già avanzati, con una stima di 280.000 RGCs e -15 dB MD, un danno di 10.000 RGCs corrisponde ad una diminuzione di 0.47 dB di MD; una perdita di 100.000 RGCs ad un decremento di 5.78 dB di MD. La stessa perdita (10.000 RGCs) coincide quindi a differenti deficit in dB di MD, secondo il contingente delle cellule ganglionari di partenza (0.04 dB di MD con 1.020.000 RGCs, 5.78 dB di MD con 280.000 RGCs). L'incremento negativo dell'indice MD è, quindi, poco rilevante nell'Early Glaucoma mentre diventa più sensibile nell'Advanced Glaucoma. Le altre due curve mostrano la relazione tra RNFL Thickness e stima in RGCs (fig. 7).

In contrasto con i grafici precedenti, queste curve tracciano una relazione abbastanza lineare tra RNFL e RGCs in tutte le fasi della malattia glaucomatosa. Come si può notare i valori RNFL Thickness non scendono mai sotto 40 μm . In occhi con un patrimonio di 1.020.000 RGCs e 91 μm RNFL Thickness, una perdita di 10.000 RGCs produce una diminuzione RNFL Thickness di 0.50 μm ; una perdita di 100.000 RGCs un decremento RNFL Thickness di 5 μm (10 volte maggiore). In occhi gravemente glaucomatosi, con un patrimonio di 281.000 RGCs e 57 μm RNFL Thickness, la perdita di 10.000 RGCs porterà ad una diminuzione RNFL

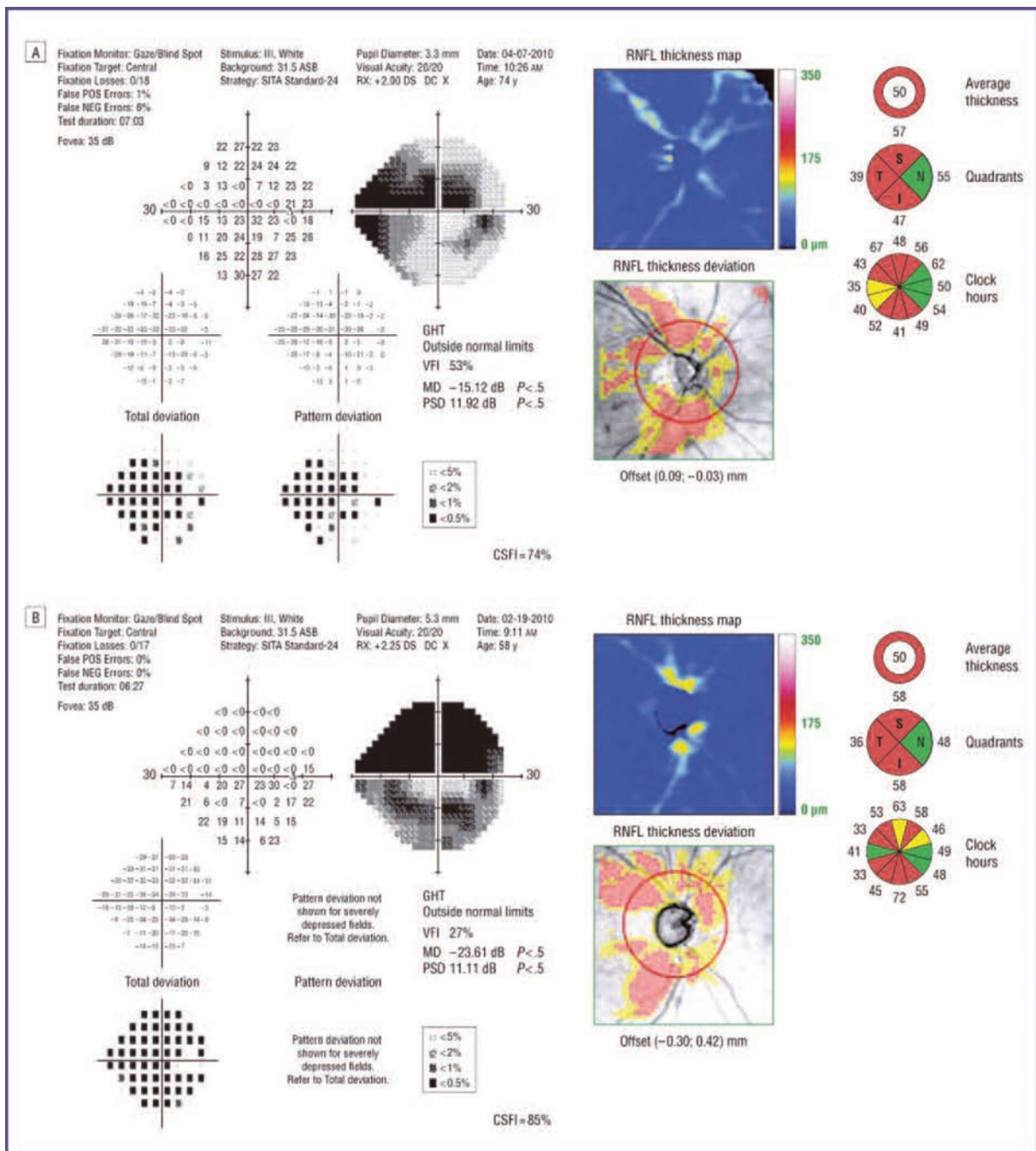


fig. 5 - Indice CSFI di Medeiros. Due occhi glaucomatosi con identico Average RNFL Thickness e differente MD. L'indice CSFI aiuta nel distinguere il danno strutturale.

Thickness di 0,3 μ m, mentre una perdita di 100.000 RGCs ad una diminuzione RNFL Thickness di 1.5 μ m (solo 5 volte maggiore).

Nell'Advanced Glaucoma il danno rilevabile con SDCT per RNFL Thickness è perciò poco o niente indicativo. Il distacco e divario tra struttura e funzione nelle varie fasi del glaucoma si evidenzia molto bene nel grafico conclusivo (fig. 8).

Nelle fasi iniziali della malattia, con l'integrità numerica RGCs, l'indagine strutturale tomografica segue in modo pressoché lineare il danno cellulare, rilevandosi assolutamente predittiva ai fini diagnostici. Al contrario, l'indice MD è inadeguato nelle fasi iniziali della patologia, silente nel testimoniare il danno crescente, non idoneo a favorire una diagnosi precoce, mostrando un andamento

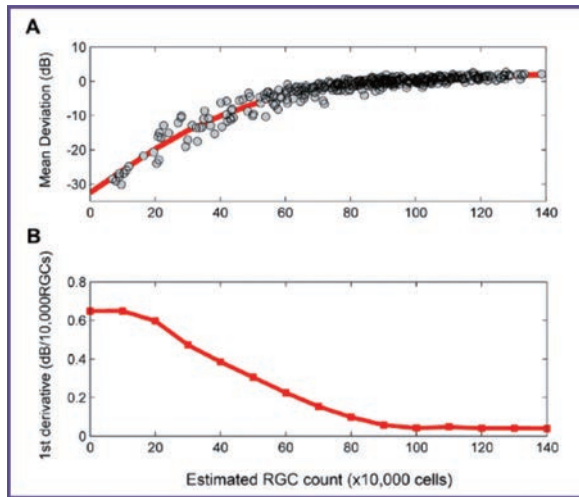


fig. 6 - A) Relazione tra MD e stima RGCs. B) Derivata prima della curva mostrata in A. La derivata prima indica il cambiamento globale in MD ogni 10.000 RGCs per livelli differenti di RGCs. (Felipe A. Medeiros et al.)

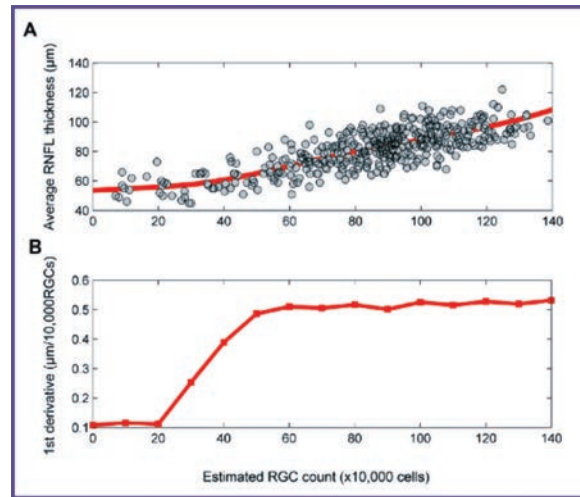


fig. 7 - A) Relazione tra Average RNFL Thickness e stima RGCs. B) Derivata prima della curva in A. La derivata prima indica il cambiamento globale dell'Average RNFL Thickness ogni 10.000 RGCs per differenti livelli di RGCs. (Felipe A. Medeiros et al.)

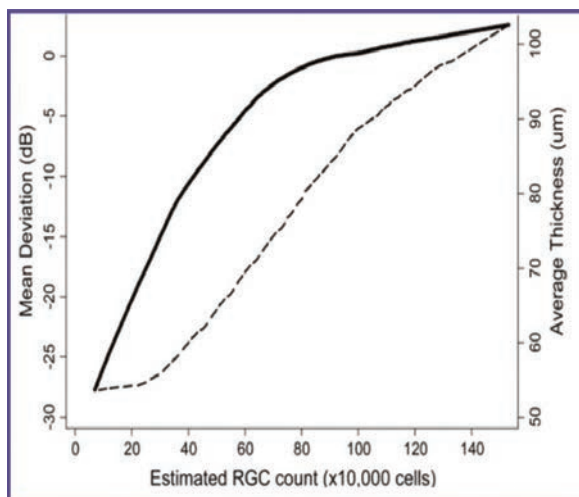


fig. 8 - Indice combinato struttura e funzione CSFI. (Adattato da Medeiros FA, Lisboa R, Weinreb RN, et al.).

a plateau. Nelle fasi terminali, con ridotti numeri di RGCs, il dato strutturale perde di valore rispetto a MD; si ha un capovolgimento della sensibilità diagnostica tra le due metodiche, a favore di MD. A questa défaillance dell'indagine tomografica nelle fasi avanzate/terminali viene in soccorso l'indice CSFI, in grado di rilevare efficacemente la progressione del danno nonostante gli spessori RNFL siano poco o niente realistici nei confronti dell'aumento MD e rispetto alla scala dei grigi del CV.

L'indagine strutturale HD-OCT perde quindi di significatività nel follow-up del glaucoma nelle fasi avanzate/terminali, imperscrutabili alla tomografia, anche Spectral Domain. Una valutazione to-

mografica integrata tra tutte le aree interessate al danno iperbarico RNFL, RA e GCC, credo potrebbe migliorare la valutazione strutturale complessiva delle RGCs e dei loro assoni, anche nelle fasi avanzate/terminali del glaucoma, come permette l'indice CSFI, costruito su algoritmo proprietario.

ULTIMATE GOAL

Un nuovo campo d'indagine aperto dagli OCT Spectral Domain con modalità EDI, Enhanced Depth Imaging e da poco dagli SS-OCT, Swept Source con maggior risoluzione, è la visione della lamina cribrosa in tutto il suo spessore. Molti Spectral OCT permettono un'indagine EDI in coroide. A oggi solo Topcon offre un modello SS-OCT (DRI OCT-1 Atlantis, Deep Range Imaging, 100.000 A-scans/sec, Wavelength 1,050nm) e Tomey (OCT SS-1000 CASIA); la Zeiss ha in avanzato progetto e realizzazione il suo SS-OCT. La modalità tomografica EDI, introdotta da R.F. Spide et al. nel 2008, inizialmente possibile solo su Spectralis Heidelberg e Cirrus Zeiss, è un'estensione delle possibilità degli SDOCT, che spinge in avanti l'indagine tomografica, rendendo possibile la visione della coroide e solo parzialmente della lamina cribrosa [16]. A questo proposito Optovue presentò a novembre 2013 il suo ultimo SD-OCT (Avanti RTVue XR) che permette un'ottima indagine EDI e un'imaging Widefield En face di gran pregio. Park S.C. et al. hanno condotto uno studio pilota per accertare i vantaggi della mo-

dalità EDI-OCT nella valutazione della lamina cribrosa, delle strutture peripapillari e vascolari. Le immagini EDI-OCT permettono di distinguere negli occhi esaminati nettamente la lamina cribrosa dai tessuti circostanti, specialmente nell'area centrale della papilla ottica nel 65%, la sezione e la dimensione dei suoi pori nel 76%, la traiettoria delle arterie ciliari posteriori brevi nell'86%, lo spazio subaracnoideo nel 18% [17].



Park H.Y. et al. hanno misurato lo spessore della lamina cribrosa in pazienti glaucomatosi normotesi, Normal Tension Glaucoma NTG e con Glaucoma Primario ad Angolo Aperto, Primary Open-Angle Glaucoma POAG. Nei pazienti con POAG lo spessore della lamina cribrosa sembra relativamente ridotto rispetto ai pazienti con NTG. Il loro studio termina evidenziando che la modalità EDI-OCT risponde meglio della tomografia SD-OCT standard per riproducibilità, anche se la lamina cribrosa è spesso oscurata dalla RA e dai margini del canale sclerale [18]. Gli SS-OCT hanno una lunghezza d'onda d'utilizzo di 1050 nm (840 nm per SDOCT) capace di penetrare maggiormente in coroide, sclera e lamina cribrosa. Utilizzano una velocità di 100.000/400.000 A-Scan/Secondo raggiungono una risoluzione assiale di 5.3 μm in un range di 4 mm [19]. L'aumento della lunghezza d'onda, l'utilizzo di photodetectors al posto di camere CCD a led e il raddoppio della velocità d'acquisizione, permettono, oltre un ulteriore aumento della risoluzione (1 μm), di ottenere immagini Widefield B-Scan (12 mm vs 6-9 mm) e più accurate visualizzazioni in 3D del vitreo, retina, coroide e papilla ottica (fig. 9).



Con gli SS-OCT è possibile vedere insieme, in un'unica scansione, macula e nervo ottico contemporaneamente, distinguere con maggior dettaglio gli strati corioideali di Sattler e Haller, migliorando la visione EDI-OCT. Kohei Takayama et al., (Department of Ophthalmology and Visual Sciences, University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan) hanno pubblicato su IOVS nel luglio 2013 uno studio su 182 occhi di 111 pazienti glaucomatosi con imaging tridimensionale della lamina cribrosa e scansioni SS-OCT (Topcon 100.000 Hz A-Scan, lunghezza d'onda 1050nm, protocollo 256x256 A-Scan di 3mm x 3mm) centrati su ONH. I difetti focali della lamina cribrosa corrispondevano agli assottigliamenti della RA, alle precedenti emorragie peripapillari, all'assottigliamento del RNFL e ai deficit del campo visivo; inoltre i difetti erano significativamente associati statisticamente

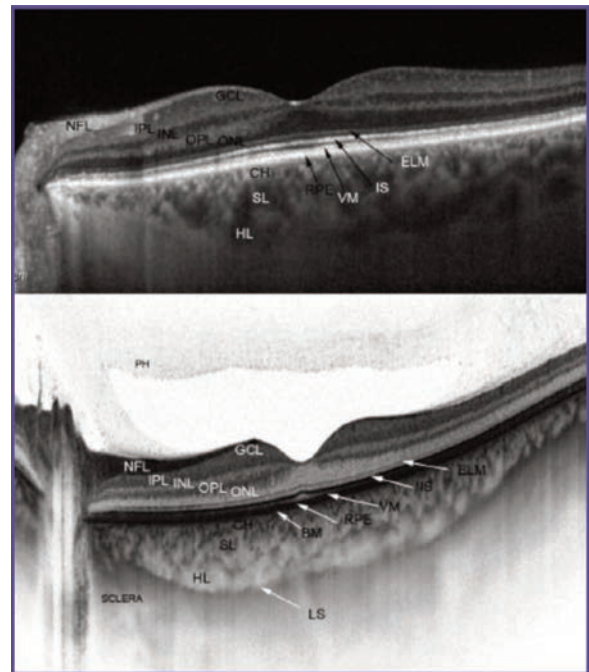


fig. 9 - Imaging di retina sana in EDI-OCT (sopra) e SS-OCT (sotto) Michalewska). BM-Bruch's Membrane; Ch-Choriocapillaris; SL-Sattler's Layer; HL-Haller's Layer; LS-Lamina Suprachoroidea.

alla lunghezza assiale del bulbo e alle emorragie del disco ottico ($P = 0.033$ e 0.024 , rispettivamente) [20]. La lamina cribrosa, punto strutturalmente nodale dove il danno degli assoni gangliari si stabilisce per l'insulto della IOP, finalmente può essere efficacemente indagata nella sua interezza in vivo (fig. 10).

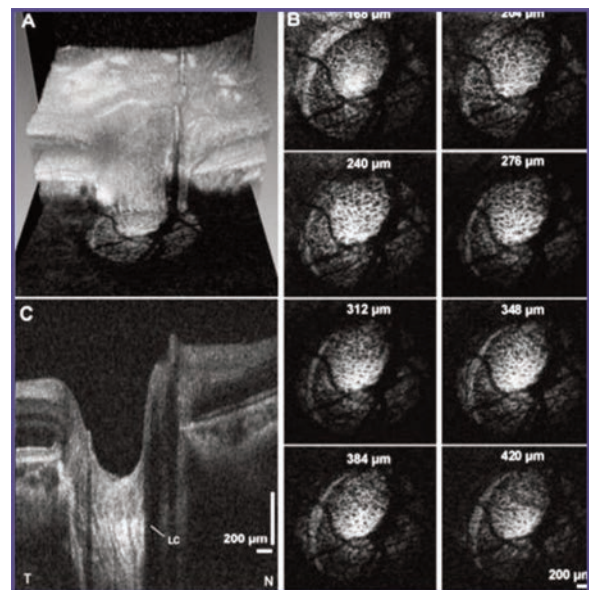


fig. 10 - Imaging della lamina cribrosa con SS-OCT. (Srinivasan et al.). (A) Immagine en face 3DOCT a differente profondità dell'EPR; (B) Immagine dei pori della lamina cribrosa; (C) Sei immagini consecutive delle strutture profonde della lamina cribrosa.

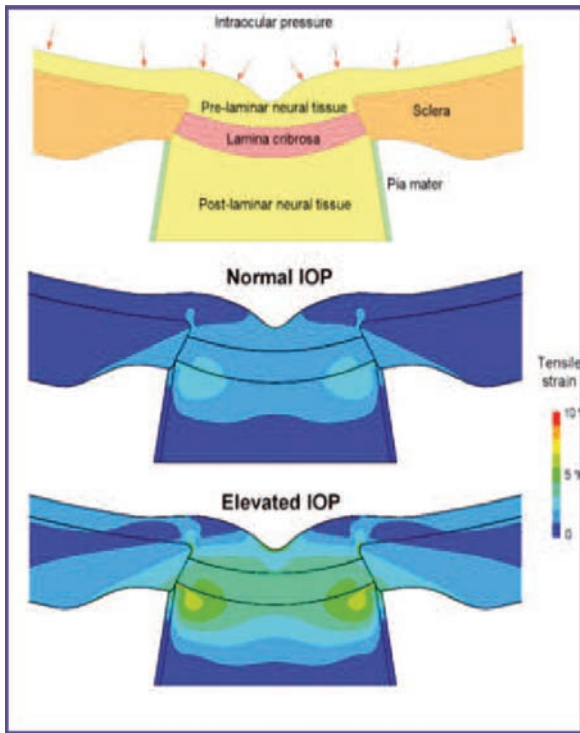


fig. 11 - Modello generico agli elementi finiti asimmetrico della testa del nervo ottico con 5 regioni: (in alto) sclera, lamina cribrosa, tessuto pre/post-laminare e pia madre; (al centro, sotto) deformazione della struttura papillare IOP dipendente (Tensile Strain a 12,5 mmHg). (J.Crawford Downs et. al).



Gli SS-OCT, da poco in commercio, non sostituiranno per ora gli attuali SD-OCT, anche per l'elevato costo, ma implementeranno ed integreranno l'indagine tomografica, offrendo scansioni a tutto spessore con nuovi dettagli e possibili risposte strutturali in molteplici patologie oculari. Il nervo ottico, per le sue caratteristiche strutturali, si presta molto bene a un'indagine con lunghezze d'onda maggiori. Quigley, già nel 1981, aveva individuato la lamina cribrosa come "*locus anatomicus*" dove avveniva il danno da ipertono oculare [21]. Modelli matematici agli elementi e ai volumi finiti della lamina cribrosa hanno dimostrato che essa è suscettibile allo stress biomeccanico dovuto alla IOP (fig. 11).

Un'indagine dal vivo della lamina cribrosa è possibile da poco tempo; l'attenuazione del segnale per i vasi e la riflettanza dei tessuti rendevano, infatti, difficile le misurazioni nel suo spessore. I pori trabecolari sono quantificati con imaging 3 D in vivo solo di recente [22-25].

La possibilità dell'uso dell'ottica adattiva, Adaptive Optics AO, ha notevolmente aumentato la possibilità di risoluzione degli SD-OCT, rendendo

possibile un metodo di segmentazione di tale struttura. Studiosi di sei centri differenti in USA ed Europa hanno pubblicato su Biomedical Optics Express nell'ottobre 2013 un metodo per quantificare e stratificare in vivo in 3D la lamina cribrosa con due differenti OCT, SS-OCT (Risoluzione trasversa e assiale teorica 18μm e 5μm rispettivamente) e MAO-OCT, Multimodal Adaptive Optics (Risoluzione trasversa e assiale teorica 5μm e 4.5μm rispettivamente), usando alternativamente metodi di segmentazione con analisi manuale e automatica. Lo studio, limitato nel numero di pazienti, (14 sani e 16 con glaucoma di 55.2 ± 18.6 aa, MD -6.39 ± 5.95 dB indagati con SS-OCT; 6 sani e 24 con glaucoma di 53.4 ± 20.0 aa, MD -6.41 ± 7.20 dB indagati con MAO-OCT) ha permesso di stabilire la superiorità del metodo automatizzato di segmentazione ed elaborare un algoritmo per lo studio in vivo della lamina cribrosa [26]. Munemitsu Yoshikawa et al. hanno pubblicato un recente studio di comparazione della lamina cribrosa in 28 occhi di 26 pazienti glaucomatosi, prima e dopo chirurgia, utilizzando SweptSource Optical Coherence Tomography (SS-OCT Top-con). A fronte di una riduzione della IOP da 21.9 ± 5.0 mmHg (*before surgery*) a 12.0 ± 5.1 mmHg (*after surgery*), la profondità della lamina cribrosa decresce da 632.1 ± 142.8 μm (*before surgery*) a 596.9 ± 115.5 μm ($p = 0.03$, paired-t test) (*after surgery*), mentre il tessuto nervoso prelaminare aumenta da 166.9 ± 66.4 μm (*before surgery*) a 189.2 ± 79.0 μm ($p = 0.01$) (*after surgery*). Le nuove strade aperte dagli SS-OCT sono molto promettenti e, per molti versi, straordinariamente affascinanti. Con la tomografia SS-OCT si può vedere come la struttura sclerale cambia all'aumento della IOP, confermando la relativa reversibilità del danno strutturale neuronale (Buffer Zone), dipendente dal tempo dell'ipertono, dai valori assoluti raggiunti dalla IOP, dalle caratteristiche biologiche della struttura, oltre che da altri parametri geometrici-tridimensionali della papilla ottica ancora non pienamente caratterizzati biomeccanicamente [27].

J. Crawford Downs, Michael D. Roberts, P e Ian A. Sigal, hanno pubblicato nel 2011 studi biomeccanici e biologici su come la lamina cribrosa e la matrice extracellulare della regione papillare rispondano nel tempo allo stress biomeccanico iperbarico. I dati di ricerca evidenziano il ruolo non secondario della matrice extracellulare della

lamina cribrosa nel processo di rimodellamento del disco ottico. Da questi studi emerge che, mentre un esteso rimodellamento della matrice extracellulare avviene nel glaucoma primario ad angolo aperto, vi sono sorprendentemente poche prove a sostegno dei danni meccanici dovuti a ipertono acuto sulla lamina come principale meccanismo dell'escavazione. Gli astrociti del nervo ottico e della lamina cribrosa sarebbero in grado di "percepire" lo stress e lo strain meccanico, rispondendo agli stimoli con un rimodellamento della matrice extracellulare. Numerose prove scientifiche portate da questi studiosi suggeriscono che il rimodellamento si manifesti con una migrazione posteriore progressiva dell'inserimento laminare nella parete del canale sclerale, e inserzione della lamina nella pia madre più profondamente. Questi stessi studi di modellizzazione della papilla ottica suggeriscono inoltre che, il modellamento laminare può essere un meccanismo di feedback biomeccanico attraverso il quale le cellule si modificano nel tentativo di ritorno a un ambiente maggiormente omeostatico. Sembra plausibile infine che il rimodellamento del tessuto connettivo sia coinvolto nella progressione del cambiamento della morfologia laminare, da uno stato normale a quello di coppettazione, come nel glaucoma avanzato [28].

CONSIDERAZIONI FINALI

I dati meccanico-strutturali e biochimico-istologici individuati in animali da esperimento o in occhi umani enucleati non potranno essere confermati da indagini strutturali Hi-Tech, anche ad alta definizione. Gli OCT Fourier Domain, Spectral e Swept-Source, non potranno che darci solo risposte strutturali del danno iperbarico. Trovare il sottile bandolo che ci possa far uscire dal labirintico mondo del glaucoma è certo facile, né è forse compito solo dell'imaging. Lee EJ et al. [2013] hanno evidenziato in occhi sani che lo spessore della lamina cribrosa aumenta significativamente con l'età avanzata e che non esiste nessuna relazione tra questa struttura, lo spessore corneale e la lunghezza assiale (da 7.0 a + 3.0 diottrie) [29]. Questi dati hanno fatto svanire l'idea sulla possibile relazione tra spessore della cornea e della lamina cribrosa a fine prognostico nel glaucoma.

La recente possibilità di poter indagare in questa struttura renderà più agevole capire in vivo

i dettagli dei processi biomeccanici papillari, senza ricorrere a correlazioni indirette, spesso foriere di errori. I rapporti tra campo visivo e cluster campimetrici, recentemente disponibili sui nostri Report Glaucoma, come si è evidenziato, servono per capire meglio e prima i danni al patrimonio ganglionare retinico, così come l'introduzione di nuovi algoritmi strutturali interpretativi (CSFI). La tomografia ottica a radiazione coerente ha in gran parte permesso tutto ciò, contribuendo ad aprire nuove strade, alimentare nuove speranze, incoraggiare ottimistiche attese nella lotta contro il glaucoma.

REFERENCES

- 1) Langella C. La forma segue sempre la funzione. www.scienzaefilosofia.it/res/site70201/res611952_02.pdf.
- 2) Caprioli J. Correlation of visual function with optic nerve and nerve fiber layer structure in glaucoma. *Surv Ophthalmol.* 1989; 33(suppl): 319–330.
- 3) Medeiros FA, Alencar LM, Zangwill LM, Bowd C, Sample PA, Weinreb RN. Prediction of functional loss in glaucoma from progressive optic disc damage. *Arch Ophthalmol.* 2009; 127:1250–1256.
- 4) Sung KR, Kim S, Lee Y, Yun SC, Na JH. Retinal nerve fiber layer normative classification by optical coherence tomography for prediction of future visual field loss. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52:2634–2639.
- 5) Garway-Heath DF, Wollstein G, R A Hitchings RA. Aging changes of the optic nerve head in relation to open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1997 81: 840-845.
- 6) Garway-Heath DF, Poinoosawmy D, Fitzke FW, Hitchings RA. Mapping the visual field to the optic disc in normal tension glaucoma eyes. *Ophthalmology.* 2000 Oct; 107(10):1809-15.
- 7) Naveed Nilforushan, Nariman Nassiri, Sasan Moghimi, Simon K. Law, JoAnn Giaconi, Anne L. Coleman, Joseph Caprioli, Kouros Nouri-Mahdavi. Structure–Function Relationships between Spectral-Domain OCT and Standard Achromatic Perimetry. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, May 2012, Vol. 53, No. 6.
- 8) Bruno L., Felice G., Fazio M. A., Poggialini A., Identificazione dei fattori di rischio per il glau-

- coma mediante metodi FEM. Atti del convegno "XXXVII Convegno Nazionale AIAS", Roma, 2008, 2008pp.
- 9) Bruno L., Fazio M.A., Poggialini A., Lucente A., Identificazione dei Meccanismi di Danneggiamento dei Tessuti dell'Occhio Mediante Analisi Numeriche e Sperimentali. Atti del convegno "9° Congresso Internazionale SOL", Roma, 18-21/05/2011, 2011, 2011, pp.
 - 10) M Fazio. Analisi agli elementi finiti dei tessuti biologici dell'occhio ai fini della diagnosi del glaucoma. Tesi di laurea in Ingegneria Meccanica, Dipartimento di Meccanica; Anno Accademico 2005/06. Relatori: A. Poggialini, L. Bruno; Correlatori: G. Felice, A. Lucente. Università degli Studi della Calabria.
 - 11) Massimo A. Fazio, Rafael Grytz, Luigi Bruno, Michael J. A. Girard, Stuart Gardiner, Christopher A. Girkin, J. Crawford Downs. Regional Variations in Mechanical Strain in the Posterior Human Sclera. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, August 2012, Vol. 53, No. 9.
 - 12) Rafael Grytz, Massimo A. Fazio, Michael J.A. Girard, Vincent Libertaux, Luigi Bruno, Stuart Gardiner, Christopher A. Girkin, J. Crawford Downs. Material Properties of the Posterior Human Sclera. Preprint submitted to *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*.
 - 13) Massimo A. Fazio, Rafael Grytz, Jeffrey S. Morris, Luigi Bruno, Stuart K. Gardiner, Christopher A. Girkin, J. Crawford Downs. Age-related changes in human peripapillary scleral strain. *Biomech Model Mechanobiol*. Received: 26 February 2013 / Accepted: 17 July 2013. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013.
 - 14) Felipe A. Medeiros, Linda M. Zangwill, Christopher Bowd, Kaweh Mansouri, Robert N. Weinreb. The Structure and Function Relationship in Glaucoma: Implications for Detection of Progression and Measurement of Rates of Change. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, October 2012, Vol. 53, No. 11.
 - 15) Chauhan BC, Garway-Heath DF, Goni FJ, Rossetti L, Bengtsson B, Viswanathan AC, et al. Practical recommendations for measuring rates of visual field change in glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(4):569-573.
 - 16) Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*. 2008; 146:496–500.
 - 17) Park S.C. et al. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of deep optic nerve complex structures in glaucoma. *Ophthalmology*. 2012; 119: 3-9.
 - 18) Park H.Y., Jeon S.H., Park C.K. Enhanced depth imaging detects lamina cribrosa thickness differences in normal tension glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Ophthalmology*. 2012; 119:10-20.
 - 19) Potsaid B, Baumann B, Huang D, et al. Ultra-high speed 1050nm swept source / Fourier domain OCT retinal and anterior segment imaging at 100,000 to 400,000 axial scans per second. *Opt Express*. 2010; 18: 20029-20048.
 - 20) Takayama K, Hangai M, Kimura Y, Morooka S, Nukada M, Akagi T, Ikeda HO, Matsumoto A, Yoshimura N. Three-dimensional imaging of lamina cribrosa defects in glaucoma using swept-source optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Jul 18; 54 n° 7: 4798-4807.
 - 21) H. A. Quigley, E. M. Addicks, W. R. Green, and A. E. Maumenee, Optic nerve damage in human glaucoma. II The site of injury and susceptibility to damage. *Arch. Ophthalmol*. 99(4), 635–649 (1981).
 - 22) E. J. Lee, T. W. Kim, R. N. Weinreb, K. H. Park, S. H. Kim, and D. M. Kim. Visualization of the lamina cribrosa using enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am. J. Ophthalmol*. 152(1), 87–95, (2011).
 - 23) S. Kiumehr, S. C. Park, D. Cyril, C. C. Teng, C. Tello, J. M. Liebmann, and R. Ritch. In vivo evaluation of focal lamina cribrosa defects in glaucoma. *Arch. Ophthalmol*. 130(5), 552–559 (2012).
 - 24) H. Y. Park and C. K. Park. Diagnostic capability of lamina cribrosa thickness by enhanced depth imaging and factors affecting thickness in patients with glaucoma. *Ophthalmology* 120(4), 745–752 (2013).
 - 25) C. Torti, B. Povazay, B. Hofer, A. Unterhuber, J. Carroll, P. K. Ahnelt, and W. Drexler. Adaptive optics optical coherence tomography at 120,000 depth scans/s for non-invasive cellular phenotyping of the living human retina. *Opt. Express* 17(22), 19382–19400 (2009).
 - 26) Zach Nadler, Bo Wang, Gadi Wollstein, Jessica E. Nevins, Hiroshi Ishikawa, Larry Kagemann, Ian A. Sigal, R. Daniel Ferguson, Daniel Hammer, Ireneusz Grulkowski, Jonathan J. Liu, Mar-

- tin F. Kraus, Chen D. Lu, Joachim Hornegger, James G. Fujimoto, Joel S. Schuman. Automated lamina cribrosa microstructural segmentation in optical coherence tomography scans of healthy and glaucomatous eyes. Received 25 Jul 2013; revised 17 Oct 2013; accepted 17 Oct 2013; published 24 Oct 2013 (C) 2013 OSA 1 November 2013, Vol. 4, No. 11, Biomedical Optics Express 2596.
- 27) Munemitsu Yoshikawa, Tadamichi Akagi, Masanori Hangai, Akiko Matsumoto, Nagahisa Yoshimura. Use Of Swept-source Optical Coherence Tomography For Examining The Change In Configuration Of The Lamina Cribrosa After Glaucoma Surgery. ARVO 2012 Abstract Search & Itinerary Builder.
- 28) Crawford Downs, Michael D. Roberts, Ian A. Sigal. Glaucomatous Cupping Of The Lamina Cribrosa: A Review Of The Evidence For Active Progressive Remodeling As A Mechanism. Exp Eye Res. 2011 August;93(2): 133–140.
- 29) Lee EJ, Kim TW, Weinreb RN, Suh MH, Kim H. Lamina cribrosa thickness is not correlated with central corneal thickness or axial length in healthy eyes: central corneal thickness, axial length, and lamina cribrosa thickness. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2013 Mar; 251(3): 847-54. Epub 2012 Sep 20.

CAPITOLO 10

LA LAMINA CRIBROSA: IMAGING E BIOMECCANICA

INTRODUZIONE

La lamina cribrosa LC fa parte del tessuto sclerale. È la sede anatomica dove si ritiene avvenga il danno da IOP elevata agli assoni delle cellule ganglionari retiniche RGC Retinal Ganglion Cells (figg. 1a,1b).

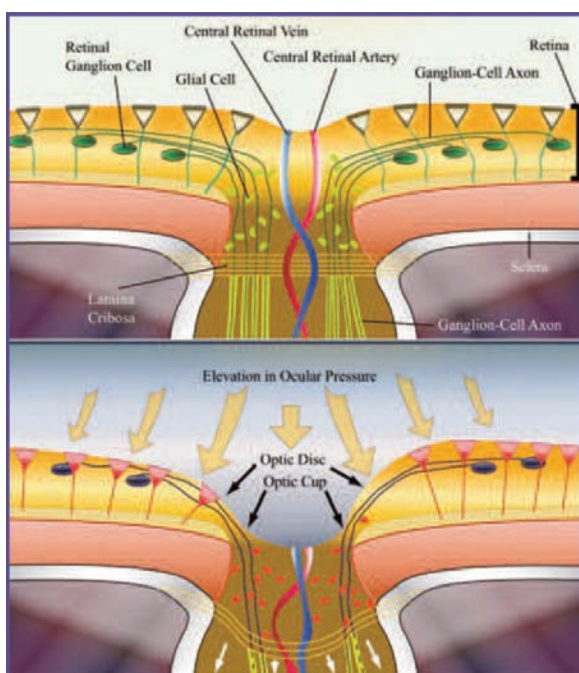


Fig. 1a - ONH prima e dopo aumento della IOP - www.powerpak.com)

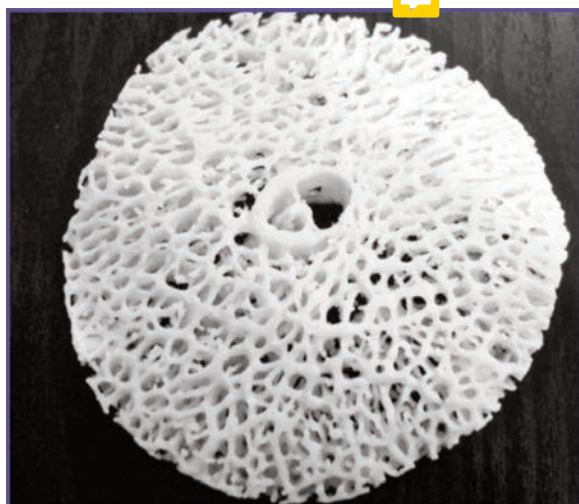


Fig. 1b - Ricostruzione plastica della lamina cribrosa - (Crawford Downs et. al.).

Con l'avvento dei nuovi device Hi-Tech la LC è oggetto di rinnovati e interessanti studi. Marian Wilczan, oftalmologo di Cracovia, nel fondamentale lavoro del 1947 *"The lamina cribrosa and its nature"*, facendo propri gli studi di E. Fuchs, la descrive per la prima volta in modo completo, dettagliato e impareggiabile. Ernst Fuchs (Kritzendorf 1930, Vienna), un secolo fa, nel 1916, definì questa struttura:

"Part of the fibres of most internal layers of the sclera is stretched over the foramen sclerae... this part when cut looks like a sieve, and therefore it is called lamina cribrosa."[1,2].

Il rinnovato interesse che le nuove tecnologie d'imaging, segnatamente gli SD-OCT, mostrano per la LC, è giustificato dall'evidenza del rapporto di causalità tra i cambiamenti strutturali che questa struttura subisce in corso di glaucoma, e il conseguente danno neuronale e funzionale [3-6]. Numerosi studi istologici su occhi di scimmie con glaucoma sperimentalmente indotto hanno dimostrato un arretramento della LC nel canale sclerale [7]. Uno spostamento posteriore della LC è stato d'altra parte osservato anche in occhi di donatori umani sani e glaucomatosi, dopo elevazione artificiale della IOP [8]. L'arretramento della LC, la formazione dell'escavazione della testa del nervo ottico ONH Optic Nerve Head, e le alterazioni anatomiche dell'area della rima neurale RA Rim Area per aumento della IOP, sono problematiche biomeccaniche ancora non chiarite pienamente, oggetto di rinnovate riflessioni con l'ausilio degli SD-OCT e, da poco tempo, con gli SS-OCT Swept Source. Importanti miglioramenti dell'imaging sono inoltre vivo con l'utilizzo delle ottiche adattive o adattative AO Adaptive Optics, indispensabili per migliorare la risoluzione finale tomografica, e il rapporto segnale/rumore *SNR Signal to Noise Ratio*, fondamentali nell'ottenere una migliore definizione, specialmente nell'imaging tridimensionale 3D. In questo capitolo si cercherà brevemente di tracciare il profilo delle più innovative linee di ricerca sulla LC, gli aspetti clinici, biomeccanici e d'imaging di questa struttura, le prospettive diagnostiche e terapeutiche che i nuovi device stanno aprendo nel management e follow-up del glaucoma.

STATO DELLE RICERCHE

Rafael L. Furlanetto et al. in un recente studio in vivo su 47 occhi glaucomatosi e 57 sani, hanno eseguito una serie di scansioni B-Scan orizzontali e verticali ad intervalli di $\sim 30 \mu\text{m}$ sull'ONH usando EDI OCT (Spec-tralis; Heidelberg Engineering, GmbH, Dossenheim, Germany) (figg. 2a, 2b, 2c).

La stereofotografia a colori (Stereo Camera Model 3-DX; Nidek, Inc., Palo Alto, CA) e la SAP Perimetria Standard Automatizzata (Humphrey Visual Field Analyzer, 24-2 Swedish interactive threshold algorithm standard strategy; Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA) sono state utilizzate per completare lo studio nei pazienti glaucomatosi.

Lo scopo dello studio era di misurare la differenza della depressione/dislocazione della LC (*Imaging Depth*) in occhi sani e glaucomatosi; per migliorare i risultati sono stati usati osservatori distinti (*cross-sectional analysis*). La riproducibilità inter e intra osservatore nel giudizio sulla posizione della LC è risultata statisticamente eccellente.

I valori medi e massimi dell'arretramento della LC sono stati maggiori nel gruppo dei glaucomatosi rispetto ai sani (438 ± 102 [range, 192–698] vs. 353 ± 70 [range, 237–522] μm , $P < 0.001$), e il valore di massima imaging depths nel gruppo dei glaucomatosi era sempre in media significativamente maggiore rispetto ai sani (570 ± 124 [range, 276–909] vs. 453 ± 81 [range, 310–

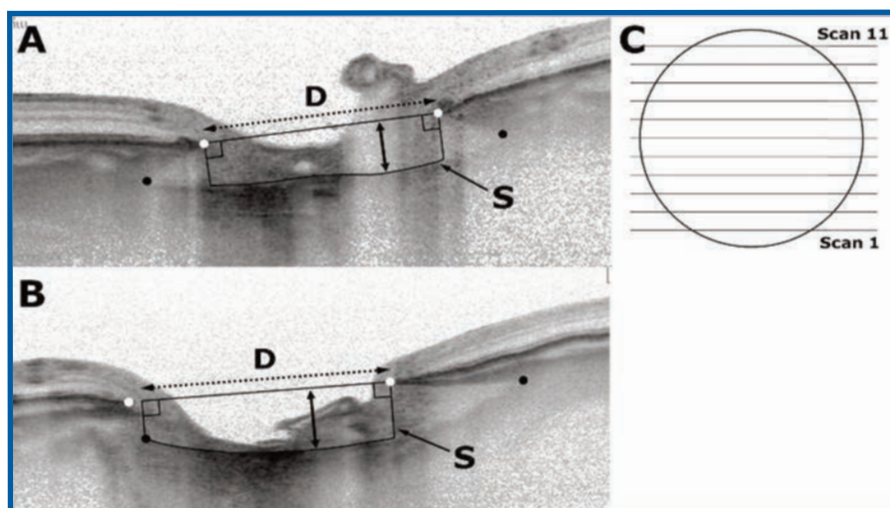


Fig. 2a - Le 11 scans EDI-OCT orizzontali a uguale distanza, visibili in C (scan 1 $\rightarrow$ 11 = inferior $\rightarrow$ superior), individuano il massimo depth della superficie anteriore della LC dalla linea tracciata dai limiti della m. Bruch (punti bianchi); i punti neri indicano le inserzioni anteriori della LC; il cerchio in C la LC e le 11 scans EDI-OCT - (Rafael L. Furlanetto et al.).

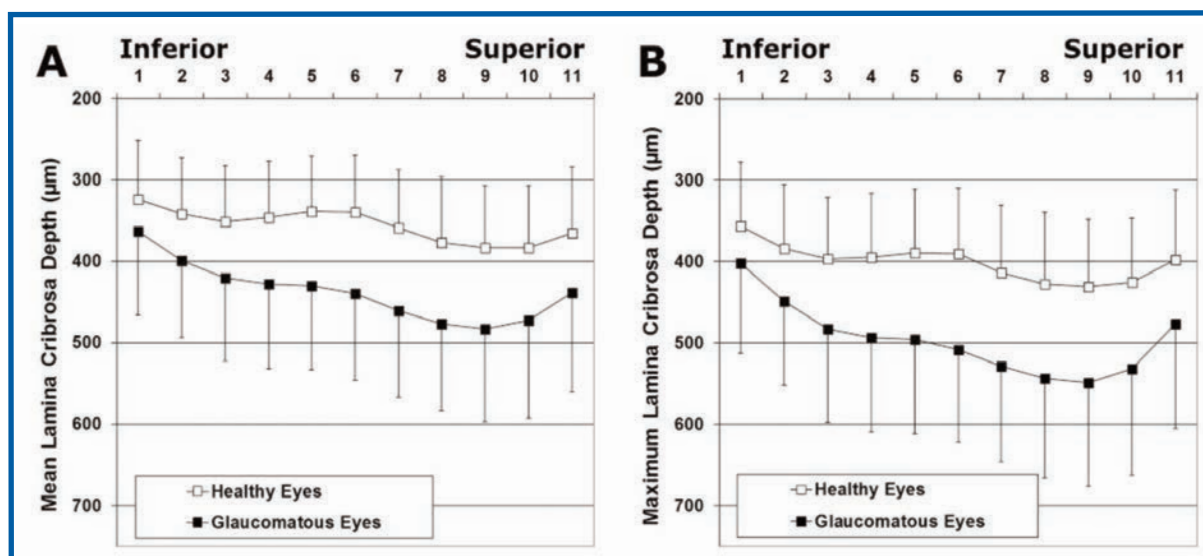


Fig. 2a - Le 11 scans EDI-OCT orizzontali a uguale distanza, visibili in C (scan 1 $\rightarrow$ 11 = inferior $\rightarrow$ superior), individuano il massimo depth della superficie anteriore della LC dalla linea tracciata dai limiti della m. Bruch (punti bianchi); i punti neri indicano le inserzioni anteriori della LC; il cerchio in C la LC e le 11 scans EDI-OCT - (Rafael L. Furlanetto et al.).

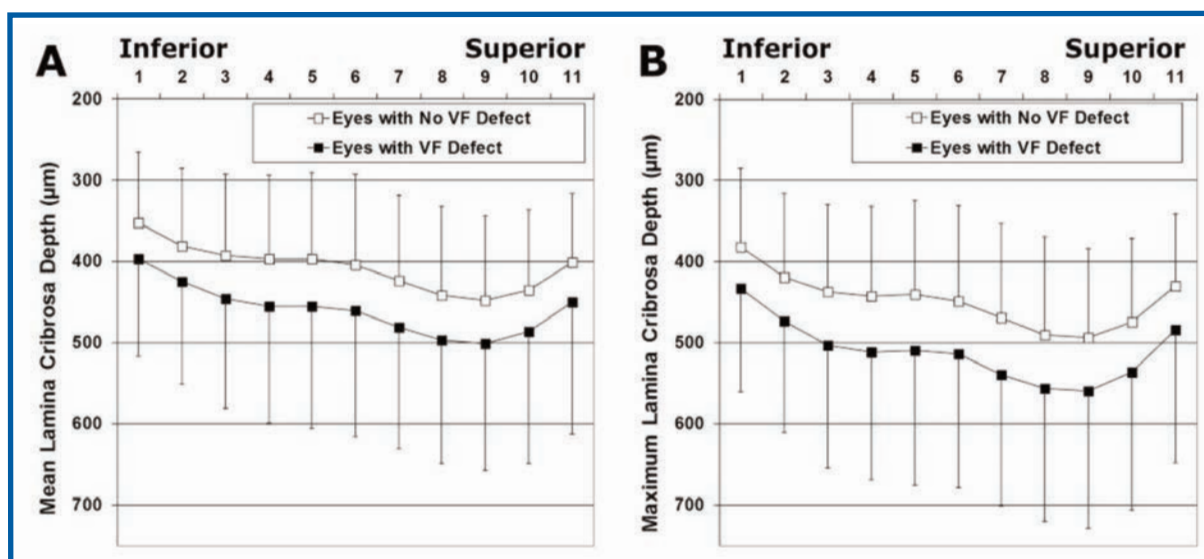


Fig. 2c - Mean e Maximum profilo-depth della superficie anteriore della LC in μm in occhi adelfi senza e con difetti al CV. Il valore medio e massimo del depth è maggiore in occhi con deficit al CV (L. Furlanetto et al.).

647] μm , $P < 0.001$) [9]. Per periodi brevi di tempo inferiori a un'ora, moderate elevazioni della IOP non comportano spostamenti rilevanti della LC in occhi umani e nei primati. In occhi di scimmia, con glaucoma sperimentalmente indotto, l'elevazione della IOP per oltre un mese provoca, invece, un significativo arretramento della LC nel contesto del canale sclerale rispetto alla posizione di base. Una conferma dello spostamento posteriore della LC è stato dimostrato anche nell'uomo in occhi glaucomatosi rispetto ai sani dopo morte [10]. Studi con modelli matematici agli elementi e ai contorni finiti *Finite Element Method FEM* svolti da Roberts, Sigal, Burgoyne et al. suggeriscono che lo Stress e lo Strain IOP dipendente possono dislocare posteriormente la LC, come conseguenza del rimodellamento del tessuto connettivo pre-laminare. In scimmie con glaucoma sperimentale si è riscontrato inoltre che la LC può ritornare nella posizione basale, se le sollecitazioni meccaniche da IOP sono di breve durata. Il comportamento della LC in questa evenienza assume caratteristiche meccaniche di tipo elastico mentre, in presenza di sollecitazioni prolungate, il suo comportamento perde d'elasticità acquisendo proprietà di tipo plastico, deformandosi irrimediabilmente [11]. Reis et al. hanno confermato nell'uomo con SD-OCT la possibilità di ritorno della LC nella posizione di base dopo intervento filtrante di trabeculectomia [12].

C. K. S. Leung, J. Woo, M. K. Tsang e K. K. Tse avevano già dimostrato nel 2006 un comportamento simile in un Case Report, documentandolo con OCT Stratus, fotografia a colori della papilla ottica e campo visivo HFA, prima e dopo sette giorni dalla trabeculectomia. Questi ricercatori evidenziarono la reversibilità del danno strutturale sull'ONH, il ripristino dei valori del Cup/Disc (da 0.726 a 0.089), dello spessore del RNFL (da 74,5 μm a 117 μm) e delle capacità funzionali al CV (PSD da 3.99 a 1.99 DB) [13]. Nuove prove della reversibilità della coppettazione della LC sono state riferite, più recentemente, da C. Barrancos et al. quali, dopo sclerectomia profonda non penetrante e l'uso di EDI-OCT, hanno dimostrato la reversibilità del Cup/Disc per inspessimento del tessuto prelaminare piuttosto che per riposizionamento delle inserzioni della LC [14] (fig. 3).

In numerosi studi è stato inoltre notato che i difetti del CV sono spesso associati a una disposizione più arretrata della LC, rispetto ad occhi sani senza alterazioni campimetriche. La grande variabilità anatomica dei dischi ottici rende tuttavia ogni standardizzazione quanto mai difficile e limitata. Dove ricerche su grandi numeri sono necessarie per stabilire limiti e possibilità interpretative, al fine di poter disporre nei Report Glaucoma, d'informazioni statisticamente utili con database normativi validamente certificati. La complessità anatomica della LC non è, infatti, da sottovalutare. Studi d'immunocitochimica e al mi-

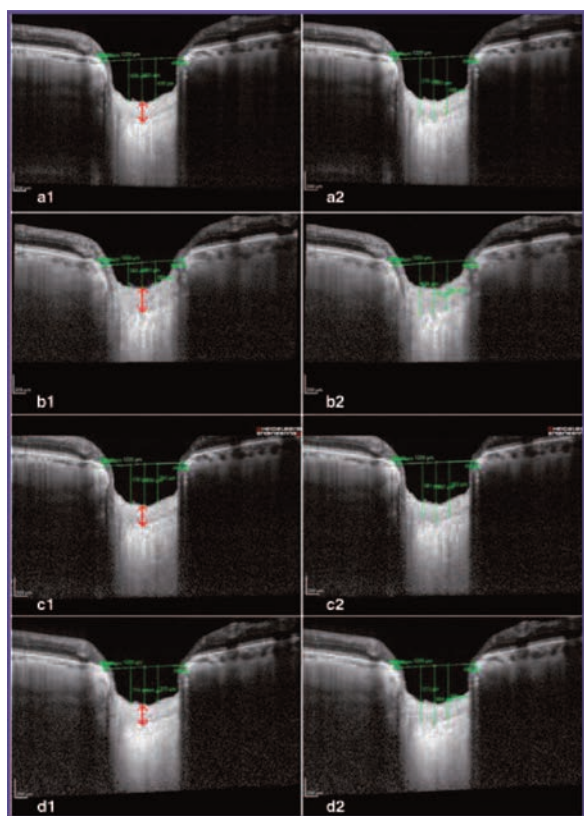


Fig. 3 - Immagini ottenute prima (a1, a2) e dopo chirurgia, a 7 gg (b1, b2), 30 gg (c1, c2) e 90 gg (d1, d2). Dopo chirurgia la IOP si è ridotta da 18mmHg a 6mmHg dopo 7 gg, a 13mmHg dopo 30 gg, a 14mmHg dopo 90 gg. La linea orizzontale di riferimento connette i limiti della m. di Bruch; tre linee verticali congiungono la linea di riferimento con la superficie anteriore del Cup (a1,b1,c1) e la superficie anteriore della LC (a2,b2,c2). Lo spessore del tessuto prelaminare (freccia rossa) e il Cup migliorano molto in b1, in modo lieve in b2; lo spessore prelaminare e il Cup decrescono a 30 gg (c1,c2) e a 90 gg (d1,d2) dopo chirurgia - (Carrancos et al.).

croscopio elettronico di Elkington A.R. et al. [15]. In occhi rimossi chirurgicamente e/o donati da banche degli occhi, ne confermano la complessità macroscopica ed istologica. La LC è caratterizzata da una trama di fibre collagene, arrangiate spesso tangenzialmente, frammiste ad astrociti e ad altre cellule, genericamente denominate cellule della lamina cribrosa. Gli assoni delle RGCs, immersi nella miriade di pori di diametro variabile tra 40 e 220 μm , sono in stretto rapporto con gli elementi cellulari descritti. L'intima relazione tra astrociti, assoni neurali gangliari, cellule della lamina cribrosa e tessuto connettivo laminare, in modo particolare nella parte posteriore della LC, è ancora oggetto di discussione, non compresa funzionalmente in modo completo [15]. Un esame della letteratura sui potenziali meccanismi che causano i cambiamenti anatomici macroscopici e cellulari dell'ONH nell'Early e nell'Advanced Glau-

coma, mette in risalto il ruolo non secondario della matrice extracellulare laminare, che avvolge la LC completamente. Crawford, Roberts e Sigal, in una loro recente Review sui dati ricavati da modelli biomeccanici elaborati con calcoli FEM sulla regione papillare e la LC, esprimono le seguenti conclusive considerazioni [16]:

- L'esistenza di un esteso rimodellamento della LC e della matrice extracellulare laminare IOP dipendente;*
- La scarsa evidenza scientifica del danno meccanico nell'ipertono acuto come causa dell'escavazione del disco ottico;*
- La sensibilità degli astrociti e delle cellule della lamina cribrosa agli stimoli della IOP, con rimodellamento della matrice extracellulare laminare;*
- Il rimodellamento cellulo-mediato, IOP dipendente, come fattore determinante per l'inserzione progressivamente più arretrata della LC nel canale sclerale;*
- L'esistenza di meccanismi di feedback nell'omeostasi dell'ONH.*

Non è ancora stato definito pienamente come l'ipertono acuto possa incidere sulla deformazione della LC; è invece dimostrato che cronici aumenti della IOP in occhi di scimmia, determinano cambiamenti strutturali nella LC di seguito elencati [17,18]:

- 1) Ispessimento complessivo della LC (20-61 micron, Yang et al. 2007, 2011);*
- 2) Aumento dell'escavazione della LC (25-233 micron, Yang et al. 2007, 2011);*
- 3) Aumento del volume del tessuto connettivo (44%-82%, Roberts et al. 2009);*
- 4) Aumento del numero dei fasci laminari nello spessore della LC (17%-48%, Roberts et al. 2009);*
- 5) Migrazione posteriore dei punti d'inserzione della LC (Yang et al. 2010);*
- 6) Migrazione posteriore dei punti d'inserzione anteriori della LC (Yang et al. 2010).*

Tutti questi cambiamenti strutturali, anche se sperimentalmente accertati, assumono un importante ruolo nella fisiopatologia dell'evoluzione del glaucoma. Il mondo Hi-Tech sta cercando di indagare con EDISD, da poco, con i nuovi tomografi a lunghezza d'onda modificata Swept Source

SS-OCT, gli aspetti strutturali e funzionali della LC in vivo. Lo studio biomeccanico della LC, come riferito, è stato da tempo intrapreso sperimentalmente. Solo di recente però è possibile avere direttamente sui pazienti una visione più completa della LC, del suo spessore, del numero e diametro medio dei pori, dello spessore della matrice prelaminare. Non è difficile intuire che queste nuove possibilità d'imaging provocheranno importanti e inevitabili ripercussioni nella diagnosi, terapia e prognosi del glaucoma.

Un argomento d'interesse ai fini biomeccanici è stabilire la relazione tra danno strutturale della RA e deficit funzionale al CV, poiché l'area neurale dell'ONH sembra essere per prima interessata dalla IOP elevata. Saman Kiumehr et al. hanno utilizzato EDI-OCT (Spectralis; Heidelberg Engineering GmbH) con Bscan verticali e orizzontali ad intervalli di $\sim 30 \mu\text{m}$, la stereofotografia a colori dell'ONH (Stereo Camera Model 3-DX; Nidek Inc) e la perimetria SAP (Standard Automated Perimetry Humphrey Visual Field Analyzer, 24-2 Swedish interactive threshold algorithm standard strategy, Carl Zeiss Meditec Inc) per una durata di sei mesi, nell'intento di verificare la relazione tra la RA e difetti del CV in una serie di 46 soggetti sani e 31 glaucomatosi [19] (figg. 4, 5).

In questo studio hanno riscontrato che il danno meccanico sulla LC può determinare un deficit localizzato (*focal loss*) delle fasce laminari e arrivare, con il perdurare di IOP elevate, alla formazione di deficit strutturali più importanti, veri "pit acquisiti", oppure determinare "notching" della RA con conseguenti deficit funzionali. Gli autori terminano confermando l'importanza della IOP nel determinare il danno laminare attraverso lo Stress meccanico crosssezionale dovuto alla forza per unità di superficie, e lo *Strain* (*deformazione*) dei tessuti della LC, dovuto al cambiamento di forma, per influenza della IOP. Stress e Strain sono epifenomeni biomeccanici attraverso cui si attuano i cambiamenti della LC, della RA e il danno ganglio-assonale finale. Stress e Strain agiscono, naturalmente, con intensità variabile secondo la struttura e forma della superficie/area su cui esplicano la loro azione, oltre che per la durata della loro applicazione. Si comprende bene, infatti, come la IOP determini uno Stress relativamente omogeneo su una parete sclerale abbastanza regolare (*Scleral Shell*), mentre distribuisca carichi non omogenei sull'ONH e la LC. Lo Strain, in buona

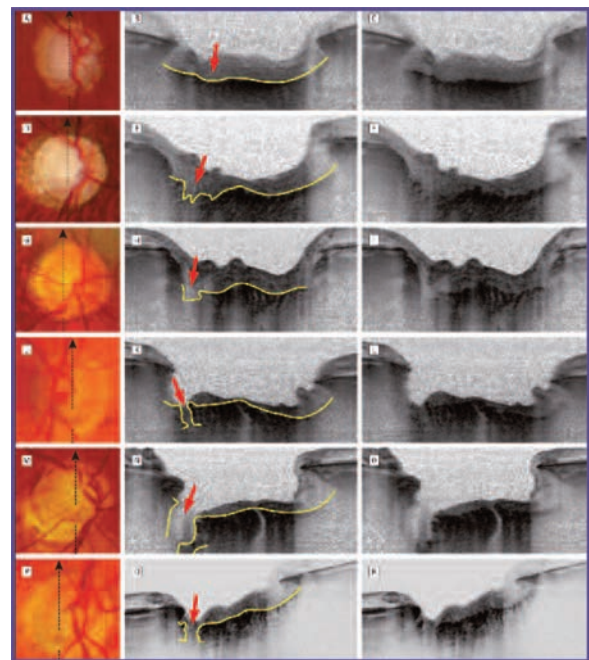


Fig. 4 - Difetti glaucomatosi (EDI-OCT) della LC di varia forma, profondità e dimensioni, con (B, E, H, K, N e Q frecce rosse) e senza linee di demarcazione (F, I, L, O e R). Il pit acquisito del ONH infero-temporale nella foto (J, M e P), corrisponde al difetto focale in OCT. Le linee tratteggiate con frecce nelle foto indicano i cross-sectional OCT (A, D, G, J, M e P). Le linee continue gialle indicano la superficie anteriore e i difetti focali laminari della LC (B, E, H, K, N e Q) - Saman Kiumehr et al.).

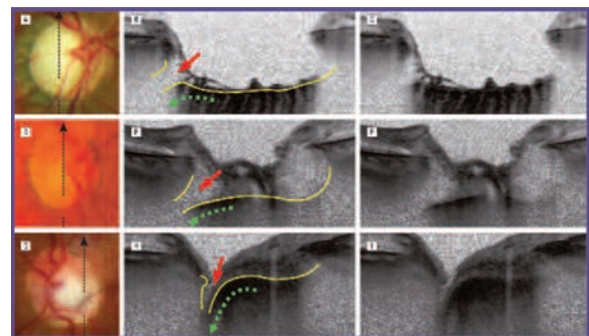


Fig. 5 - Alterazioni localizzate della inserzione della LC (EDI-OCT) in glaucoma a vari gradi di profondità, identificate con (B, E, and H frecce rosse) e senza linee di demarcazione (C, F, e I). Il pit acquisito infero-temporale del ONH (G) della foto corrisponde alla disinserzione focale della LC in OCT. Le scansioni cross-sectional OCT sono indicate con linee tratteggiate e frecce nere (A, D e G), la superficie anteriore e i difetti focali della LC con linee continue, la disinserzione della LC con frecce tratteggiate verdi (B, E e H) - Saman Kiumehr et al.).

sostanza, rileva la deformazione, espressa in percentuale, del cambiamento in lunghezza geometrica del tessuto sottoposto a Stress; lo Stress è la forza, il carico diretto e/o applicato sui tessuti, trasmesso o caricato. Due occhi con la medesima IOP possono subire differenti Stress e Strain per la diversa rigidità e forma dei tessuti sottoposti. In particolare, l'area peripapillare della sclera è particolarmente vulnerabile alla IOP: è il luogo

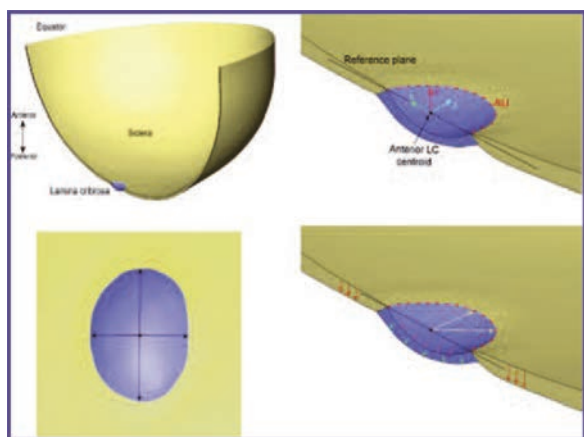


Fig. 6 - Modello biomeccanico delle forze operanti sulla sclera e la regione della LC (Bourgoin).

dove la Scleral Shell **meccanica** e trasmette maggiormente il suo “carico di parete” (fig. 6) [19].

Le sezioni superiori e inferiori della superficie della LC hanno pori con maggior diametro e tessuto connettivo più sottile, dato che complica ulteriormente i calcoli biomeccanici di carico. Nelle regioni inferiori e inferotemporali della LC inoltre, la densità del collagene è minore rispetto alle altre regioni. I maggiori difetti focali della LC sono stati, infatti, trovati nelle aree inferiori e superiori, raramente nei settori temporali e nasali a 45°. Nello studio citato risulta inoltre che 83% dei difetti focali della LC sono reperibili nell'estrema periferia della sua area. Come dimostrato in altri accreditati studi, anche questi autori sospettano una concausa bioumorale nella degenerazione del tessuto laminare e degli assoni: l'attivazione cioè, Stress e/o Strain dipendente degli astrociti, con conseguente cascata immunogenetica, produzione di citochine, presentazione di antigeni e citotossicità neurale finale degli assoni ganglionari. Wenbin Huang et al. in una recente pubblicazione, considerando la mancanza di certezze sui meccanismi del danno assonale, e il dato che negli occhi glaucomatosi il collagene nel trabecolato camerulare, nella sclera e nella LC è più assottigliato che negli occhi sani, si sono posti l'interessante e non peregrino interrogativo se i cambiamenti di spessore e struttura di questo tessuto fossero direttamente legati all'elevata IOP o, al contrario, una condizione primaria, e l'aumento della IOP, una conseguenza [20]. Gli autori pongono il seguente quesito:

“However, are these changes the result of elevated intraocular pressure (IOP) or are they the primary original factors causing glaucoma?”.

La questione è tutt'altro che secondaria, con implicazioni non intuibili allo stato attuale delle conoscenze, e interessa in prima linea il trabecolato angolare *trabecular meshwork*. Si ritiene da più parti che la composizione istochimica e istologica della matrice extracellulare del trabecolato camerulare sia essenziale nel permettere il normale deflusso dell'acqueo. La similitudine strutturale e biochimica fra trabecolato e LC è a tutti nota. Paragonando la rigidità del tessuto trabecolare di occhi normali e glaucomatosi, Last et al. hanno dimostrato che, in presenza di glaucoma, la rigidità di questo tessuto è significativamente maggiore, risultato di una probabile “*dysregulation*” nel turnover della matrice extracellulare [21]. L'aumento della rigidità e la conseguente diminuzione dell'elasticità dei tessuti trabecolari angolari contribuiscono, in modo ancora non quantificato, a ridurre la portata del deflusso dell'acqueo [22].

In particolare, alterazioni nel turnover del collagene provocano ritardi/disfunzioni nell'idrolizzazione delle metalloproteinasi presenti nella matrice extracellulare, con accumulo anormale di collagene di tipo I [23]. Questi studi e altre indicative prove sperimentali avvalorano la tesi che le caratteristiche istochimiche del collagene, in particolare nella matrice extracellulare, possano essere il “*primum movens*” del danno glaucomatoso. L'aumento della IOP, le deformazioni della LC e l'assottigliamento della RA sarebbero, in qualche modo, una conseguenza, una meiopragia primitiva del collagene sclerale.

LAMINA CRIBROSA E TRABECOLATO SCLERALE

Altre possibili correlazioni fra trabecolato sclerale e lamina cribrosa, paragonabili entrambi a sistemi frattali, sono state da tempo evidenziate negli iniziali studi di Anders Bill del 1975, che dimostrarono come il deflusso dell'acqueo avveniva per 80% 90% attraverso le maglie del trabecolato camerulare, e il restante 10% 20% attraverso il corpo ciliare o vie alternative [24]. La regione iuxtacanalicolare, con la parete interna del Canale di Schlemm e il sottostante trabecolato iuxtacanalicolare, è il luogo dove avviene la fine regolazione del deflusso dell'acqueo [25]. Questa regione è una struttura in continuo divenire; la matrice extracellulare in particolare subisce costanti rimodellamenti. Recentemente si è riscontrato nel suo interno e nella regione iuxtacanalicolare, con mag-

giore frequenza in occhi con POAG Primary Open Angle Glaucoma, la presenza di elastina, collagene e proteoglicani, agglomerati in placche amorphe (*sheath-derived plaques*) in quantità maggiore rispetto a occhi coevi senza glaucoma.

Trovare tali depositi in occhi non trattati farmacologicamente fa supporre che non si tratti di artefatti iatrogeni. Il concorso di diversi fattori, come l'omeostasi della matrice extracellulare, la modifica dell'actina del citoscheletro trabecolare, l'attivazione delle cellule del trabecolato iuxtacanalicolare e delle cellule nelle pareti interne del canale di Schlemm, oltre la possibile variazione del numero/dimensioni dei pori del trabecolato, possono insieme sommarsi, e determinare, in percentuale differente, la quantità/qualità del deflusso dell'acqueo. La presenza delle placche amorphe apporta nuove variabili al deflusso, da stabilire ancora pienamente. Douglas Rhee et al. hanno scoperto l'esistenza nelle maglie del trabecolato di una nuova sostanza, una proteina ricca in cisteina, denominata SPARC Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteina.

Anch'essa sembra possa avere un'importante funzione nella regolazione della IOP e nella patogenesi del POAG [26]. La speranza della ricerca è di verificare come la SPARC e gli altri composti possano influenzare l'aumento della IOP, e modificare il deflusso finale dell'acqueo. Numerose evidenze sperimentali in occhi sani hanno accertato, infatti, il coinvolgimento dell'omeostasi della matrice extracellulare come determinante nel POAG, con incremento/rallentamento del suo turnover, geneticamente determinato, riscontrabile nei cambiamenti delle terminazioni cromosomiche coinvolte (*telomeri*). Integrare tutti i dati che le ricerche stanno portando alla luce, per una piena comprensione fisiopatologica dell'ipertono oculare, sarà impegno gravoso per la ricerca, di non facile risoluzione, almeno nel breve termine.

LAMINA CRIBROSA IMAGING

Uma J. Damle et al. in un recente lavoro apparso su ARVO 2013 ha dimostrato che la LC con l'aumento dell'età, in condizioni normali, non cambia posizione nel canale sclerale. I suoi spostamenti (*depths*) sono sempre associati a processi patologici, segnatamente nel follow-up del POAG. Usando EDI-OCT (*reference plane Bruch's membrane edges, Bruch's Membrane Opening BMO*) gli autori hanno studiato 86 soggetti divisi in tre

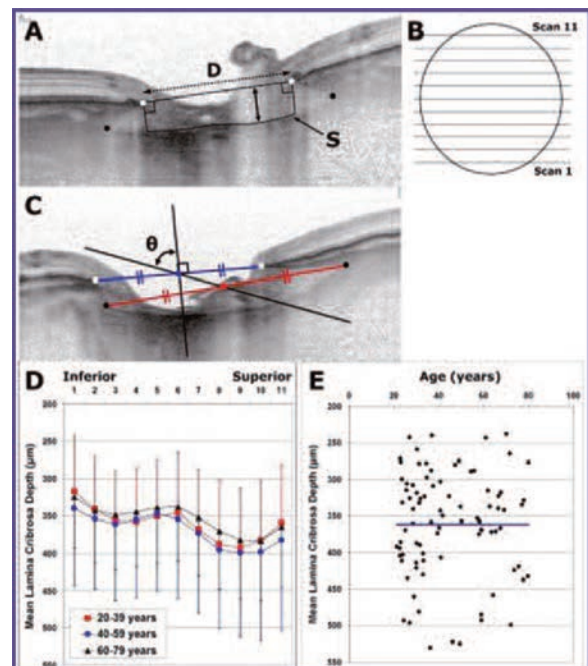


Fig. 7 - A Punti bianchi = limiti della m. di Bruch; Punti neri = inserzione anteriore della LC; Doppia freccia nera=massimo Depth LC; Depth medio = area S/lunghezza D. B Cerchio = LC. C θ = angolo laterale di spostamento della LC al centro delle scan; Punti Blu = linea tra i bordi m. Bruch; Punti Rossi = linea tra le inserzioni della LC. D Depth medio nei tre gruppi per età. E Scatter Plot per età versus Depth medio per età (Uma J. Damle et al.).

gruppi: un primo gruppo di 20-39 anni, un secondo di 40-59 anni e un terzo di 60-79 anni. La depressione della LC "*LC depths*" nei tre gruppi era simile; il valore medio della LC depths era rispettivamente di 360 ± 72 (range, 239 to 530) μm , 369 ± 76 (range, 274 to 524) μm e 354 ± 72 (range, 237 to 499) μm ($p=0.78$). Da questi dati consegue una limitata influenza dell'età come fattore di rischio nel POAG nella biomeccanica della LC (fig. 7) [27].

A supporto di questi studi, Amitabha Bhakta et al. hanno trovato differenze non statisticamente significative nei parametri anatomici dell'ONH tra un gruppo di giovani (20/30 anni) e meno giovani (≥ 50 anni) in buona salute. In particolare, non c'erano differenze nella lunghezza media della MRW Mean minimum Rim Width (317.6 ± 50.0 mm vs 289.8 ± 43.0 mm, $P=.08$), non c'era differenza nel PTV Prelaminar Tissue Volume (1.04 ± 0.16 mm³ vs 0.95 ± 0.16 mm³ $P=.16$), così come nella ALCS Anterior Lamina Cribrosa Surface, tra il gruppo dei più giovani (363.9 ± 78.4 μm) e quello dei più anziani (352.7 ± 75.71 μm) ($P=.96$). L'area media dei pori della LC era in pratica sovrapponibile tra i due gruppi (young = 2055 ± 561 μm^2 , older = 2292 ± 744 μm^2). Anche questa ricerca fa emergere come l'età sia poco rilevante come fattore di

rischio nel POAG nei confronti dei parametri strutturali dell'ONH; l'aumento della IOP si conferma il maggior fattore di rischio [28].

Dong Won Paik et al. hanno dimostrato nell'uomo il ruolo non secondario dello spessore della LC per il POAG. Al crescere dell'età lo spessore della LC decresce e tale diminuzione costituirebbe un fattore di rischio per danni da IOP no-target, utile anche nella prognosi a lungo tempo [29] (fig. 8).

Questi dati finalmente esaltano il ruolo strutturale e biomeccanico delle pareti, profondità e volume dell'escavazione per la papilla ottica, e del volume e del *CTVF Connective Tissue Volume Fraction*, differenziale volumetrico connettivo/vuoto, per la LC [30].

Lo studio della LC resta comunque difficoltoso, ancora limitato con gli attuali Spectral Domain, nonostante la modalità EDI; molta altra strada deve essere percorsa nello studio complessivo di tutte le variabili biomeccaniche della LC. A simili conclusioni sono arrivati Nicholas G. Strouthidis et al. che hanno paragonato HDOCT Cirrus Zeiss e SD-OCT Spectralis Heidelberg, con e senza modalità EDI, con DR1 OCT Topcon, unico SS-OCT per ora in commercio per il segmento posteriore (Topcon Deep Range Imaging DRI, OCT1 Atlantis 3D SS OCT, Topcon Medical Systems, Oakland, N.J.); il Casia SS-1000 è l'unico SS-OCT sul mercato dedicato al segmento anteriore (Tomey, Nagoya, Japan).

L'AO è stata utilizzata dagli autori in tutti i device per migliorare l'attenuazione della luce e la visibilità della LC. La combinazione di AO e OCT risale a oltre un decennio. L'unione di queste due tecnologie Hi-Tech sta subendo importanti acce-

lerazioni al fine di migliorare la risoluzione laterale e quella in profondità, con possibili definizioni di $3 \times 3 \times 3 \mu\text{m}^3$ e grande velocità d'esecuzione [31]. Gli autori riferiscono che l'uso di AO, più che la modalità EDI, migliora, in modo decisivo, la visibilità della LC e delle sue inserzioni. La faccia posteriore della LC rimane per ora non visibile completamente, con scarse possibilità di stabilire in modo standardizzato il suo intero spessore. DR1 OCT con AO si è comunque dimostrato il migliore tra i device utilizzati per lo studio della LC [32].

La tomografica Swept Source con lunghezza d'onda a 1040 nm permette, infatti, un'Imaging Depth che si sposta da 2,3mm/2300 μm a 2,6mm/2600 μm . La maggiore imaging in profondità potrebbe permettere una visione completa della LC su entrambe le facce, l'interna verso gli assoni e l'esterna verso il liquido cefalorachidiano. La profondità media della LC nel canale sclerale, in soggetti sani senza difetti rifrattivi importanti è, infatti, di 300/350 μm ; a questa profondità si deve sommare lo spessore medio della LC, 300/350 μm . Gli attuali Spectral OCT, con un'Imaging Depth di 2,3mm/2300 μm , potrebbero, quindi, arrivare ad offrire una visione soddisfacente della LC. La risoluzione finale di un device nel tessuto da esaminare non è, però, soltanto Imaging Depth!

ULTIMATE GOAL E CONSIDERAZIONI FINALI

L'elaborazione di un innovativo algoritmo denominato SSADA Split-Spectrum Amplitude Decorrelation Angiography elaborato da Optovue, permette agli SDOCT, per diminuzione del noise, la visualizzazione della vascolarizzazione della corio-retina e dell'ONH in vivo, senza bisogno di alcun mezzo di contrasto [33].

Quest'algoritmo troverà la massima applicazione negli SS-OCT; Optovue comunque sta dotando con SSADA il suo SD-OCT RTVue Avanti, ultimo tomografo nato di questa casa. Le immagini dell'angiografia OCT senza contrasto sono tutte ancora da studiare e assimilare, specie per l'ONH. La possibilità di avere immagini indirette della vascolarizzazione della retina e dell'ONH senza contrasto, avrà vantaggi e ricadute diagnostiche in un prossimo futuro, ancora tutte da verificare, ma sicuramente positive.

Il filone della patogenesi vascolare del POAG non è stato del resto mai abbandonato. Grande stimolo in questa direzione si è avuto con gli

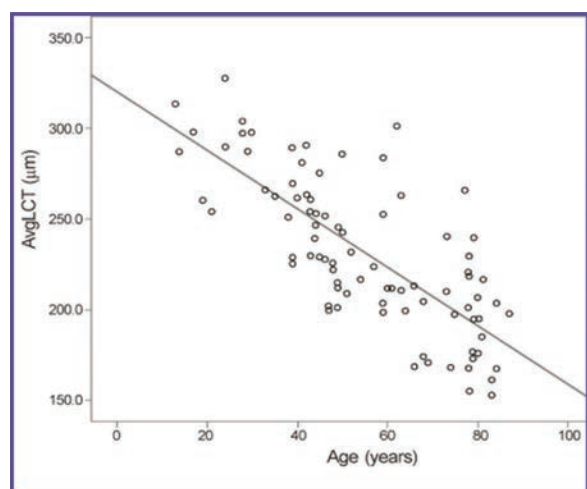


Fig. 8 - Rapporto tra thickness della LC in μm e l'età - Dong Won Paik et al.).

studi e ricerche sviluppate in Italia nel Reparto di Fisiopharmacologia Oculare istituito da G.B. Bietti nella Clinica Oculistica di Roma La Sapienza nel 1966, magistralmente diretto da Michele Virno e Maria Josè Pecori Giraldi, fonte  ntifica delle più impegnate nella definizione farmacocinetica dei farmaci ipotensivi oculari, a cominciare dai betabloccanti. Gli accorgimenti tecnologici discussi miglioreranno sicuramente ed enormemente la capacità finale di risoluzione degli SD-OCT, e potranno dare risposte più esaurienti anche all'ipotesi vascolare del POAG, sempre attuale.

La compensazione delle aberrazioni ottiche che le AO, come discusso, consentono, determina una migliore risoluzione finale per riduzione del rumore di fondo, amplificato particolarmente nell'Imaging Depth, 3D ed En-face, con dettagli risolutivi decisivi nell'analisi della superficie posteriore della LC e dei suoi bordi. Gli SD-OCT in un prossimo futuro, a mio parere, saranno sempre più integrati con AO. Una probabile lievitazione dei costi finali è inevitabile e scontata (si stima in 15.000\$ il costo aggiuntivo per avere AO sui device); ogni ditta si sta muovendo verso queste nuove possibilità Hi-Tech. La Zeiss, che ha iniziato l'era degli OCT, ha in avanzato studio un SS-OCT con  promettenti alte performance, sul mercato  imamente.

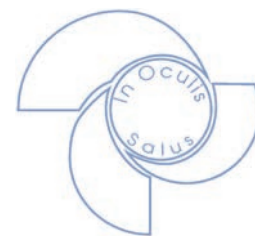
La necessità degli Spectral di interfacciarsi con le AO o di ricorrere ad algoritmi come SSADA, evidenza da un lato la duttilità di questa tecnologia  ma, anche, il suo limite di sviluppo, ormai al massimo delle potenzialità diagnostico-risolutive. I tempi tecnici necessari per una piena maturazione e cooperazione a tutto tondo del mondo Hi-Tech, credo non saranno lunghi. Interessi economici di mercato faranno la loro parte nell'abbreviare ogni possibile connubio tecnologico. Un affascinante scenario, scrutabile all'orizzonte, ancora una volta rivoluzionerà le nostre conoscenze.

La LC avrà sicuramente ancor di più un ruolo determinate nell'imaging tomografica del POAG, offrendoci migliori possibilità diagnostiche per iniziare più precoci ed efficaci terapie.

REFERENCES

- 1) Fuchs E. Lamina Cribrosa. Graefe Arch. f. Ophthal, Vol. XCI, p, 435, 1916.
- 2) Wilczek M. The lamina cribrosa and its nature. Br J Ophthalmol. 1947; 31:551–565.
- 3) Quigley H, Anderson DR. The dynamics and location of axonal transport blockade by acute intraocular pressure elevation in primate optic nerve. Invest Ophthalmol. 1976; 15: 606–616.
- 4) Minckler DS, Bunt AH, Johanson GW. Orthograde and retrograde axoplasmic transport during acute ocular hypertension in the monkey. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1977; 16: 426–441.
- 5) Quigley HA, Addicks EM. Regional differences in the structure of the lamina cribrosa and their relation to glaucomatous optic nerve damage. Arch Ophthalmol. 1981; 99: 137–143.
- 6) Quigley HA, Addicks EM, Green WR, Maumenee AE. Optic nerve damage in human glaucoma. II. The site of injury and susceptibility to damage. Arch Ophthalmol. 1981; 99: 635–649.
- 7) Yang H, Williams G, Downs JC, et al. Posterior (outward) migration of the lamina cribrosa and early cupping in monkey experimental glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011; 52: 7109–7121.
- 8) Yan DB, Coloma FM, Metheetrarut A, Trope GE, Heathcote JG, Ethier CR. Deformation of the lamina cribrosa by elevated intraocular pressure. Br J Ophthalmol. 1994; 78: 643–648.
- 9) Rafael L. Furlanetto, Sung Chul Park, Uma J. Damle, Sandra Fernando Sieminski, Yungtai Kung, Nora Siegal, Jeffrey M. Liebmann, Robert Ritch. Posterior Displacement of the Lamina Cribrosa in Glaucoma: In Vivo Inter-Individual and Inter-Eye Comparisons. IOVS Papers in Press. Published on June 18, 2013 as Manuscript iovs.12-11530.
- 10) Hongli Yang, Galen Williams, J. Crawford Downs, Ian A. Sigal, Michael D. Roberts, Hilary Thompson, Claude F. Burgoyne. Posterior (Outward) Migration of the Lamina Cribrosa and Early Cupping in Monkey. Experimental Glaucoma. Investigative Ophthalmology & Visual Science, September 2011, Vol. 52, No. 10.
- 11) Roberts MD, Sigal IA, Liang Y, Burgoyne CF, Downs JC. Changes in the biomechanical response of the optic nerve head in early experimental glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010; 51: 5675–5684.
- 12) Reis AS, O'Leary N, Stanfield MJ, Shuba LM, Nicolela MT, Chauhan BC. Laminar displacement and prelaminar tissue thickness change after glaucoma surgery imaged with optical coherence tomography. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012; 53: 5819–5826.
- 13) C K S Leung, J Woo, M K Tsang, K K Tse. Structural and functional recovery in juvenile open

- angle glaucoma after trabeculectomy. *Eye (Lond)*. 2006 Jan; 20(1):132-4.
- 14) C Barrancos, G Rebolleda, N Oblanca, C Cargara, FJ Muñoz-Negrete. Changes in lamina cribrosa and prelaminar tissue after deep sclerectomy. *Eye* (2014) 28, 58–65 2014.
 - 15) Elkington AR, Inman CB, Steart PV, Weller RO. The structure of the lamina cribrosa of the human eye: an immunocytochemical and electron microscopical study. *Eye (Lond)*. 1990; 4 (Pt 1):42-57.
 - 16) Crawford Downs J, Roberts MD, Sigal IA. Glaucomatous cupping of the lamina cribrosa: a review of the evidence for active progressive remodeling as a mechanism. *Exp Eye Res*. 2011 Aug;93(2):133-40. Epub 2010 Aug 11.
 - 17) Rafael Grytz, Ian A. Sigal, Jeffrey W. Ruberti, Günther Meschke, J. Crawford Downs. Lamina Cribrosa Thickening in Early Glaucoma Predicted by a Microstructure Motivated Growth and Remodeling Approach. *Mech Mater*. 2012 January 1; 44: 99–109. 2011.07.004.
 - 18) Tae-Woo Kim, Eun Ji Lee and Robert N. Weinreb. Reversal of lamina cribrosa displacement after trabeculectomy. *International Glaucoma Review (Meeting) Reports (IGR 13-4 April, 2012)*.
 - 19) Saman Kiumehr, Sung Chul Park, Syril Dorairaj, Christopher C. Teng, Celso Tello, Jeffrey M. Liebmann, Robert Ritch. In Vivo Evaluation of Focal Lamina Cribrosa Defects in Glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 2012; 130(5):552-559.
 - 20) Wenbin Huang, Qian Fan, Wei Wang, Minwen Zhou, Alan M. Laties, Xiulan Zhang. Collagen: A potential factor involved in the pathogenesis of glaucoma. *Med Sci Monit Basic Res*, 2013; 19: 237-240.
 - 21) Last JA, Pan T, Ding Yet al. Elastic modulus determination of normal and glaucomatous human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011; 52: 2147–52.
 - 22) Fuchshofer R, Tamm ER. Modulation of extracellular matrix turnover in the trabecular meshwork. *Exp Eye Res*, 2009; 88: 683–88.
 - 23) Aihara M, Lindsey JD, Weinreb RN. Ocular hypertension in mice with a targeted type I collagen mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003; 44: 1581–85.
 - 24) Bill A. Editorial: the drainage of aqueous humor. *Invest Ophthalmol*. 1975;14(1):1-3.
 - 25) Seiler T, Wollensak J. The resistance of the trabecular meshwork to aqueous humor outflow. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1985;223(2):88-91.
 - 26) By Ayan Chatterjee, Dong-Jin Oh, Min Hyung Kang, Ramez Haddadin, Guadalupe Villarreal, Marc Töteberg-Harms, Swarup S. Swaminathan, Douglas J. Rhee. The Role of SPARC in Trabecular Meshwork Extracellular Matrix Turnover and IOP Regulation. *Glaucoma Today* september/october 2012.
 - 27) Uma J. Damle, Sung Chul Park, Rafael L. Furlanetto, Nora Siegal, Christopher C. Teng, Jeffrey M. Liebmann, Robert Ritch. Lamina Cribrosa Position and Age. *ARVO 2013 Annual Meeting Abstracts by Scientific Section/Group – Glaucoma*.
 - 28) Amitabha S. Bhakta, Nripun Sredar, Danica Marrelli, Hope M. Queener, Jason Porter. In vivo examination of lamina cribrosa microarchitecture and optic nerve head morphology in normal human eyes with age. *ARVO 2014 Annual Meeting Abstracts*.
 - 29) Dong Won Paik, Joo Hwa Lee, Jae Suk Kim. Age-Related Changes in the Thickness of the Lamina Cribrosa Measured by Spectral Domain OCT. *J Korean Ophthalmol Soc*. 2013 Aug;54(8):1261-1268. Korean.
 - 30) Roberts MD, Liang Y, Sigal IA, Grimm J, Reynaud J, Bellezza A, Burgoyne CF, Downs JC. Correlation between local stress and strain and lamina cribrosa connective tissue volume fraction in normal monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Jan;51(1):295-307.
 - 31) D. T. Miller, O. P. Kocaoglu, Q. Wang, S. Lee. Adaptive optics and the eye (super resolution OCT). *Eye* (2011) 25, 321–330.
 - 32) Nicholas G. Strouthidis, San chalika Acharyya, Tin A. Tun, Rahat Husain, Benjamin A. Haaland, Wei Xin, Jean M. Mari, Shamira Perera, Tin Aung, Michael J. Girard. Visibility of the Lamina Cribrosa Using OCT: A Comparison of Devices and Techniques. *ARVO 2014 Annual Meeting Abstracts*.
 - 33) Yali Jia, Eric Wei, Xiaogang Wang, Xinbo Zhang, John C. Morrison, Mansi Parikh, Lori H. Lombardi, Devin M. Gattey, Rebecca L. Armour, Beth Edmunds, Martin F. Kraus, James G. Fujimoto, David Huang. Optical Coherence Tomography Angiography of Optic Disc Perfusion in Glaucoma. *Ophthalmology* 2014 March 11.



CAPITOLO 11

IMAGING IN FOTISMOLOGIA: PRINCIPI DI FISICA E PROSPETTIVE FUTURE

INTRODUZIONE

L'imaging in oftalmologia ha avuto notevoli sviluppi negli ultimi vent'anni ed è sempre più presente e indispensabile nella diagnosi e follow-up delle malattie oculari. Il termine "imaging" è stato inventato qualche anno fa negli Stati Uniti per definire al meglio l'evoluzione dei processi di produzione e riproduzione dell'immagine. Identifica l'integrazione tra tutti gli elementi, prodotti, tecnologie e servizi che portano alla realizzazione di una *comunicazione visiva*, e integra insieme fotografia, informatica, grafica, sviluppo, stampa. Nella varietà delle sue possibilità tecnologiche, la tomografia ottica a radiazione coerente si è imposta come la più promettente e duttile al fine della migliore risoluzione tissutale, in modalità lineare B-scan e tridimensionale 3D. Stupisce l'enorme accelerazione e straordinaria evoluzione che questa tecnologia ha avuto in pochi anni, se pensiamo alla diffusione degli OCT e alla loro capacità di fornire informazioni, indispensabili nella corrente pratica clinico-chirurgica [1].

Le tre modalità d'imaging utilizzate in oftalmologia, le fundus camere, lo SLO lo Scanning Laser Ophthalmoscope e gli OCT, hanno avuto tempi e differenti modalità di sviluppo e diffusione. L'utilizzo e l'implementazione nei device delle Ottiche Adattive AO hanno reso possibile visualizzare dettagli morfologici sempre più vicini alle dimensioni cellulari, e intuire relazioni tra struttura e funzione. Quest'articolo cercherà di tracciare i possibili sviluppi dell'imaging in oftalmologia, accennando ai principi base di ottica fisica, necessari per una piena e più completa loro comprensione.

FOTOGRAFIA E SLO

La fotografia con fundus camera ha oltre un secolo di vita. L. Howe ne dà una descrizione completa in occasione della riunione della Società Transamericana nel 1887 con il suo articolo "Photographs of the interior of the eye", anche se S. Duke-Elder riferisce che "The first coloured printed

HISTORY OF IMAGING: A FLOOD OF INNOVATION	
1851	Hermann von Helmholtz. (direct ophthalmoscope)
1871	Adolf von Bayer. (Nobel Prize in chemistry 1905, synthesized fluorescein dye)
1887	L. Howe "Photographs of the interior of the eye". Trans. Amer. Ophth. Soc. 1887
1915	Francis A. Welch and William Noah Allyn. (World's first hand-held direct illuminating ophthalmoscope)
1925/1932	Carl Zeiss by J.W. Nordenson. (Modern ophthalmoscopy and photography)
1930	Stroboscopic flash by Harold Edgerton. "The man who stopped time"
1957	Confocal microscopy by Marvin Minsk. (Father of artificial intelligence)
1961	Fluorescein angiography (FA) by Harold Novotny and David Alvis
1975	The digital camera Kodak Laboratories by Steven Sasson
1979	Scanning Laser Ophthalmoscopy SLO by Robert H. Webb
1987	Digital photography integrated into a fundus camera by Topcon
1991	Optical Coherence Tomography OCT by D. Huang, J. G. Fujimoto et al
1992	First angiographer using cSLO (HRA Classic) by Heidelberg Engineering

illustration of the fundus of the eye which appeared in the thesis of Adrian Christopher Van Trigh (1825-64), *Dissertatio Ophthalmologica Inauguralis de Speculo Oculi in 1853...* " [2,3]. La prima fundus camera fu realizzata da Carl Zeiss e J.W. Nordenson nel 1926 con un'apertura angolare di 20°, aumentati dopo alcuni anni a 30°, standard angolare nella retinografia per decenni [4]. Il problema principale che la fotografia del fondo dovette superare era la difficile illuminazione, attraverso l'apertura pupillare, della cupola posteriore del bulbo, fino agli anni Trenta non ottenibile in modo soddisfacente.

La via percorsa attraverso l'apertura pupillare

è naturalmente la stessa in entrata e uscita, problema tecnico non secondario ancor ai nostri tempi. I primi tentativi di illuminare il fondo oculare con un bruciatore Bunsen furono così dolorosi, riferisce Lucien Howe, che si dovette ricorrere alla somministrazione di cocaina ai pazienti: *"The heat was so intense that we had to use topical cocaine to keep the patient from twisting in pain"*. Da allora la fotografia ha avuto notevoli miglioramenti, da tempo di comune e diffuso utilizzo nella pratica clinica oftalmologica [5]. La tradizionale oftalmoscopia utilizza la parte periferica più ampia dell'area pupillare come via d'entrata della luce; la parte centrale, più piccola, serve da ricezione, con una qualità finale d'imaging 16 volte diminuita [6]. Lo SLO, inizialmente descritto nel 1980 da Robert H. Webb, utilizza una sorgente laser al posto del flash e, beneficiando dei *"confocal pinhole"* lungo il percorso ottico, migliora, e di molto, la risoluzione finale [7-11].

La rimozione delle interferenze provenienti dai piani adiacenti a quello dove si è focalizzati, agevolata dall'uso dei *pinhole*, impedisce alla luce proveniente dalle zone fuori fuoco di raggiungere il fotomoltiplicatore che trasforma l'intensità luminosa in un segnale elettrico d'intensità proporzionale.

Nel sistema SLO l'illuminazione e l'osservazione nel percorso dell'area pupillare sono invertite rispetto alla fotografia. Il fascio laser utilizza la parte centrale dell'area pupillare; la rimanente area periferica è percorsa dalla luce riflessa dalla retina, con migliore risoluzione delle immagini, minore intensità di luce immessa nell'occhio, maggiore sicurezza e tolleranza retinica finale (fig. 1).

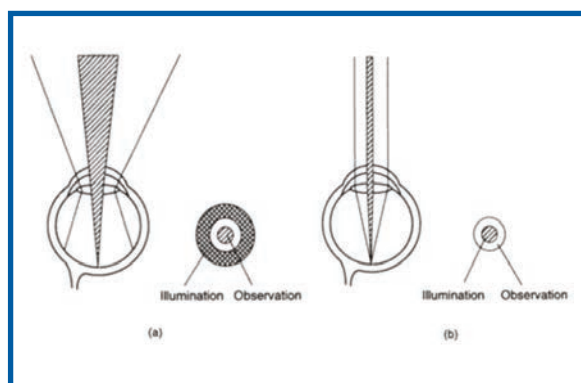


Fig. 1 - Differenza del percorso ottico nella fotografia da flash e SLO.

PRINCIPI DI FISICA DEGLI OCT

Tra i device utilizzati nell'indagine strutturale dei tessuti biologici gli OCT si pongono, per potere risolutivo, tra gli ultrasuoni e la microscopia. Il rilievo del segnale luminoso, per la velocità della luce (nel vuoto $\sim 3 \times 10^8 \text{ m/s} = 300.000 \text{ Km/s}$), permette migliori risoluzioni rispetto al suono ma, contemporaneamente, pone difficoltà nel trovare detector idonei a rilevare e misurare il ritardo delle onde riflesse dai tessuti. L'interferometria a bassa coerenza risolve in modo efficace queste problematiche.

La risoluzione temporale di uno strumento T misura il ritardo delle onde luminose di ritorno dal tessuto indagato. Dipende dalla distanza del loro percorso Δz e dalla velocità di propagazione della luce nel tessuto C; vale perciò la relazione $T = \Delta z/c$. Per valori di $\Delta z \sim 5 \mu\text{m}$, nota la velocità della luce nel vuoto, si avranno risoluzioni temporali $T \sim 15$ femtosecondi.

Per rilevare adeguatamente segnali tanto rapidi è necessario ricorrere all'interferometria. La luce che attraversa un mezzo riduce la propria velocità rispetto al vuoto per l'indice di rifrazione del mezzo attraversato: $v = c/n$ dove v = velocità della luce nel mezzo, c = velocità della luce, n = indice di rifrazione. L'indice di rifrazione "n" è, perciò, un rapporto tra due velocità, quella nota della luce c assoluta, non disturbata, e quella che ha nel mezzo v , per cui è anche vero $n = c/v$. L'indice di rifrazione rappresenta, in definitiva, un valore indiretto, una grandezza adimensionale, la variazione della velocità della luce nell'attraversare mezzi differenti, testimoniata e confermata dal cambio/ritardo del percorso luminoso (fig. 2).

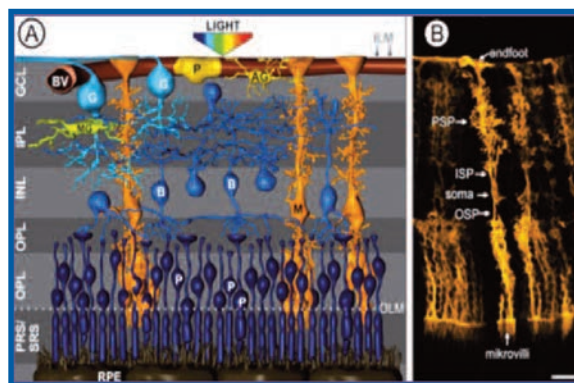


Fig. 2 - Immagine schematica della retina con in evidenza le cellule del Muller (www-huge.uni-resensburg.de).

Un raggio di luce è composto di campi elettrici e magnetici che oscillano nel tempo e nello spazio, ed è caratterizzato da un'ampiezza e da una lunghezza d'onda. Le teorie sulla natura della luce, risalenti al XVII secolo, sostenute da Isaac Newton e Christian Huygens, hanno visto contrapposto il dualismo onda/particella, la luce come entità corpuscolare oppure ondulatoria, teorie infine entrambe confermate. Quando due raggi luminosi s'incontrano, i due campi elettromagnetici interagiscono, con fenomeni d'interferenza. La radiazione che emerge da una sorgente luminosa naturale o da una comune lampadina ad incandescenza è formata da emissioni indipendenti di fotoni, con un fronte d'onda aleatorio, non regolare, con creste e valli che tendono a sottrarsi o sommarsi in modo indipendente dal tempo e dallo spazio.

Questa radiazione è definita non coerente o incoerente. La luce coerente (o in coerenza di fase) è, invece, dipendente dal tempo e dallo spazio, non variabile, con creste e valli equispaziate, della stessa ampiezza, come avviene con la luce laser, che ha coerenza pressoché monocromatica, è unidirezionale, caratteristiche fisiche proprie di coerenza spaziale o collimazione. Il numero delle creste e valli nell'unità di tempo individua la frequenza dell'onda luminosa. Solo con luce coerente si può avere interferenza e sono possibili misurazioni tomografiche. Nella realtà si hanno treni d'onda con frequenze non omogenee, quasi mono-cromatiche, in cui l'onda, che caratterizza meglio lo spettro e offre il maggior contributo è quella considerata, l'onda dominante o di riferimento.

Più stretto è lo spettro, tanto più la banda caratterizzante l'onda principale si avvicina alla monocromaticità e minore è la larghezza di banda Δf dell'onda coerente. Altri parametri da considerare sono il tempo e la lunghezza di coerenza. Il tempo di coerenza Δt è l'intervallo temporale in cui l'onda resta perfettamente sinusoidale, oscillando in modo costante e prevedibile, in rapporto inverso con la larghezza di banda Δf , per cui $\Delta t = 1/\Delta f$. La lunghezza di coerenza Δz è, invece, il prodotto tra il tempo di coerenza Δt e la velocità della luce c , per cui $\Delta z = c \Delta t$. Se è vero che $\Delta t = 1/\Delta f$, è anche vera la relazione $\Delta z = c/\Delta f$, per sostituzione dei termini: la lunghezza di coerenza Δz e la larghezza di banda Δf dell'onda sono, perciò, tra loro inversamente proporzionali. Un'onda monocromatica, per definizione, è perfettamente sinusoidale, con lunghezza di coerenza infinita ∞ . La sorgente di

luce che più si avvicina a queste caratteristiche fisiche è, come riferito, quella laser, con lunghezza di coerenza di alcune decine di chilometri.

Gli OCT utilizzano luce a fronte d'onda coerente, possibilmente monocromatica, ristretta nella larghezza di banda, dove l'elemento rilevatore dei tempi di percorrenza della luce è l'interferometro di Mach-Zehnder o, più comunemente, l'interferometro di Michelson. Tramite l'interferometro il campo d'onda proveniente dalla sorgente luminosa, un LED Superluminescente (SLD) per gli SD-OCT, è suddiviso in un ramo di riferimento fisso e noto, rappresentato da uno specchio semiriflettente, e in un ramo proveniente dal campione del tessuto da esaminare.

I segnali ricombinati producono un'interferenza, registrata da un fotorivelatore e, infine, sono processati e algoritmicamente rielaborati. Il segnale riflesso o retrodiffuso dal tessuto E_{sig} e quello riflesso dallo specchio di riferimento E_{ref} sono uniti nel segnale totale d'uscita E_{out} : $E_{out} = E_{sig} + E_{ref}$. Anche se il segnale di ritorno dal tessuto è scarso, l'unione con E_{ref} , di riferimento e noto, rende quasi sempre possibile un'immagine tomografica, misura indiretta del cammino e della profondità percorsa. La coerenza ottica non deve essere a coerenza elevata, per le minori capacità di intercettare ed evidenziare le differenti caratteristiche strutturali dei tessuti oculari, così sottili, trasparenti e intimamente addensati in pochi micron. È opportuno che la sorgente sia luce a bassa coerenza. Un'interferenza è utile quando la differenza di ritardo temporale tra l'eco retrodiffuso dal tessuto e quello di riferimento è minore del tempo di coerenza della sorgente di luce utilizzata, con un errore introdotto che non va oltre la lunghezza di coerenza stessa [12,13]. È noto che l'interazione luce-materia avviene con fenomeni di trasmissione, assorbimento, diffusione e scattering.

Questi fenomeni rendono inevitabilmente limitato il range di penetrazione nei tessuti da indagare e le capacità di risoluzione (fig. 3).

Come si vede nella Figura 4, nei tessuti biologici ricchi di acqua si hanno poche finestre ottiche di miglior utilizzo, con scarso assorbimento della luce. La lunghezza d'onda centrata intorno ai 840 nm, largamente utilizzata dagli SD-OCT, mostra, infatti, nel grafico il minore assorbimento da parte dei tessuti. Recentemente è utilizzata dai nuovi SS-OCT nell'indagine in corioretina la lunghezza di 1050 nm

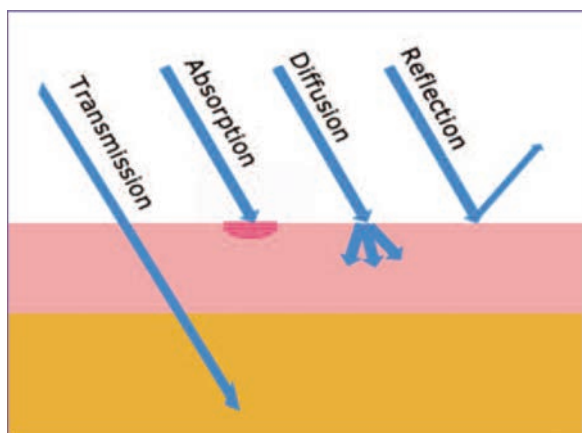


Fig. 3 - Possibili effetti dell'interazione luce/tessuto (Diffusione = Dispersione = Scattering = Sparpagliamento).

per minor assorbimento e scattering, e di 1310 nm nell'indagine sul segmento anteriore, per la massima profondità di campo, quasi ad insidiare il range d'azione degli ultrasuoni, che continuano a restare ugualmente utili e, spesso indispensabili, nonostante l'avvento degli SS-OCT [12,13] (figg. 4, 5).

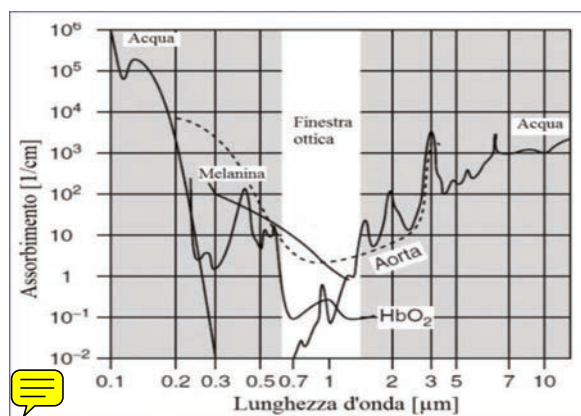


Fig. 4 - Finestra Ottica di migliore utilizzo delle lunghezze d'onda (600nm e 1500nm).

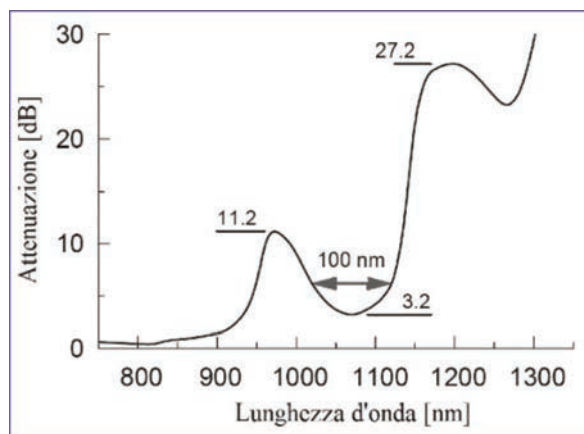


Fig. 5 - Finestre ottiche d'utilizzo dagli OCT.

RISOLUZIONE DEGLI OCT

Il segnale catturato dal fotorilevatore degli OCT permette informazioni strutturali evidenziate come gradienti di riflettività lungo l'asse Z più o meno "scuri" nel campo dei grigi, visionabili anche in falsi colori, non preferibili nella fine diagnosi tomografica con un grafico finale A-Scan. Con differenti posizioni lungo l'asse trasversale X si ottengono sezioni trasversali B-Scan, modalità d'imaging che ha reso familiare e universalmente riconoscibile le scansioni retiniche OCT. L'interazione luce-materia avviene, come riferito, tramite fenomeni di scattering, diffusione della luce in direzioni aleatorie, maggiore alle piccole lunghezze d'onda, e di assorbimento, maggiore al crescere della lunghezza d'onda, con attenuazione della potenza incidente in funzione della profondità.

La risoluzione spaziale in generale è la capacità di distinguere come separati due oggetti vicini nello spazio. Comprende la risoluzione assiale (longitudinale o azimutale) si misura lungo la direzione del fascio della luce coerente. Evidenzia la capacità di distinguere due punti come singoli lungo la direzione longitudinale Z del campione. La risoluzione laterale o trasversale, invece, si misura perpendicolarmente all'asse Z e alla luce incidente, e discrimina due punti come singoli sull'asse XY. Il Potere di Risoluzione laterale è descritto in ottica fisica dall'equazione di Abbe (Ernst Karl Abbe, 1840-1905): $d = 0.5 \lambda / AN$, dove λ = lunghezza d'onda della luce utilizzata, AN = Apertura Numerica.

L'occhio umano ha un potere di risoluzione di 0,1 mm (100 μm), un buon microscopio ottico di 0,2 μm (1 μm = 0,001 mm), un microscopio elettronico di 0,1 nm (1nm=0,001 μm) [14→18]. Sarebbe meglio distinguere il termine generico limite di risoluzione, distanza minima per cui due punti sono distinti come separati, dal potere di risoluzione, di pertinenza strumentale, che indica la capacità di un sistema ottico di vedere due punti vicini come distinti, in microscopia ottica dipendente dall'apertura numerica AN degli obiettivi. Tale distinzione in pratica viene confusa, comunque non è essenziale. Gli ultrasuoni sono la pietra di paragone per comprendere meglio gli OCT. Hanno una risoluzione che dipende dalla frequenza dell'onda sonora utilizzata, solitamente 10MHz, con risoluzioni intorno a 150 μm. A queste

frequenze la profondità d'indagine arriva a circa 10 cm. Frequenze superiori, ~ 100 MHz, consentono risoluzioni intorno ai $15/20 \mu\text{m}$ e profondità limitate a pochi millimetri. Più alte sono le frequenze, maggiore è l'attenuazione, il "taglio" del fascio di onde sonore nel percorso dei tessuti indagati, e minore è la penetrazione nel tessuto, anche se con più alte risoluzioni.

La capacità d'informazioni in profondità, Imaging Depth, e la capacità di risoluzione con gli ultrasuoni, si comportano perciò in modo inverso: a basse frequenze aumenta la profondità di campo e diminuisce la risoluzione; ad alte frequenze, le risoluzioni aumentano solo a piccole profondità. La microscopia ottica e quella confocale permettono alte risoluzioni $\sim 1 \mu\text{m}$, limitate dalla diffrazione della luce. Com'è noto possono avvalersi di colorazioni per aumentare il contrasto nel tessuto, anche se l'osservazione diventa meno "naturale". Gli OCT più moderni consentono una risoluzione assiale di $1-15 \mu\text{m}$, 10/100 volte superiore agli ultrasuoni con sonde di 10 MHz, e una visione dell'architettura strutturale dei tessuti in vivo, consentendo una valutazione funzionale indiretta dei tessuti indagati. I device OCT non sono un'esclusiva dell'oftalmologia; possono essere integrati ed interfacciati, infatti, in cateteri, endoscopi e laparoscopi, utilizzabili in campo oncologico, cardiovascolare, muscolo-scheletrico, odontoiatrico, con un'immagine pseudo-istologica dei tessuti da studiare, e una profondità d'indagine Imaging Depth $\sim 2\text{mm}$, per i limiti dello scattering, della diffusione e assorbimento dei tessuti (fig.6).

A differenza della microscopia confocale, gli OCT ottengono alte risoluzioni assiali indipen-

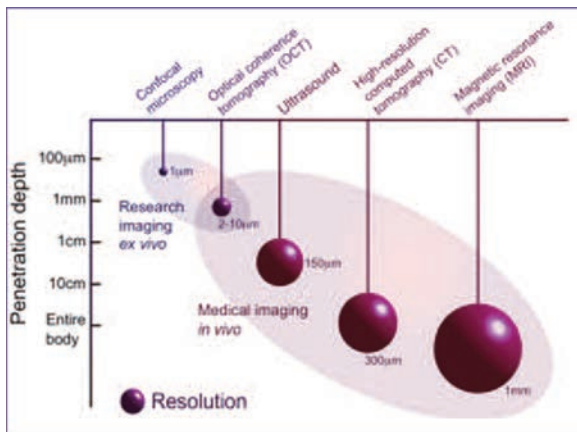


Fig. 6 - Differenze in Risoluzione e Penetrazione tra diversi device.

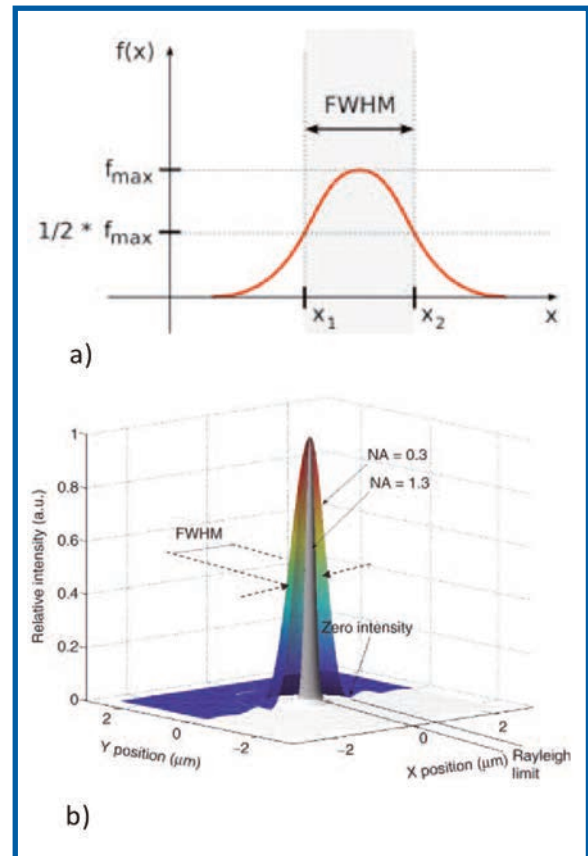


Fig. 7a e 7b - FWHM, Full Width at Half Maximum, è un'espressione della larghezza di una funzione, data dalla differenza fra i valori assunti dalla variabile indipendente quando la variabile dipendente è pari a metà del suo valore massimo; data una sorgente puntiforme (di luce, onde radio, ultrasuoni o qualunque altro mezzo per la generazione di un'immagine), la PSF, Point Spread Function, è il modo in cui essa è vista dal sistema di acquisizione (Wikipedia).

dentemente dalla messa a fuoco; inoltre la risoluzione assiale e trasversale sono tra loro indipendenti.

La risoluzione assiale dipende essenzialmente dalla lunghezza d'onda della luce coerente utilizzata. È il parametro più importante di un sistema tomografico. Tecnicamente è definita come la FWHM (Full Width Half Maximum) della Point Spread Function (PSF), individuabile matematicamente dalla Trasformata di Fourier dello spettro in potenza della sorgente che, per ampi spettri, corrisponde circa alla lunghezza della luce coerente utilizzata [12,13] (figg. 7a,7b). Riportando le definizioni da Wikipedia "La Full Width at Half Maximum (o FWHM, "larghezza a metà altezza") è un'espressione della larghezza di una funzione, data è il modo in cui essa è vista dal sistema di acquisizione". In pratica la risoluzione assiale indica la possibilità di separare due

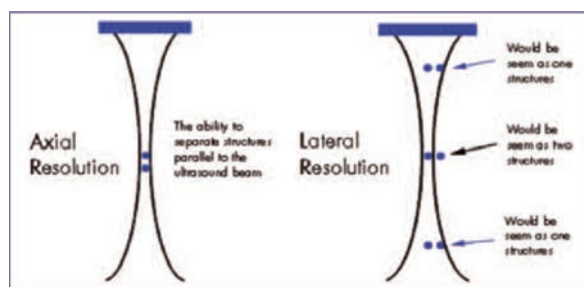


Fig. 8 - Risoluzione assiale e laterale.

punti lungo la direzione longitudinale z del campione (fig. 8).

La formula della risoluzione assiale, Δz , oltre ad una frazione fissa costante, mostra il rapporto tra il quadrato della lunghezza d'onda λ utilizzata e il prodotto tra l'ampiezza della banda $\Delta\lambda$ e l'indice di rifrazione n del mezzo considerato.

$$\Delta z = \frac{2 \ln(2)}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{n \Delta\lambda}$$

L'utilizzo di sorgenti a spettro più ampio consente, di conseguenza, migliori risoluzioni assiali, minore scattering, che diminuisce con lunghezze d'onda maggiori.

Un invalicabile limite è l'assorbimento di energia da parte dei tessuti, che aumenta con l'aumento della lunghezza d'onda. Come si evince, se si migliora un parametro peggiora un altro, e viceversa. Esistono, inoltre, due modi per misurare la risoluzione assiale: ottico e digitale. Il primo

modo è legato alle prestazioni del sistema delle lenti utilizzate ed ha proprietà matematiche ordinarie; il secondo dipende dal tipo di ricostruzione digitale delle diverse scansioni effettuate, sovrapposte e rielaborate, è una misura dei pixel di risoluzione del sistema, in definitiva una misura informatica. In prima approssimazione si può assumere che la *risoluzione digitale numericamente è la metà di quell'ottica*.

La risoluzione trasversale è legata, come nella microscopia ottica, alla geometria di focalizzazione del fascio luminoso sul campione. In buona sostanza corrisponde al *piano di cintura, Beam Waist*, visibile nella Figura 9, in pratica alla minima distanza con cui si possono distinguere due punti giacenti sullo stesso piano trasversale XY, in dipendenza dell'apertura numerica AN utilizzata (fig. 9).

Nella microscopia ottica la risoluzione trasversale e di profondità sono in relazione con la messa a fuoco trasversale dello spot. Come si vede, l'aumento di AN determina una migliore risoluzione trasversale, la diminuzione dell'area dello spot focale e una minore profondità di campo depth of field indicata con b nella stessa figura. Si nota ancora che non si può incrementare ogni parametro: se si migliora la risoluzione trasversale, si penalizza la Depth Resolution e viceversa.

Questo limite vale anche per la tomografia. Si usano, infatti, basse aperture numeriche per consentire buone Imaging Depth e risoluzioni assiali adeguate, con limitate risoluzioni trasverse, vero

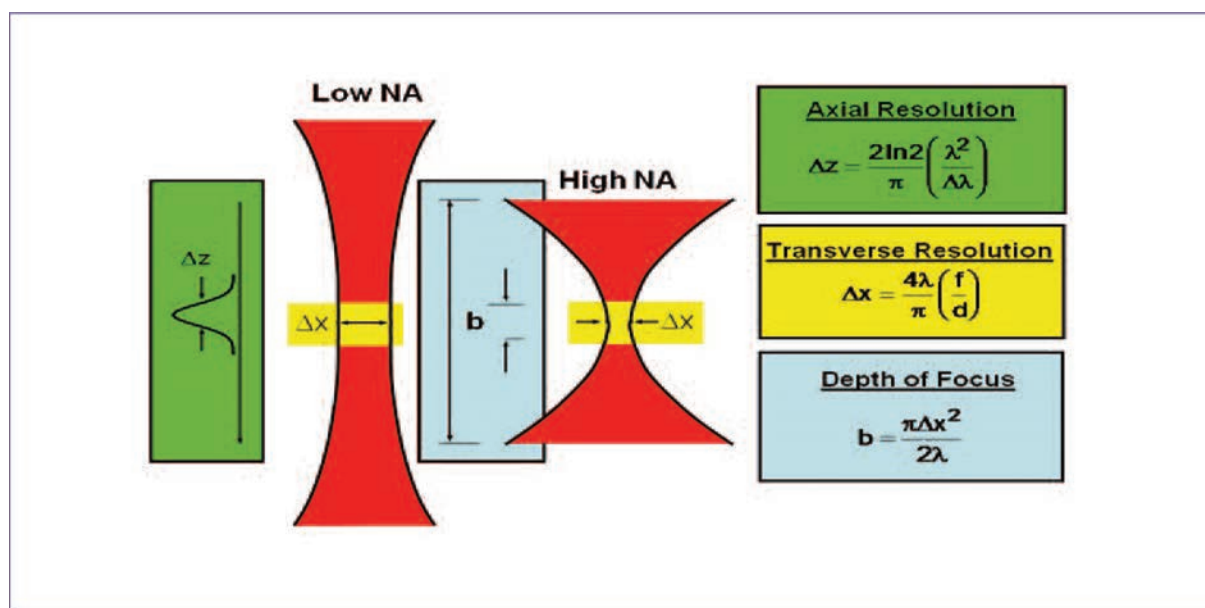


Fig. 9 - Schema riassuntivo della risoluzione assiale, trasversale e di profondità (Università di Vienna).

limite della metodica tomografica. Si preferisce una risoluzione trasversale sopra 10 μm per avere una profondità di fuoco di 2 mm e coprire tutto lo spessore della corioretina. Per superare questo limite è necessario utilizzare il focus dinamico, le AO, gli SS-OCT, gli OCT multifocali (multibeam o multichannel) e, uscendo dai limiti dell'ottica gaussiana, le ottiche axiconiche.

Le caratteristiche essenziali, che è utile conoscere nella fisica degli OCT sono:

- *il Roll-off di performance;*
- *la Sensibilità;*
- *la Velocità d'acquisizione o d'imaging;*
- *il Range dinamico.*
- Il *Roll-off di performance* determina la riduzione della potenza del segnale OCT con l'aumentare della profondità del tessuto esaminato. Un buon sistema OCT dovrebbe avere valori di Roll-off (attenuazione) non superiori a $\sim 20\text{dB}$ per una profondità di 2 mm.
- La *Sensibilità* è definita come il rapporto tra la potenza del segnale generato da uno specchio perfettamente riflettente e quella generata dalla minima riflettività del tessuto, e dipende principalmente dall'efficienza del sistema di rivelazione e dalle sorgenti di rumore presenti nel sistema. È rappresentata dal rapporto segnale/rumore SNR. Tipici valori dell'SNR degli OCT attuali sono 90/100dB; ciò significa che il sistema è sensibile ad un segnale con intensità riflessa o retrodiffusa fino a $\sim 95\text{dB}$.
- La *Velocità d'imaging o di acquisizione* è il tempo impiegato dal sistema a ricavare un profilo A-Scan/sec in profondità nel tessuto (A-scan rate). Può essere definita, oltre che con il numero di scansioni al secondo (A-scan), con il numero di frame al secondo (B-scan) o il numero di voxel al secondo (3D). Questi valori si usano secondo la specifica situazione, il protocollo di scansione e setup dell'imaging. Per i sistemi SS-OCT la velocità d'imaging è data dalla rapidità di ripetizione dello spazzolamento, mentre per SDOCT dalla velocità con cui il dispositivo di rivelazione CCD (Charge-Coupled Device) acquisisce i dati. La velocità è importante per ridurre gli artefatti di movimento del paziente e per utilizzare maggiori potenze, senza danni ai tessuti, nei limiti di sicurezza imposti da organismi internazionali, come l'American National Standards Institute (ANSI).

- Il *Range dinamico* è un rapporto di potenza del segnale, tra la più forte e la più debole riflessione Ascan che può essere misurata. Le immagini OCT hanno solitamente un range dinamico di $\sim 35\text{dB}$, così un sistema OCT per essere soddisfacente deve fornire almeno 40-50dB.

PROSPETTIVE FUTURE

I sistemi per ottenere immagini in vivo con i sistemi OCT sono stati sviluppati dal gruppo di Fujimoto a Cambridge al MIT, Massachusetts Institute of Technologies negli anni Novanta. Essenzialmente le possibilità d'acquisizione sono nel dominio del tempo (Time Domain) e della frequenza Fourier (Spectral Domain).

La modalità Time Domain TD utilizza una sorgente luminosa ad ampio spettro, un'interferenza a bassa coerenza (low-coherence interference), un riferimento mobile. Con la modalità Fourier Domain SD o HD l'informazione viene ricavata dallo spettro del segnale di interferenza e il riferimento ha una posizione fissa. Questa seconda e attuale modalità d'acquisizione si suddivide a sua volta, in Spectral Domain OCT SD-OCT, in cui la sorgente utilizzata è ancora a banda larga, e Swept Source OCT SS-OCT, in cui la sorgente è un laser, a banda molto stretta, la cui lunghezza d'onda di lavoro viene variata linearmente in un intervallo predefinito. La modalità SS-OCT cerca di unire la sensibilità raggiunta dai SD-OCT alla semplicità hardware dei TDOCT (fig. 10).

Infatti, mentre in SD-OCT la ricezione del segnale è affidata ad un array di sensori CCD e ad uno spettrometro, seguita da elaborazioni numeriche, negli SSOCT avviene tramite un singolo fotorivelatore, trasferendo la complessità del sistema alla sorgente laser che deve spazzolare un ampio intervallo di frequenze. Gli SS-OCT, con l'utilizzo di una sorgente a banda molto stretta e veloce come il laser sono, d'altra parte, poco soggetti alla dispersione ottica. Altri vantaggi degli SSOCT consistono nella possibilità di impiegare intervalli di lunghezza d'onda di 1000-1300nm. Queste lunghezze permettono di visualizzazione ad alta risoluzione strutture in maggiore profondità. Inoltre, la linea di scansione OCT è invisibile al paziente che vede solo la mira di fissazione interna, senza la luce che spazzola la retina, possibile elemento di disturbo.

I device SS-OCT migliorano ulteriormente la velocità di scansione, fino a 80.000/100.000 A-

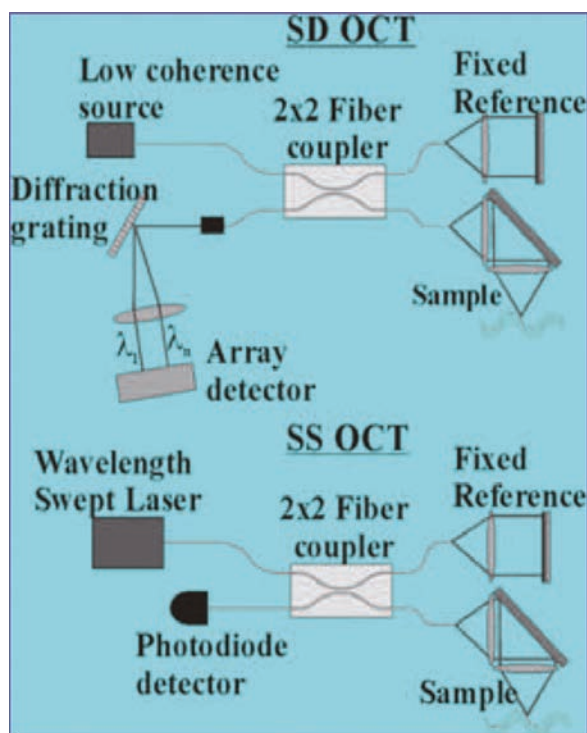


Fig. 10 - Schemi tecnologici tra SD-OCT e SS-OCT.

scan/sec, con la possibilità di acquisire una B-scan in 0,01 sec invece di 0,02/sec, ed immagini 3D in 0.9 sec contro 1.9 sec degli SD-OCT. Altro vantaggio degli SS-OCT è che, non usando per la rivelazione del tessuto un array CCD, non si ha il drop-off del segnale all'aumentare della profondità di scansione, essendo svincolati della dimensione finita dei pixel del CCD. Per completare il quadro, nei sistemi SS-OCT la riduzione del segnale all'aumentare della profondità d'indagine è molto meno evidente, per utilizzo di una sorgente luminosa laser a banda stretta, vero motivo della migliore Depth Resolution rispetto agli SD-OCT, anche con utilizzo della modalità EDI (tab. 1).

	SS-OCT	SD-OCT
Light source	Swept laser	SLD
Center wavelength	1,050 nm	840 nm
A-scan rate	100,000 Hz	50,000 Hz
Resolution (x)	20 μ m	20 μ m
Resolution (z)	8 μ m	6 μ m
B-scan measurement time	1.0 sec (96x)	1.0 sec (50x)
Imaging depth	2.6 mm	2.3 mm

Tab. 1 - Differenze d'utilizzo/Performance tra OCT Swept Source e Spectral Domain (da Topcon).

Riassumendo i vantaggi degli SS-OCT rispetto agli SDOCT sono:

- Velocità 5-10 volte maggiore;
- Roll-off di performance quasi assente;
- Miglior rapporto segnale/rumore SNR;
- Larga area di scansione in retina;
- Alta qualità in megapixel;
- Maggiore Depth Resolution.

LE OTTICHE ADATTIVE

Nel 1997 le Ottiche Adattive A_o sono impiegate nell'occhio da Liang et al. utilizzando un sensore a fronte d'onda Hartmann-Shack e uno specchio deformabile per correggere ed ottenere immagini con una risoluzione migliore [19]. È stato così possibile vedere i singoli coni per la prima volta in vivo. La possibilità di assemblare un AO-OCT è stata riportata nel 2003 da Miller e al. al fine di migliorare la risoluzione trasversale [20]. La risoluzione trasversale, com'è stato riferito, è limitata a $\sim 15/20 \mu\text{m}$, con difficile visualizzazione delle singole strutture cellulari. Un metodo per migliorare la risoluzione trasversale è aumentare l'apertura numerica AN, con aumento del diametro del fascio OCT e diminuzione dello spot sulla retina. Tuttavia, la risoluzione è limitata dalla diffrazione e dalle aberrazioni oculari che aumentano maggiormente nella dilatazione pupillare, specialmente sopra 6 mm. La possibilità di avere un device OCT con AO rende meno influenti le aberrazioni, migliorando la risoluzione trasversale. Un primo device AO-OCT a risoluzione assiale ultraveloce è stato introdotto nel 2004, aumentando la risoluzione trasversale che scende da 15 a $10 \mu\text{m}$ nella retina [21] (fig.11).

Anche utilizzando le AO, se si migliora la risoluzione trasversale, diminuisce la profondità di fuoco, con impossibilità di visualizzare tutti gli strati retinici contemporaneamente. Con le AO, inoltre, il campo visivo si restringe approssimativamente da 1 a 3 gradi d'angolo. In pratica, acquisita l'immagine, si seleziona il campo di ricerca attivando le AO nel device, il campo si restringe e la risoluzione diventa a livello cellulare, per quella particolare area selezionata. Un migliore dettaglio ma limitato a piccole aree retiniche selezionate.

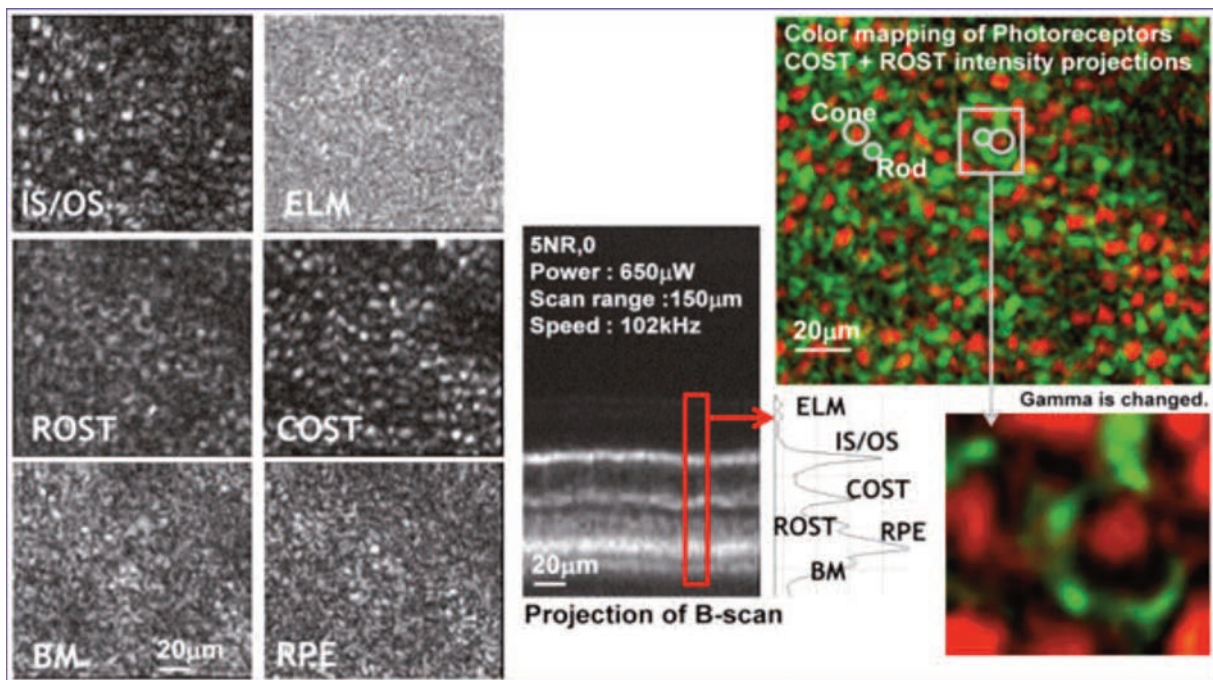


Fig. 11 - Immagine sezionale degli strati retinici con AO-OCT. ELM – external limiting membrane; IS/OS – photoreceptors inner/outer segment junction, COST – cone outer segments tips; ROST rod outer segments tips, RPE – retinal pigment epithelium, BM – Bruch's membrane (Sang-Hyuck Lee, John S. Werner, and Robert J. Zawadzki, 2013).

ULTIMATE GOAL E CONSIDERAZIONI FINALI

Riscoprire alcuni principi di ottica fisica ci permette di comprendere meglio la rivoluzione tecnologica del mondo dell'imaging in oftalmologia. La fotografia retinica, come la tomografia, può usufruire delle ottiche AO. Esistono device già in commercio che implementano le AO allo SLO nelle fundus camera, con risoluzioni nel tessuto di 1-3µm e visione cellulare degli strati retinici (Immagine Eyes rtx1). Un modo alternativo per migliorare le risoluzioni specialmente trasversali dei device e, in particolar modo negli OCT, è quello di ricorrere all'aiuto di algoritmi. Il *SSDA, Split-Spectrum Amplitude Decorrelation*, permette la visione della circolazione corio-retinica senza mezzo di contrasto, e promette di ridurre il numero delle fluoroangiografie circa del 90%. Messo a punto dall'Optovue è possibile averlo nell'ultimo modello di questa casa, SD-OCT Avanti. Altro algoritmo molto utile è il *Combo Report* che integra CV e OCT, consentendo il rapporto struttura/funzione nel glaucoma (Zeiss). Insieme alle indagini segmentate tomografiche GCL (Ganglion Cell Layer) per lo spessore dello strato ganglionare in macula, i Combo Report si stanno dimostrando sempre più indispensabili nella diagnosi e follow-

up del glaucoma [22]. Il recentissimo algoritmo *MISAM, Multifocal Interferometric Synthetic Aperture Microscopy*, promette di migliorare insieme risoluzione trasversale e Depth Resolution e, anche se non ancora applicato sui device, di superare i limiti delle ottiche gaussiane [23]. L'uso di *lenti axiconiche*, infine, ci fa entrare definitivamente nell'ottica del *Bessel Beam*, frontiera inesplorata e, per tanti versi, sconosciuta alla stragrande maggioranza di noi oculisti. Studi già esistenti e recenti sviluppi ancora imprevedibili, fanno intravedere le performance di queste ottiche in associazione a SDOCT multifocali, con risultati da verificare e testare ancora compiutamente [24,25]. A tanta nuova tecnologia, che può disorientare, deve corrispondere sempre più un crescente background culturale e un acume medico-clinico raffinato, costruito nel tempo con lo studio e l'esperienza, senza trascurare il rapporto umano con il paziente, spesso in secondo piano e poco curato. Il ricordo della massima di Edward Livingston Trudeau, che ha dedicato tutta la sua vita alla cura della tubercolosi, ci deve aiutare a non disperdere la nostra umanità di medici, il contatto empatico e la qualità del rapporto con il paziente, specialmente nelle patologie croniche: *"Il medico deve curare a volte, alleviare spesso, confortare sempre"*.

REFERENCES

- 1) D Huang, EA Swanson, CP Lin, JS Schuman, WG Stinson, W Chang, MR Hee, T Flotte, K Gregory, Carmen A. Puliafito, James G. Fujimoto. Optical Coherence Tomography. Science 22 November 1991: Vol. 254 no. 5035 pp. 1178-1181.
- 2) L. Howe. Photographs of the interior of the eye. Trans. Amer. Ophth. Soc. 23:568-571. 1887.
- 3) Duke-Elder S. 1961. System of Ophthalmology Volume II, St. Louis: CV Mosby pg. 2-3.
- 4) Ciardella A, Brown D. Wide field imaging. In: Agarwal A, ed. Fundus Fluorescein and Indocyanine Green Angiography: A Textbook and Atlas. New York: Slack Inc., 2007:79-83.
- 5) L. A. Yannuzzi, M. D. Ober, J. S. Slakter, R. F. Spaide, Y. L. Fisher, R. W. Flower, and R. Rosen, Ophthalmic fundus imaging: Today and beyond. Amer. J. Ophthalmol., vol. 137, no. 3, pp. 511-524, Mar. 2004.
- 6) Plesch A. and Klingbeil U. 1989 Optical Characteristics of a Scanning Laser Ophthalmoscope. SPIE vol 1161 (Bellingham, WA: SPIE) pp 390-8.
- 7) R. H. Webb, G. W. Hughes, and O. Pomerantzeff. Flying spot TV ophthalmoscope. Appl. Opt., vol. 19, no. 17, pp. 2991-2997, 1980.
- 8) Webb RH, Hughes GW. Scanning laser ophthalmoscope. IEEE Trans Biomed Eng. 1981;28(7):488-492.
- 9) R. H. Webb, G. W. Hughes, F. C. Delori. Confocal scanning laser ophthalmoscope. Appl. Opt., vol. 26, no. 8, pp. 1492-1499, 1987.
- 10) Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, Fujimoto J. G.. Optical coherence tomography. Science. 1991 Nov 22;254(5035): 1178-81.
- 11) Drexler W. Ultrahigh resolution optical coherence tomography. Journal Biomed Optics, 9(1), 47-74, 2004
- 12) Tesi di Laurea Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione, Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria delle Telecomunicazioni, Università di Padova. Sviluppo sperimentale di un tomografo a coerenza ottica. Laureando: Matteo Bernardello, Relatore: Prof. Luca Palmieri, Padova, 7 ottobre 2013 Anno accademico 2012/2013.
- 13) Tesi di Laurea Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione, Corso di laurea magistrale in Bioingegneria, Università di Padova. OCT per studi su Zebrafish: risultati preliminari. Laureanda: Sara Trentin; Relatore: Dr. Enrico Grisan; Correlatore: Dr. Luca Palmieri, 23 aprile 2013, Anno Accademico 2012/2013.
- 14) Drexler W. Ultrahigh resolution optical coherence tomography. Journal Biomed Optics, 9(1), 47-74, 2004.
- 15) DT Miller, OP Kocaoglu, Q Wang, S Lee. Adaptive optics and the eye (super resolution OCT). Eye (2011) 25, 321-330 & 2011. Macmillan Publishers Limited All rights reserved 0950-222X/11.
- 16) www3.unisi.it/fisica/dip/dida/matinfef/ottica_geometrica.
- 17) Corrado Mencuccini, Vittorio Silvestrini. Fisica 2. Elettromagnetismo-ottica. Corso di fisica per le facoltà scientifiche. Con esempi ed esercizi. Elementi di ottica.
- 18) Franco Gori. Elementi di ottica. Libreriauniversitaria.it.
- 19) Junzhong Liang, David R. Williams, and Donald T. Miller. Supernormal vision and high-resolution retinal imaging through adaptive optics. JOSA A, Vol. 14, Issue 11, pp. 2884-2892 (1997).
- 20) Donald T. Miller; Junle Qu; Ravi S. Jonnal; Karen E. Thorn. Coherence gating and adaptive optics in the eye. Proc. SPIE 4956, Coherence Domain Optical Methods and Optical Coherence Tomography in Biomedicine VII, 65, July 1, 2003.
- 21) B. Hermann, E. J. Fernández, A. Unterhuber, H. Sattmann, A. F. Fercher, W. Drexler, P. M. Prieto, and P. Artal. Adaptive-optics ultrahigh-resolution optical coherence tomography. Optics Letters, Vol. 29, Issue 18, pp. 2142-2144 (2004).
- 22) A. Lucente. Glaucoma tra struttura e funzione. Oftalmologia domani - N. 1 Anno 2014.
- 23) Yang Xu, Xiong Kai Benjamin Chng, Steven G. Adie, Stephen A. Boppart, P. Scott Carney. Multifocal interferometric synthetic aperture microscopy. Received 18 Apr 2014; revised 16 Jun 2014; accepted 17 Jun 2014; published 27 Jun 2014 30 June 2014 | Vol. 22, No. 13 |.
- 24) J. Holmes, S. Hattersley, N. Stone, F. Bazant-Hegemark, and H. Barr, "Multi-channel Fourier

domain OCT system with superior lateral resolution for biomedical applications,” in “Biomedical Optics (BIOS) 2008” (International Society for Optics and Photonics, 2008), 68470.

25) J. Holmes, “Theory and applications of multi-beam OCT,” in “1st Canterbury Workshop and School in Optical Coherence Tomography and Adaptive Optics” (International Society for Optics and Photonics, 2008), 713908.



CAPITOLO 12

CAPSULOTOMIA ND: YAG LASER

INTRODUZIONE

Il laser, light amplification by stimulated emission of radiation, Nd:YAG, Neodymium-doped Yttrium Aluminium Garnet, è un laser allo stato solido che utilizza una lunghezza d'onda di 1064 nm, capace di determinare un'azione di taglio nei tessuti biologici per ionizzazione e/o formazione di plasma, catalogabile in fisica come un'interazione elettromeccanica (figg. 1a,1b). L'applicazione della tecnologia laser in campo medico risale agli anni Sessanta, con il primo laser artigianale a cristallo di rubino presso i laboratori della Hughes Research a Malibù in California, da parte di Theodore Harold Maiman (Los Angeles 1927/Vancouver 2007), che sviluppò la teoria di Albert Einstein (Ulma 1879/Princeton 1955) sull'emissione stimolata di radiazioni.

Nel 1962 il laser, per la capacità di saldare i tessuti biologici, trovò la sua prima applicazione pratica negli interventi chirurgici sulla retina. La dimostrazione del primo laser Nd:YAG fu realizzata nel 1964 presso i laboratori Bell del New Jersey, Stati Uniti, mentre le prime capsulotomie sono state eseguite nel 1980 da Daniele M. Rosa e Franz Fankhauser. Sulle cause dell'opacizzazione della capsula posteriore si è lungamente discusso e si dirà di più in seguito, con proposte di modifica delle IOL e della tecnica chirurgica, che hanno ridotto in modo sensibile la percentuale di secondarie, senza però eliminare del tutto quest'evenienza negativa nel follow-up post-operatorio degli operati di cataratta [1]. Già con il primo impianto di cristallino artificiale, avvenuto in Inghilterra il 27 novembre 1947 per merito di Sir Nicholas Harold Lloyd Ridley (1906/2001), si registrava l'opacizzazione della capsula posteriore. Con l'avvento della ECCE Extra Capsular Cataract Extraction nei primi anni Ottanta, e con la moderna facoemulsificazione, introdotta dopo qualche anno parte di Charles D. Kelman (1930/2004), l'esigenza di una capsulotomia posteriore sicura, non invasiva, ambulatoriale e rapidamente risolutiva si è avvertita maggiormente e universalmente, favorita dall'aumento del numero degli interventi sempre più sicuri, e con percentuali crescenti di successo.

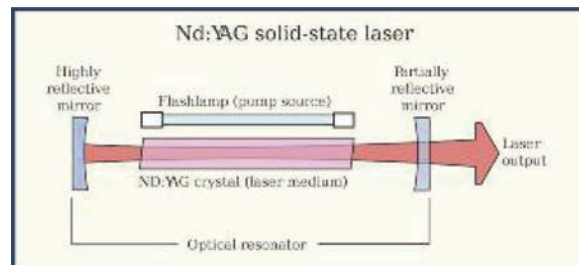


fig. 1a - Struttura di un Nd:YAG laser.

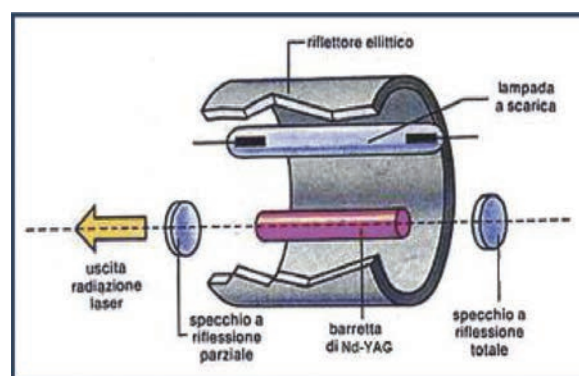


fig. 1b - Spaccato di un Nd:YAG laser.

La IAPB, International Agency for the Prevention of Blindness, afferma che la cataratta è la prima causa di cecità al mondo, che il suo intervento costituisce l'atto chirurgico più eseguito in sala operatoria (in Italia circa 550.000 ogni anno), e che nei paesi più industrializzati il numero d'interventi per milione di abitanti varia da 5.000/anno a 8.000/anno, mentre in quelli in via di sviluppo varia da 200/anno a 500/anno.

Se a tutto questo si aggiunge l'invecchiamento generale della popolazione, ben si comprende il sempre più frequente bisogno di praticare capsulotomie per cataratte secondarie. Anche se il tasso di opacizzazione della capsula posteriore è diminuito con le nuove IOL rispetto ad una percentuale del 50% dei primi impianti, tuttavia l'incidenza di secondarie resta alto, specialmente nei paesi emergenti. Le condizioni sistemiche e l'uso di farmaci possono variane la frequenza, ma le conseguenze visive, al pari della cataratta primaria, sono ugualmente molto invalidanti [2]. L'introduzione dei laser Nd:YAG ha permesso la rapida risoluzione in studio delle opacità capsulari in modo del tutto efficace e sicuro.

La capsulotomia è ormai standard terapeutico universalmente accettato ed affidabile (standard of care). Questo capitolo cercherà di fare il punto su questa diffusa procedura non sempre scevra da insidie, spesso sottovalutata, sottostimata per i rari eventi avversi.

NOZIONI DI FISICA

Caratteristiche fondamentali della luce laser rispetto alla luce naturale sono la brillantezza o intensità luminosa, la coerenza e la monocromaticità, che la rendono adatta per numerose applicazioni in medicina. Un laser può lavorare in un certo range spettrale con modalità continua, superimpulsata o impulsata. I parametri fondamentali da studiare e considerare nell'interazione laser-tessuti sono:

- lunghezza d'onda della radiazione
- intensità della radiazione
- tempo di esposizione
- coefficienti di assorbimento e trasmissione nei tessuti
- profondità di penetrazione della radiazione

In medicina si utilizza la "mappa d'interazione medica" che classifica i modi d'utilizzo dei laser essenzialmente per la durata di esposizione e l'intensità erogata. In base a tale mappa l'impatto laser con i tessuti biologici può determinare:

- interazione termica
- interazione fotochimica
- interazione fotoablativa
- interazione elettromeccanica

Il laser Nd:YAG genera con i tessuti campi elettrici simili ai campi coulombiani intermolecolari e provoca, come accennato, ionizzazione delle molecole, un breakdown dielettrico e formazione di microplasma (fig. 2).

Il plasma, termine per primo utilizzato da Irving Langmuir (Brooklyn 1881/Woods Hole 1957) nel 1928, noto anche come "breakdown elettrico", è un gas ionizzato, costituito da un insieme di elettroni e ioni la cui carica elettrica totale è nulla. È considerato in fisica come un quarto stato della materia, diverso dallo stato solido, liquido e aeriforme. La propagazione dell'onda d'urto determina una rottura meccanica localizzata, che vince le forze di coesione tissutali, in pratica si determina uno stress meccanico, un'interazione elettro-

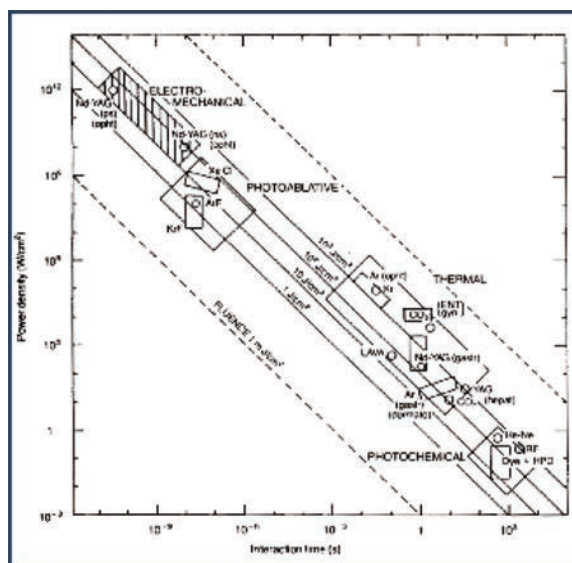


fig. 2 - Mappa d'interazione laser in medicina (Medical laser interaction map).

meccanica, con effetto dirompente sul tessuto bersaglio.

L'esplosione dovuta all'espansione del plasma produce, a sua volta, un'onda d'urto sferica con raggio d'azione di 30 μm circa, temperature molto alte e pressioni dell'ordine di qualche Kbar [3].

Danièle Aron-Rosa aveva un profondo background culturale in fisica prima di essere una oftalmologa. La sua intenzione era, infatti, di progettare un raggio laser di lunghezza d'onda tale da non compromettere l'integrità dei tessuti circostanti e che restringesse il suo campo d'azione intorno ai 100 μm nel bersaglio pre-

stabilito [4-6]. I laser Nd:YAG possono funzionare sia in onda continua che ad impulsi (Q-switching/Q-spoiling o Mode-locking); in quest'ultima modalità sono generalmente usati in commutazione Q, cioè con un commutatore ottico nella cavità risonante. Il commutatore rimane chiuso finché il cristallo non ha raggiunto la massima "inversione di popolazione"; ottenuta l'inversione si apre e permette di scaricare un singolo impulso con potenze ottiche in uscita anche di 20 MW (MegaWatt MW; 1Watt = 1 Joule al secondo; 1 J/s) e tempi d'impulso di circa 10 nanosecondi (ns, 10^{-9}). In fisica si parla d'inversione di popolazione quando in un sistema costituito da un gruppo di corpi elementari in stato eccitato (atomi, molecole o particelle) sono più numerosi dei corpi a minore energia.

LA CATARATTA SECONDARIA

La capsula, cristalloide o sacco capsulare, è una membrana di collagene elastica continua che avvolge il cristallino (diametro medio 10 mm, spessore assiale di 3–4 mm). Topograficamente si distinguono una capsula anteriore e una posteriore che hanno spessore dissimile, maggiore la prima (20 µm circa), più sottile la seconda (5 µm circa). Questa differenza di spessore ci permette di spiegare le facili e possibili rotture della capsula posteriore durante gli interventi di cataratta e la frequenza di lesioni, i cosiddetti pitting, della IOL nell'esecuzione dello Nd:YAG laser.

Sinsky e Cain riferiscono che il 43% delle cataratte da loro operate ha bisogno di un Nd:YAG mediamente dopo 26 mesi; altri studi riportano percentuali di secondarie del 28% a 2-3 anni di follow-up, altri report, infine, informano di percentuali di opacità fino al 50% dopo 3-5 anni, come già affermato. Tutti concordano che l'incidenza di opacizzazione è minore se le IOL inserite aderiscono maggiormente con le loro ottiche alla capsula posteriore. È altresì noto che la facoeulsificazione ha fatto diminuire efficacemente la percentuale di secondarie rispetto all'estrazione extracapsulare [7].

In un'ampia casistica post-mortem su 5416 bulbi, Apple et al. nel 2001 affermano che la fibrosi e la proliferazione di cellule della capsula posteriore diminuiscono con:

- *idrodissezione associata alla pulizia meticolosa della corticale*
- *fissazione nel sacco della IOL*
- *capsuloressi continua e circolare leggermente più piccola dell'ottica della IOL*
- *uso di diverso materiale delle IOL; (Hydrogel, PMMA e Silicone, in ordine decrescente, sono associati a quest'evenienza)*
- *ottiche di maggior diametro e volume*
- *geometrie dei bordi IOL ad angolo retto*

Gli autori terminano riferendo che la scelta delle nuove IOL pieghevoli (IOL foldable) si associa a un minor bisogno di Nd:YAG rispetto alle IOL con ottiche rigide (14.1% vs 31.1%) [8-10].

Se questa serie di affermazioni erano vere e valide nel 2001, tanto più lo sono oggi con l'ulteriore progresso e sviluppo delle IOL e della strumentazione.

L'opacizzazione della capsula posteriore dopo intervento di faco-IOL è dovuta essenzialmente alla proliferazione delle cellule endoteliali, formazione di collagene, ispessimento e fibrosi della capsula stessa. Si comprende bene che quanto più si esegue una chirurgia minimale e pulita, tanto più la probabilità di rompere la capsula posteriore e indurre secondarie diminuisce. Non sempre tutto questo è possibile, né è facilmente prevedibile, per cui l'uso dello Nd:YAG, almeno per ora, resta l'unica possibilità valida ed efficace per eseguire una capsulotomia nei pazienti operati di cataratta.

TECNICHE DI ESECUZIONE

La preparazione del paziente, necessaria e importante per evitare inconvenienti e false attese, si riassume essenzialmente nel consenso informato, nel discutere rischi e benefici, nella dilatazione pupillare che, anche se opzionale, a mio parere resta necessaria, e nella possibilità di aver fatto assumere al paziente in anticipo e per tempo un FANS in collirio (preferisco indometacina). L'uso della lente a contatto aiuta molto ad aumentare la precisione della messa a fuoco e a mantenere più immobile il bulbo, anche se non è essenziale per la procedura. Vorrei porre l'accento sull'opportunità e utilità, poco praticata, di fotografare l'opacità capsulare che si sta per incidere. Da eseguire più efficacemente in retroilluminazione è un utile report, per ogni evenienza, anche medico legale, economico e pratico, per attestare iconograficamente l'effettiva necessità dell'intervento, oltre ogni possibile futura discussione. Roger F. Steinert della UCI, University California Irvine, traccia in modo lineare ed estremamente preciso quali dovrebbero essere le sequenze per una corretta capsulotomia Nd:YAG laser. In sostanza afferma di [11] (fig. 3):

- *usare la minima energia possibilmente 1 mJ*
- *identificare le linee di tensione della capsula per inciderle*
- *procedere con colpi incrociati da ore 12 verso ore 6 e da ore 3 verso 9*
- *pulire eventuali lembi o ponti residui*
- *evitare frammenti liberamente fluttuanti*

Le possibilità di interrompere la capsula posteriore sono molteplici e varie sono le sequenze riportate in letteratura. Personalmente procedo



fig. 3 - Sequenza della capsulotomia Nd:YAG laser secondo Roger F. Steinert.

portando colpi d'intensità proporzionati alla densità della fibrosi da tagliare, generalmente mai sopra 3 mJ e di preferenza tra 1 e 2 mJ, iniziando da ore 12, allargandomi non oltre i 4 mm di diametro, nasalmente e temporalmente, e cercando di eseguire una breccia più possibile circolare; non taglio la capsula alla base, da ore 5 ad ore 7. In tal modo la capsula tagliata resta intera, con forma simile ad un ferro di cavallo, ad "U" rovesciata. Per gravità si depositerà sulla restante capsula equatoriale con tempi che dipendono dall'eventuale presenza di tralci vitreali da tagliare, se persistenti, con minime energie, dopo un utile tempo di attesa del paziente in posizione seduta. Una precoce quanto auspicabile fibrosi può, in un secondo tempo, fissare definitivamente il lembo tagliato alla restante capsula e immobilizzarlo, a

tutto vantaggio della trasparenza del vitreo. Si evita con tale modalità di taglio la formazione di flutters, tanto fastidiosi alla visione finale del paziente, frequente causa d'insoddisfazione visiva dopo capsulotomia Nd:YAG.

Questa sequenza ha tra l'altro il vantaggio che gli eventuali quanto poco evitabili pitting (fenditura, scalfittura, intaccatura) sulla IOL, per la perdita della messa a fuoco dei puntatori laser sul piano capsulare, non produrranno aberrazioni o glare secondari. Se provocati, saranno disposti in area medio-periferica, fuori dall'asse ottico visivo, quasi sempre ricoperti dal piano irideo anche in condizioni mesopiche/scotopiche. Caso a parte è la presenza di diametri pupillari in partenza molto ampi (figg. 4,5,6,7).

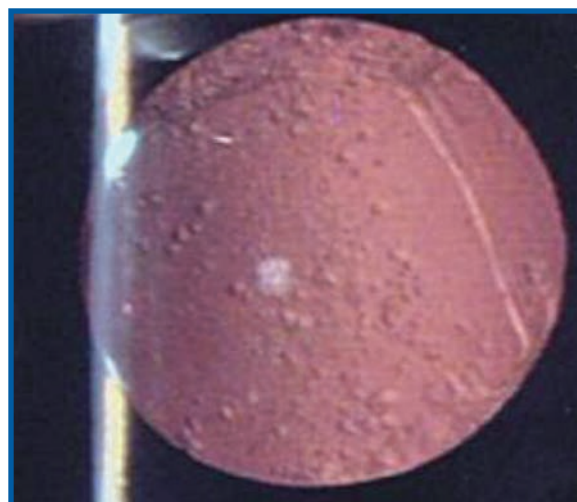


fig. 4 - Retroilluminazione dell'opacità capsulare.



fig. 5 - Primo colpo Nd:YAG ad ore 12.

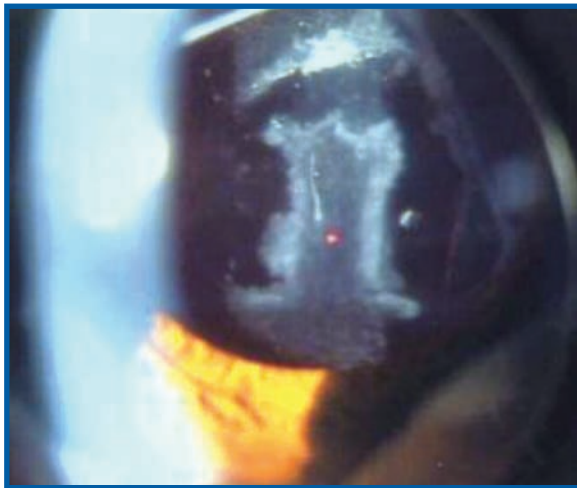


fig. 6 - Sequenza di colpi Nd:YAG laser da ore 12 ad ore 5 e da ore 12 ad ore 7; briglia vitreale trattiene ad ore 12 il lembo capsulare.



fig. 7 - Capsulotomia Nd:YAG terminata con pitting tra ore 3 e ore 4.

DIAMETRO DELLA CAPSULOTOMIA

Il diametro della capsulotomia dovrebbe tenere conto delle condizioni fisiologiche della pupilla, ed evitare, per quanto possibile, che il bordo della ressi (capsulotomy edge) possa intercettare l'asse visivo. Dovrebbe essere maggiore del diametro pupillare in condizioni di media illuminazione; se rispettata questa condizione, durante le ore notturne e nella guida dopo il tramonto, non saranno riferiti fastidi visivi post-trattamento. Una capsulotomia di diametro contenuto è consigliabile nelle miopie elevate e in caso di rischio per distacco di retina, così come in presenza di capsule molto spesse. Un maggiore spessore della capsula posteriore richiederebbe, infatti, grandi energie per essere ottenere diametri di 4 mm.

Al contrario, con capsule posteriori opache omogeneamente, eseguire capsulotomie troppo piccole potrebbe non soddisfare le esigenze visive qualitative del paziente. In caso di difficoltà nella dilatazione, si può portare a termine una buona capsulotomia con i movimenti volontari del bulbo, facendo attenzione a non intercettare il bordo pupillare irideo.

Per non eccedere nel diametro dell'apertura da praticare, bisogna considerare il frequente, per non dire costante, aumento del diametro della ressi nelle sei settimane dopo Nd:YAG, anche del 32%, con tendenza verso forme circolari [12].

D'altra parte, è noto che glare e haze, abituali con piccoli diametri di apertura capsulare da 1 mm a 3 mm, si riducono e quasi si eliminano completamente con aperture di 4 mm (fig. 8).

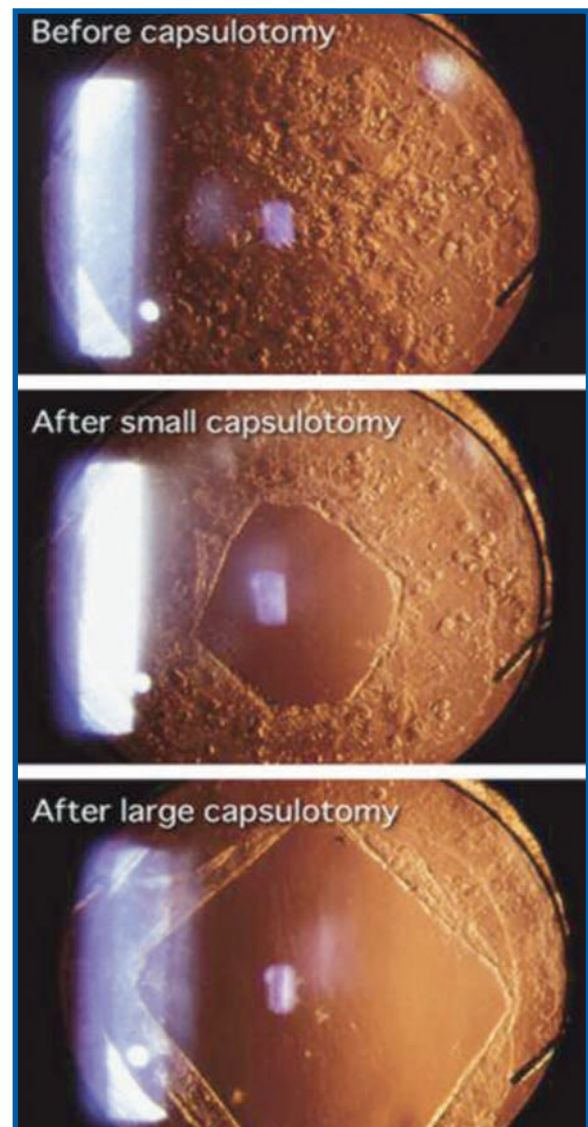


fig. 8 - Opacità della capsula posteriore con capsulotomia di piccolo e grande diametro.

La decisione finale è affidata, per quanto detto, al nostro senso clinico, al rispetto delle caratteristiche generali e complessive del singolo bulbo oculare, all'intuito personale per possibili inconvenienti nel breve/lungo periodo, oltre che nel rispettare i protocolli descritti in letteratura, di cui si dirà in seguito.

CONTROINDICAZIONI ED EFFETTI COLLATERALI

Esistono controindicazioni assolute e relative alla capsulotomia posteriore, riportate in numerosi report, evenienze comunque non frequenti e relativamente rare.

Controindicazioni assolute:

- *Cicatrici corneali, irregolarità e/o edema corneale*
 - *Inadeguata stabilità del bulbo*
 - *Inadeguata stabilità della IOL*
- Controindicazioni relative:*
- *Presenza e/o sospetto di Edema Maculare Cistoide CME*
 - *Processi infiammatori intraoculari attivi*
 - *Alto rischio di distacco di retina o occhio adelfo con distacco di retina*

I possibili effetti collaterali sono diversi e, generalmente, poco evitabili o prevedibili, anche con una scrupolosa preparazione del paziente. Il rialzo della IOP è di solito presente, con percentuali dal 15% al 67%, con picchi fino a 10mmHg dal tono basale nelle 3/5 ore dopo Nd:YAG, con ritorno alla normale tensione (baseline) nella prima settimana.

Un aumento dello spessore maculare con eventuale formazione di CME si registra tra lo 0,55% e il 2,5%, un distacco di retina tra lo 0,08% e il 3,6%, una rottura retinica nei trenta giorni seguenti nel 2,1%, per lo più totalmente asintomatica [13,14]. Le lesioni involontarie della IOL, i cosiddetti pitting sono, invece, molto più frequenti, dal 15% al 33%, di solito senza significative alterazioni visive.

Se i pitting sono numerosi e concentrati in area ottica, possono alterare la qualità visiva finale del paziente, tanto da far registrare in letteratura casi di espianti e reimpianti di IOL per glare e aberrazioni del fronte d'onda dovuti a lesioni multiple da Nd:YAG laser nella zona ottica delle IOL (fig. 9).

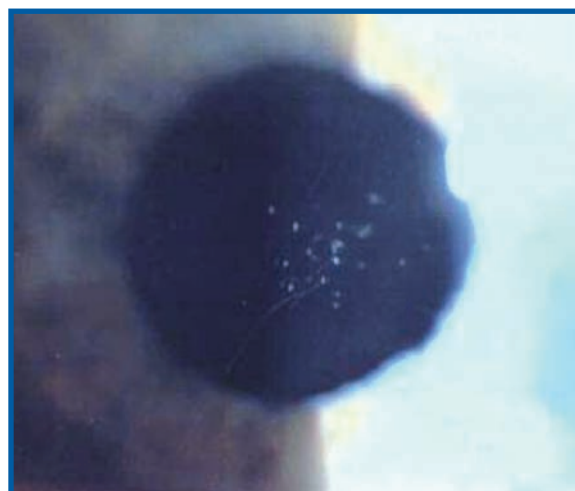


fig. 9 - Pitting della IOL in zona ottica.

Altre complicazioni come endoftalmiti, fori maculari, iriti, danni dell'endotelio corneale o dislocazioni della IOL, sono evenienze più rare, anche se presenti e descritti.

Yyup Karahan et al., in una completa Review del 2014, dopo un'ampia disamina di questa tecnica laser, affermano che sia il rialzo della IOP che l'ispessimento della retina maculare sono eventi inevitabili nella capsulotomia posteriore Nd:YAG laser.

Gli autori nel loro lavoro rendono ben evidente altresì che diametri di taglio più contenuti e minori energie laser diminuiscono di molto tutte le complicanze; nella maggior parte dei casi trattati la capsulotomia Nd:YAG è sicura ed efficace. [15,16].

ACCORGIMENTI ESECUTIVI

I problemi più importanti da prendere in considerazione per una buona e corretta capsulotomia Nd:YAG laser a mio parere sono:

- *studio dettagliato del paziente*
- *messa a fuoco sulla capsula dell'aiming beam (infrarosso ~640nm di lunghezza d'onda)*
- *energia applicata, il numero di spot eseguiti e la loro localizzazione topografica*
- *terapia medica pre e post-intervento*

Non mi soffermo sul primo punto, già trattato, perché è chiaro che se non conosciamo le esigenze ed aspettative del paziente, non sappiamo se la capsula è integra, se la IOL ha una donesi ai movimenti bulbari, o se la IOL impiantata è una multifocale o rifrattiva, la nostra capsulotomia po-

trebbe risultare dannosa e/o provocare inconvenienti anche gravi alla qualità visiva del paziente. Ancor più importante è accertarsi delle condizioni vitreo-retiniche maculari, in periferia, o della presenza di infiammazioni in atto o pregresse.

La messa a fuoco dell'aiming beam, a quattro spot o monospot, che fa da guida al raggio laser su piani di spessore spesso differenti per irregolare fibrosi o proliferazione di cellule, non è cosa sempre facile da ottenere.

Spesso molti colpi vanno a vuoto per perdita di messa a fuoco, complici i tempi ristretti d'esecuzione dell'impatto, soli 4 nanosecondi, nonostante le possibilità di spostare i puntatori del laser sul piano focale (offset d'impatto) (fig. 10).

I dati tecnici degli Nd:YAG, con poche differenze tra i vari device in commercio, sono:

- offset d'impatto da 30 a 200 μm dietro il piano focale
- durata costante dell'impulso 4 nanosecondi
- 8/10 μm diametro dello spot
- minima energia 0.5 mJ aumentabile fino a 10 mJ

Con l'uso di IOL rifrattive/diffrattive/accomodative, sempre più performanti e costose, eseguire una perfetta capsulotomia quasi persona-

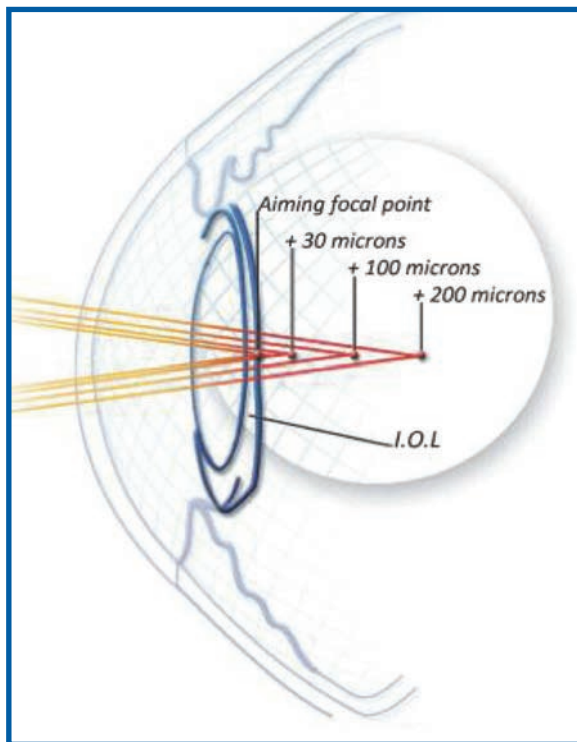


fig. 10 - Focal point di un Nd:YAG laser.

lizzata, senza creare danni alle ottiche, spostare il piano ottico o modificare l'asse di rotazione impostato, è condizione ancora più necessaria, del tutto indispensabile.

L'uso dello Nd:YAG in quest'ultimo periodo è stato molto rivalutato per la vitreolisi dei flutters, pratica terapeutica non recente, che ha acceso rinnovati interessi e molte discussioni sull'effettiva utilità e sicurezza di questa procedura [17,18].

La cura delle ottiche per una messa a fuoco la più precisa possibile, resta un punto critico degli Nd:YAG laser, migliorata e modificata nei device dedicati al taglio dei flutters (Ultra Q laser Nd:YAG, Ellex, Adelaide, Australia).

L'energia applicata, il numero totale degli spot, come la scelta topografica sulla zona della capsula posteriore da incidere sono, come facilmente intuibile, determinanti e discriminanti per una ottimale esecuzione.

Il potere del laser, come ribadito, non dovrebbe andare oltre i 3mJ, con preferenza per poteri tra 1mJ e 2mJ. Il punto da perseguire per applicare basse energie resta sempre la corretta messa a fuoco della guida del raggio laser, altrimenti invisibile.

Una messa a fuoco ottimale, infatti, è il presupposto per l'utilizzo di minori poteri. I puntatori possono essere di vario numero e fattura. Alcune volte si creano doppie immagini nella messa a fuoco dell'aiming beam, causa più frequente di errori.

Il conteggio degli spot nel display del nostro laser ci indica l'energia totale immessa (mJ totali = numero dei colpi x mJ impostati per colpo); meno colpi e meno energia sono la strada per non avere complicazioni.

Sulla sede dove eseguire il taglio si è già detto. Puntare in area ottica è procedura descritta, largamente praticata, che personalmente non eseguo e sconsiglio.

Un utile aiuto per diminuire l'inevitabile infiammazione dopo capsulotomia è l'uso di FANS a colliri, preferibilmente in monodose per lungo tempo.

Questo evita, per quanto possibile, la proliferazione del bordo capsulare e le vitreiti, difficilmente diagnosticabili, tanto più frequenti se è necessario rompere dei tralci vitreali che trattengono un lembo della capsula già tagliata in zona ottica, oltre ai comprovati svantaggi sullo spessore retinico. In questi casi bisogna diminuire il potere del Nd:YAG per non "riscaldare" inutilmente il vitreo.

La proliferazione del bordo della capsula tagliata è un'evenienza non frequente; alcune volte la proliferazione chiude la breccia effettuata.

Tale processo è dovuto alla proliferazione delle cellule di Elschnig (Anton Elschnig 1863/1939). Anche se è un evento auto limitante, come dimostrato da Caballero et al., quest'evenienza costituisce un limite importante alla qualità visiva del paziente specie di notte [19].

L'uso di colliri FANS per lungo tempo e un taglio lineare, continuo e non frastagliato, limitano quest'eventualità in modo consistente.

CONCLUSIONI E CONSIDERAZIONI FINALI

I laser hanno apportato tante novità e indiscussi benefici nel campo medico e, ancor più, in oftalmologia. La diffusione e l'utilizzo di questi device sono cresciuti negli anni, dagli argon per la fotocoagulazione retinica agli eccimeri che vaporizzano e "ablano" il tessuto corneale per correggere difetti rifrattivi, ai recenti laser a Femtosecondi (Femtolasers o Intralasers), in grado di scolpire la cornea se utilizzati nella chirurgia refrattiva, con tecnica FLEX, Femto Lenticule Extraction, o SMILE, Small Incision Lenticule Extraction, oppure nel tagliare la capsula anteriore e frammentare il nucleo nell'intervento di cataratta [20,21].

Il Femtolasers non è altro che un laser Nd:YAG pulsato allo stato solido che produce un treno d'impulsi a frequenza elevatissima, nell'ambito dei femtosecondi (10^{-15}).

Di recente si è introdotto un laser a nanosecondi nell'infrarosso (10^{-9}) che può utilmente essere impiegato nella frammentazione del cristallino tramite manipolo, e affiancare il Femtolasers nella procedura cosiddetta "All laser" per l'intervento di cataratta [22]. Nonostante tanta rinnovata tecnologia lo Nd:YAG resta tra i più utilizzati device non solo in campo medico ed oftalmologico. Il suo impiego ambulatoriale, comunemente privo d'inconvenienti, può indurre a volte ad abbassare la guardia.

È un obbligo e un dovere verso i nostri pazienti non sottostimare gli atti clinici e, ancor più quelli chirurgici. A tale monito ci richiama una frase del grande Albert Einstein che, con il suo articolo sulla teoria quantistica delle radiazioni del 1917 "Zur Quantentheorie der Strahlung", ha posto le basi

teoriche del funzionamento del laser: "Tutto dovrebbe essere reso il più semplice possibile, ma non più semplicistico" [23].

Quest'ammonimento ben si addice allo spirito con cui dobbiamo sempre affrontare una capsulotomia Nd:YAG laser. Mantenere alti gli standard d'esecuzione con la qualità dei risultati è possibile solo non sottovalutando le procedure di sicurezza che una medicina moderna, sempre più esigente, pretende da ogni nostro atto medico o chirurgico, regole valide anche nelle capsulotomie.

REFERENCES

- 1) Frezzotti R, Caporossi A. Pathogenesis of posterior capsular opacification. Part I. Epidemiological and clinico-statistical data. J Cataract Refract Surg.1990;16(3):347-352.
- 2) Awan MT, Khan MA, Al-Khairi S, Malik S. Improvement of visual acuity in diabetic and nondiabetic patients after Nd:YAG laser capsulotomy. Clin Ophthalmol. 2013. 7:2011-7.
- 3) Alessio Pirastu. Laser in Medicina. Seminario Conclusivo, Corso di Ottica Quantistica. Università di Pisa, aa 2000/01.
- 4) Aron-Rosa D, Aron JJ, Griesemann M, yzel R. Use of the neodymium-YAG laser to open the posterior capsule after lens implant surgery: a preliminary report. J Am Intraocul Implant Soc.1980 Oct; 6(4):352-4.
- 5) Fankhauser F, Roussel P, Steffen J. Clinical studies on the efficiency of high power laser radiation upon some structures of the anterior segment of the eye. First experiences of the treatment of some pathological conditions of the anterior segment of the human eye by means of a Qswitched. Int Ophthalmol.1981 May;3(3):129-39.
- 6) J.E. Geusic, H.M. Marcos e L.G. van Uitert. Laser oscillations in Nd-doped yttrium aluminum, yttrium gallium and gadolinium garnets in Applied Physics Letters, 4 10, 1964, pp. 182-184.
- 7) G.S. Gopinath, K Satish, Nirati Srivastava, Savita Patil, Raheela Afshan. Visual Outcome and Complications of YAG Laser therapy for Posterior Capsular Opacification Following Cataract Surgery. International Journal of Scientific Study | June 2015 | Vol 3 | Issue 3.
- 8) Apple DJ, Peng Q, Visessook N, Werner L, Pandey SK, Escobar-Gomez M, Ram J, Auffarth

- GU. Eradication of posterior capsule opacification: documentation of a marked decrease in Nd:YAG laser posterior capsulotomy rates noted in an analysis of 5416 pseudophakic human eyes obtained postmortem. *Ophthalmology*. 2001 Mar;108(3):505-18.
- 9) Oner FH, Gunenc U, Ferliel ST. Posterior capsule opacification after phacoemulsification: Foldable acrylic versus poly (methyl methacrylate) intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg* 2000; 26:722-6.
- 10) Kara N, Yazici AT, Bozkurt E, et al. Which procedure has more effect on macular thickness: Primary posterior continuous capsulorhexis (PPCC) combined with phacoemulsification or Nd:YAG laser capsulotomy? *Int Ophthalmol*. 2011 Aug;31(4):303-7.
- 11) Roger F. Steinert. Nd:YAG Laser Posterior Capsulotomy. www.aaao.org/.../ndyag-laser-posterior-capsulotomy.
- 12) Clayman HM, Jaffe NS. Spontaneous enlargement of neodymium: YAG posterior capsulotomy in aphakic and pseudophakic patients. *J Cataract Refract Surg* 1988; 14:667-9.
- 13) Ficker LA, Steel AD. Complications of Nd: YAG laser posterior capsulotomy. *Trans Ophthalmol Soc U K*. 1985;104 (Pt 5):529-32.
- 14) Keates RH, Steinert RF, Puliafito CA, Maxwell SK. Long-term follow-up of Nd:YAG laser posterior capsulotomy. *J Am Intraocul Implant Soc*. 1984 Spring;10(2):164-8.
- 15) Eyyup Karahan Duygu Er Suleyman Kaynak. An Overview of Nd:YAG Laser Capsulotomy. *Review Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol*. 2014; 3(2).
- 16) Altıparmak UE, Ersoz I, Hazirolan D, et al. impact of Nd:YAG capsulotomy on foveal thickness measurement by optical coherence tomography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2010 Jan-Feb;41(1):67-71. PMID: 20143510
- 17) Inder Paul Singh. How YAG laser vitreolysis can be used in practice for treatment of floaters. *Ophthalmology times* 2014.
- 18) Toczowski J, Katski W. Use of Nd:YAG laser in treatment of vitreous floaters. *Klinika Oczna*. 1998, 100(3):155-157.
- 19) Antonio Caballero, Christian Garcia-Elskamp, Manuel Losada, Magdalena Salinas, José-Maria Marin. Natural evolution of Elschnig pearl posterior capsule opacification after posterior capsulotomy. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. December 2001 Vol 27, Issue 12, Pages 1979-1986.
- 20) Walter Bethke. Taking Femto Cataract To the Next Level. *Review of Ophthalmology*. 4/2/2014.
- 21) Christopher Kent. Femto Cataract: Do We Really Need This? *Review of Ophthalmology*. 4/5/2012.
- 22) Kannellopoulos A.J. All-laser bladeless cataract surgery, combining femtosecond and nanosecond lasers: a novel surgical technique. *Clinical Ophthalmology* 2013; 7:1791-1975.
- 23) Zur Quantentheorie der Strahlung, von Albert Einstein. Mit vollständiger Zitierung der Veröffentlichung in: *Phys. Z.* 18 (1917) 121-128.

CAPITOLO 13

LA TONOMETRIA BIOMECCANICA

INTRODUZIONE

Il rapporto tra oftalmologia e biomeccanica si è instaurato nel campo della ricerca ormai da tempo. Di recente questa collaborazione ha portato sul mercato innovativi device nel rilievo tonometrico, con risposte ed analisi numeriche da studiare ed indagare ancora pienamente. Le conoscenze emerse dagli studi biomeccanici sull'occhio hanno aperto nuovi orizzonti nella fisiopatologia di alcune malattie oculari, e l'aspetto biomeccanico è ormai entrato di diritto in molte malattie oculari. L'occhio è un organo che si presta molto favorevolmente all'indagine biomeccanica e la cornea, prima di altre strutture oculari, è stata oggetto d'interesse da parte della bioingegneria per la chirurgia refrattiva e il cheratocono. Gli studi biomeccanici più numerosi sono stati però eseguiti sulla tonometria, anche se l'aspetto biomeccanico coinvolge pienamente cristallino, vitreo, nervo ottico, retina e motilità oculare.

La biomeccanica è una branca della bioingegneria e studia il comportamento delle strutture biologiche sottoposte a vari tipi di sollecitazioni esterne, statiche o dinamiche. Tra i manoscritti sulla biomeccanica il *"De Motu Animalium"* del 1680 di Giovanni Alfonso Borelli (Napoli 1608/Roma 1679), allievo di Galileo Galilei (Pisa 1564/Arcetri 1642) è il primo concreto avvicinamento scientifico tra il mondo della meccanica e la biologia. Nel 1939 fu pubblicato da E. A. Kotikov, docente all'Università di Leningrado, oggi San Pietroburgo, il manoscritto *"La biomeccanica degli esercizi fisici"*, vera pietra miliare per i futuri studi di questa disciplina. Per molti anni l'allora URSS fu considerata la patria della biomeccanica e, a conferma di ciò, dal 1958 lo studio di questa materia fu reso obbligatorio in tutta la confederazione russa nelle scuole superiori di educazione fisica. Lo studio biomeccanico dei tessuti oculari ha avuto particolare e importante sviluppo soprattutto nell'ambito della malattia glaucomatosa, e non solo per la tonometria. Anche se il rapporto tra medicina e meccanica è una realtà scientifica consolidata, le scuole di ricerca in biomeccanica oculare non sono, ancor oggi, numerose.

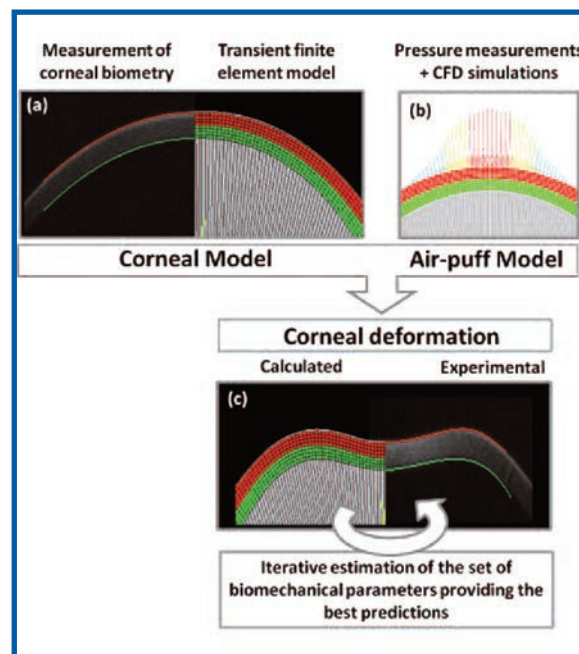


Fig 1 - Rappresentazione delle proprietà biomeccaniche corneali (Finite Element Analysis) con deformazione in vivo da Air-Puff (da Sabine Kling et. al)

Negli USA Claude F. Burgoyne e J. Crawford Downs, prima insieme a Portland, Oregon, e ora anche a Birmingham, Alabama, hanno da anni studiato l'applicazione dei principi biomeccanici alla papilla ottica e alla lamina cribrosa, con decine di pubblicazioni scientifiche sull'argomento. La perdita della vista nel glaucoma, seconda causa di cecità al mondo, può avvenire, com'è noto, con livelli normali e/o elevati di pressione intraoculare IOP, Intra Ocular Pressure [1]. La testa del nervo ottico ONH, Optical Nerve Head, in numerosi studi e ricerche, ha dimostrato di essere il luogo principale dei danni glaucomatosi, biomeccanicamente più suscettibile alla IOP [2]. La papilla ottica è, infatti, un tessuto che possiamo definire biomeccanicamente *"compliant"*, incastonato nel guscio sclerale *"the corneoscleral envelope"*, relativamente resistente [3].

Le problematiche sulla misurazione del tono oculare non sono recenti; le conoscenze sul comportamento biomeccanico della cornea, e più in generale del segmento anteriore, anche se ampiamente affrontate, non sono state ancora pienamente risolte [4]. Sebbene i danni al sistema

visivo nel glaucoma siano multifattoriali, la misurazione precisa del tono oculare resta essenziale. Altrettanto decisivo è conoscere come le strutture bulbari, in particolar modo l'area papillare, rispondano alle sollecitazioni meccaniche della IOP (fig. 1). In questo capitolo si discuteranno brevemente le più recenti conoscenze biomeccaniche sulla tonometria, tralasciando l'aspetto biomeccanico sull'ONH discusso nel capitolo dedicato alla lamina cribrosa.

BIOMECCANICA CORNEALE

La cornea è una struttura che presenta proprietà viscoelastiche; deformandosi alle sollecitazioni esterne, permette una misura indiretta della IOP. Alcuni nuovi device, da poco in commercio, misurano, oltre la IOP, alcune qualità biomeccaniche corneali che sono dedotte dalla misura del tempo di introflessione corneale per la forza esterna applicata, senza peraltro riuscire a definire, in modo completo, integrato ed esaustivo, il complessivo ruolo di tutte le resistenze meccaniche, corneali e del segmento anteriore, sul valore finale della IOP. In generale, le proprietà meccaniche di un tessuto biologico dipendono dall'organizzazione strutturale delle fibre, delle cellule e della sostanza intercellulare [5]. Il collagene e l'elastina sono responsabili della resistenza/forza e in parte dell'elasticità di un tessuto, mentre la sostanza/matrice fondamentale è responsabile principalmente delle proprietà viscoelastiche [6]. Nella cornea umana il collagene, l'elastina e i glicosaminoglicani dello strato di Bowman e soprattutto dello stroma, che insieme determinano l'80% del peso a secco e il 90% dello spessore corneale, conferiscono alla cornea caratteristiche principalmente elastiche. La sostanza fondamentale, costituita da proteoglicani, cheratociti e fibroblasti con l'epitelio ne determinano, invece, il comportamento viscoso [7]. Negli ultimi anni l'interesse per la biomeccanica corneale è enormemente cresciuto per predire la risposta corneale negli interventi tettonici refrattivi, oltre che nella patogenesi del cheratocono [8-10]. La riscoperta dell'importanza dello spessore corneale nella misura della IOP si deve alla pubblicazione dei risultati dell'OHTS, Ocular Hypertension Treatment Study, nel 2002 [11]. Da questi studi emerge un ruolo non secondario della pachimetria sulla misura del tono misurato. La biomeccanica corneale è stata so-

prattutto valutata con studi in vitro, misurando lo Stress/Strain dei tessuti e il modulo di Young in cornee sane isolate di maiale. La trasposizione sul vivente dei risultati sperimentali ottenuti in vitro non è, come facilmente intuibile, semplice, e ha avuto spesso tempi lunghi di realizzazione [12].

PRINCIPI DI BIOMECCANICA DEI TESSUTI BIOLOGICI

La formulazione della legge dell'elasticità per i corpi solidi si deve all'inglese Robert Hooke (1625/1703). L'allungamento di un corpo soggetto a trazione, una molla nell'esperimento proposto, si allunga in modo proporzionale alla forza applicata $F = K\Delta$, dove F = forza applicata, Δ = deformazione subita, K = coefficiente elastico. L'allungamento prodotto in una molla Δ è, quindi, direttamente proporzionale alla forza F applicata per un coefficiente K espresso in N/m (Newton/metri). La legge di Hooke è valida per la maggior parte dei minerali, per il vetro, per i materiali ceramici e per i metalli duri, mentre per i metalli duttili è vera solo per carichi modesti; comunque non è applicabile alla cornea. Nei limiti del comportamento elastico questa legge può essere meglio riformulata introducendo i concetti di *Stress/Tensione* (σ) e *Strain/Deformazione* (ϵ). La deformazione ϵ di una struttura elastica è direttamente proporzionale allo *Stress/Tensione* σ , per cui $\sigma = E \epsilon$, dove E è il *modulo di Young* (Thomas Young 1773/1829) o modulo di elasticità, mentre ϵ rappresenta la Deformazione relativa Strain. Di conseguenza si ha:

$$E = \sigma / \epsilon$$

$$E = \text{Stress} / \text{Strain}$$

$$E = \text{Forza (per unità di area)} / \text{Deformazione (per unità di lunghezza)}$$

Il modulo di Young fornisce una misura indiretta della durezza del materiale elastico in esame; maggiore è il suo valore, più alta è la resistenza che offre alla deformazione tensile (*stiffer material, not easy to bend*). In altre parole, un modulo di Young relativamente piccolo indica che il materiale in oggetto è flessibile e richiede uno sforzo modesto per una sua deformazione; un modulo di Young grande indica, invece, che il materiale è rigido, e che lo sforzo per averne una deformazione deve essere intenso. Il comportamento elastico ideale, non riscontrabile nei materiali biologici, è sempre reversibile, hookiano, e l'allungamento dipende

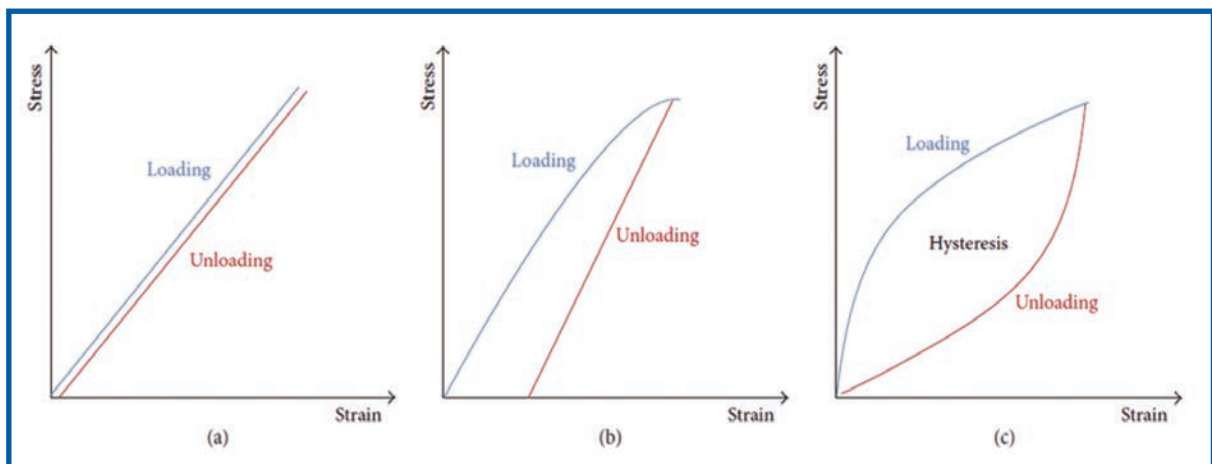


Fig 2 - Ciclo di carico-scarico, loading-unloadig, per materiali elastici (a), plastici (b) e viscoelastici (c).

linearmente dall'intensità della forza applicata, per cui tutti gli oggetti riacquistano la loro lunghezza originale al cessare della forza stessa. Le espressioni che descrivono fedelmente questo principio hookeiano sono: *"ut tensio, sic vis"*, *"as the extention, so the force"*, *"come l'estensione, così la forza"*. I materiali inoltre possono essere isotropi o anisotropi. I materiali biologici raramente sono isotropi, con proprietà meccaniche omogenee in ogni direzione. Comunemente sono, al contrario, anisotropi, con proprietà meccaniche diverse nelle varie direzioni (fibre, cristalli). La cornea non si sottrae a questa regola. È un materiale biologico anisotropo, con caratteristiche meccaniche differenti, non indipendenti per ogni punto; le sue proprietà elastiche non rispondono alla legge di Hooke. Questo complica enormemente i modelli di calcolo, sia per caratterizzare biomeccanicamente la sua deformazione a sollecitazioni esterne, utile per la tonometria, sia per spiegare meccanicamente le modifiche tettoniche del suo profilo, indispensabili per una più puntuale chirurgia refrattiva. La relazione grafica tra Stress-Strain di un materiale elastico è rappresentata da una linea retta (fig. 2) [13].

La costante di proporzione che relaziona lo Stress e lo Strain è rappresentata dal modulo elastico di Young E . Il modulo di Young della cornea è stato misurato e varia, secondo differenti studi, tra 0.1 e 57 MPa, valori molto ampi, in parte giustificati dai diversi metodi utilizzati nei test in vitro [14,15]. Hamilton e Pye, usufruendo dell'algoritmo di Orssengo-Pye, molto recentemente, su 100 occhi sani hanno trovato valori di E uguali a 0.29 ± 0.06 MPa (tra 0.13 e 0.43 MPa), con correlazioni

positive della IOP misurata al tonometro di Goldmann [16]. Il Pascal Pa o suoi multipli, il Mega-Pascal MPa, sono un'unità di misura equivalenti a un Newton per m^2 o per mm^2 , grandezze più comunemente utilizzate per i tessuti biologici con piccole superfici come la cornea ($1\text{MPa}=1\text{N}/mm^2$).

$1\text{Pa} = 1\text{ N}/m^2$; ne deriva $1\text{MPa} = 1\text{N}/mm^2$; ($1\text{MPa} = 10^6\text{N}/m^2 = 1\text{N}/mm^2$).

Nel comportamento viscoso il tessuto è caratterizzato dall'aver una velocità di deformazione più rapida del rilassamento, per cui i tempi di recupero della forma originale sono rallentati. Questo comportamento, intermedio tra quello di un solido elastico e quello di un fluido viscoso, è dovuto alla struttura del materiale, all'intima configurazione istologica dei tessuti e, nel caso della cornea, principalmente alla matrice extracellulare [17]. I materiali biologici viscoelastici hanno un comportamento biomeccanico difficilmente riconducibile a modelli meccanici precostituiti semplici.

Nella figura n. 2 è mostrato il diagramma Stress/Strain per materiali con caratteristiche elastiche(a), plastiche(b) e viscoelastiche(c). Per i materiali viscoelastici si nota il diverso tragitto, loading e unloading, carico e scarico: lo spazio tra le due curve, proprio di ciascun materiale, è conosciuto come Hysteresis. Il termine deriva dal greco (ὕστέρησις, *hystéresis* = ritardo). Coniato inizialmente da James Alfred Ewing nel 1890, il termine ha esteso molto il suo originario significato, ed è utilizzato correntemente non solo in fisica, ma anche in biologia ed economia.

ISTERESI CORNEALE

Il trasferimento in applicazioni strumentali delle evidenze scientifiche che emergono dalle ricerche specialmente in fisica e, in particolare in biomeccanica, non è sempre agevole e scontato. Spesso i risultati sperimentalmente trovati in vitro hanno bisogno, prima di tradursi in device utilizzabili clinicamente, di lunghi tempi di verifica e convalida, ed essere confermati da riscontri incrociati. L'isteresi corneale (CH, Corneal Hysteresis), è una misura indiretta della resistenza corneale alla deformazione esternamente indotta tramite un soffio d'aria. L'ORA Ocular Response Analyzer (Reichert Ophthalmic Instruments, Buffalo, New York, USA) è un tonometro a soffio non a contatto in commercio dal 2005 che misura la CH, utilizzando rapidi impulsi d'aria sulla cupola corneale [18]. È stato il primo device ad applicare principi di biomeccanica per la misurazione della IOP. Con un sistema elettro-ottico avanzato, ORA misura, nel senso del vettore del flusso d'aria, due valori della IOP, P1 e P2 nei due tempi di passaggio della cupola corneale nella posizione di appianazione media, dall'iniziale convessità di riposo alla concavità raggiunta dal profilo corneale (inward e outward). Durante i 20 millisecondi di tempo necessari per tale doppia appianazione, il sistema ottico dell'ORA controlla i 3 millimetri centrali corneali, con il rilievo dei toni nei due momenti d'appianazione, in andata ed in ritorno. Le due misurazioni sono differenti per valore rilevato: la loro media costituisce il valore di IOP Goldmann-correlato (IOPg), mentre la loro differenza temporale individua la CH ($CH = P1 - P2$), parametro correlato alle caratteristiche biomeccaniche della cornea in esame (fig. 3).

Basse CH (*Low CH*), evidenziano scarsa capacità ad assorbire l'energia (*damping*), come avviene nel cheratocono, nella distrofia di Fuchs, nei pazienti sottoposti a lasik. Cook et al., in una recente Review sistematica con relativa meta-analisi, hanno valutato l'affidabilità di otto tonometri in commercio: *Dynamic Contour Tonometer*, *Non-contact Tonometer (NCT)*, *Ocular Response Analyzer (ORA)*, *Ocuton S*, *Handheld Applanation Tonometer (HAT)*, *Rebound Tonometer*, *Transpalpebral Tonometer*, e il *Tono-Pen* confrontati col GAT, Goldmann Applanation Tonometer, riportando il calcolo della IOP compensata, che la CH sembra misurare, con relativa implementazione algoritmica. Passando al dettaglio 102 studi su singoli tonometri e 130 di comparazione bilaterale, l'*agreement* limite tra i tonometri era del 95%. Inoltre è emerso che NCT e HAT hanno misurazioni molto vicine al GAT; si è riscontrata altresì sempre una variabilità non trascurabile in tutti gli studi presi in considerazione [19-21]. Kaushik et al., in uno studio con 323 partecipanti, arrivano alla conclusione che la IOP trovata con ORA non è intercambiabile, né tanto meno sostituibile, al momento attuale, con la tonometria ad appianazione di Goldmann, mitigando ogni iniziale entusiasmo verso queste nuove metodiche, bisognevoli di ulteriori approfondimenti [22]. Altri autorevoli autori, come Kaushik, non solo per il glaucoma, hanno tuttavia puntualizzato le possibili future utilità della misura della CH, confermando la necessità di ulteriori utili convalide, insufficienti al momento attuale per validare totalmente i risultati ottenuti [23]. Dall'autunno 2011 è in commercio il Corvis ST, Corneal Visualization Scheimpflug Technology (Oculus, Wetzlar, Germania), tonometro-pachimetro non a contatto con visualizzazione e misura della risposta alla de-

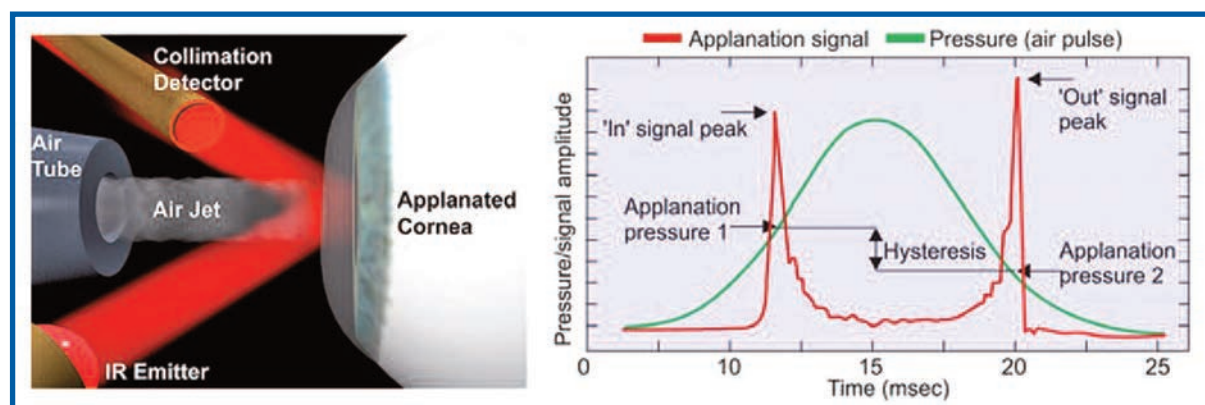


Fig 3 - Sistema ottico dell'analizzatore (a sinistra) e isteresi corneale (a destra) di ORA.

formazione corneale per impulso d'aria. Utilizza una Scheimpflug camera ultraveloce (4330 frames/sec), 576 punti di misura per immagine, range di misurazione e copertura orizzontale di 8,5 mm, range pachimetrico tra 200 μm e 1200 μm , risoluzione dell'immagine di 640/480 pixel.

Łukas Reznicek et al. hanno trovato un'ottima ripetibilità e accuratezza, in soggetti sani con ipertensione oculare e/o glaucoma conclamato, tra i dati forniti dal Corvis e il GAT per quanto riguarda la IOP, e tra i dati forniti dal Corvis e gli ultrasuoni per la pachimetria, metodi Gold Standard per le rispettive misurazioni (IOP e pachimetria) [24].

BIOMECCANICA E IOP

Dalla pubblicazione nel 2002 dell'OHTS, lo spessore corneale è diventato rilevante nella gestione del glaucoma. Lo spessore e la CH sono proprietà fisiche corneali, statiche e dinamiche, con alcuni interessanti parallelismi. La tonometria ad applanazione è stata sviluppata da Goldmann ed è attendibile, com'è noto, per spessori corneali intorno a 520/530 μm . L'OHTS ha definitivamente sancito, d'altra parte, che la pachimetria è molto variabile, ed è un fattore di rischio non trascurabile per la progressione del glaucoma. Uno spessore corneale inferiore alla media di 40 micron equivale ad una probabilità maggiore del 70% di sviluppare glaucoma a parità tensionale. Ciò significa che una cornea più spessa può essere più che sufficiente a ridurre il rischio associato ad una IOP superiore ai 20 mmHg. Una persona con IOP di 30 mmHg e spessore corneale di 600 μm ha, infatti, la metà del rischio di sviluppare glaucoma rispetto ad un paziente con IOP di 20 mmHg e spessore corneale di 500 μm . Più precisamente, un occhio con uno spessore corneale centrale di 600 μm e IOP~30 mmHg ha un rischio del 9,1% di sviluppare glaucoma; un occhio con una IOP~ 20 mmHg e 500 μm di spessore ha un rischio del 20,7% [11]. In termini di rischio per glaucoma lo spessore corneale potrebbe essere altrettanto importante del valore della IOP. Come per lo spessore corneale, la maggior parte dei dati accumulati sta mostrando che la CH può essere un fattore di rischio ugualmente pericoloso, forse addirittura più rilevante dello stesso spessore.

La relazione tra spessore e CH non è ancora del tutto chiarita. Alcune cornee sono spesse con una bassa CH, mentre altre hanno caratteristiche

opposte; con l'età, comunque, spessore e CH sicuramente diminuiscono. Inoltre, com'è noto, gli afro-americani e gli ispanici hanno spessori corneali mediamente inferiori rispetto ai caucasici, e nello studio OHTS uno dei principali fattori di rischio in questa popolazione era proprio il riscontro di basse pachimetrie corneali. A queste caratteristiche statiche della cornea, in questa popolazione si associa una CH dinamica altrettanto diminuita. Una CH bassa, dai dati finora raccolti, si correla con un rischio maggiore di progressione del glaucoma, e diversi autorevoli studi hanno confermato quest'associazione. In uno studio congiunto dell'Università cinese di Hong Kong, diretta da Nathan Congdon, e del Wilmer Eye Institute, diretto da Harry Quigley, i cui risultati sono stati successivamente confermati dall'articolo di Gustavo de Moraes della New York University Medical Center, è stato dimostrato che i pazienti con basse CH avevano più probabilità di progressione tempo del danno glaucomatoso, come evidenziato da campi visivi seriati, associato a progressione di depauperamento degli assoni del nervo ottico [25-27].

I tre studi hanno confermato che la CH e lo spessore corneale sono fattori di rischio; la CH è un fattore predittivo ancora più forte per la progressione. Tutti e tre questi studi coinvolgevano, inoltre, grandi numeri di arruolati, pur essendo sostanzialmente retrospettivi. Tecnicamente quindi la CH, piuttosto che un fattore di rischio vero e proprio, dovrebbe essere considerato come un co-fattore di associazione alla progressione del danno. Felipe A. Medeiros e Robert N. Weinreb della University of California San Diego, hanno recentemente condotto uno studio prospettico che coinvolge 114 occhi di 68 pazienti. La misura della CH è stata regolarmente registrata per una durata di quattro anni. I campi visivi dei pazienti la cui CH era ≤ 4 mmHg, tendevano a degenerare a un ritmo più veloce rispetto ai pazienti con valori di CH tendenzialmente maggiori, con il contemporaneo riscontro che basse CH e IOP alte erano associate a maggior rischio di danno ganglionare nel tempo.

La CH rappresenterebbe, secondo questo studio, un fattore di rischio con valore indicativo triplo rispetto allo spessore corneale per la progressione del danno nel tempo. Questo rilievo è assolutamente sconcertante se si ricorda il clamore che suscitavano nel 2002 i risultati dell'OHTS, che proponevano lo spessore corneale come nuovo ed emergente fattore di rischio rispetto agli altri fattori

noti da tempo, come età, IOP, razza, rifrazione, dati pressori sistemici. Il valore della CH varia, come si è detto, con la IOP e diminuisce con l'età. Si potrebbe definirlo, condividendo i risultati di questo lavoro, non come una semplice proprietà intrinseca del tessuto corneale, ma come il più indicativo e misurabile parametro biomeccanico della cornea, mutevole nel tempo, dipendente principalmente dallo spessore corneale ma non solo. I confronti tra spessore corneale e CH sono a volte contrastanti e poco intuitibili.

Lo spessore corneale è essenzialmente stabile nel breve periodo, la CH invece spesso varia al variare della IOP, assumendo valori inferiori con alte IOP. La terapia ipotensiva inoltre, se da un lato abbassa la IOP, dall'altro alza la CH. La CH non è quindi una semplice proprietà intrinseca della cornea, ma un "comportamento" che solo la biomeccanica può interpretare e descrivere [28]. Il fatto che la IOP e CH interagiscono in modo a volte inverso potrebbe essere potenzialmente utile nella diagnosi in casi dubbi migliorando le conoscenze fisiopatologiche. Visti i dati a favore di questo parametro biomeccanico, non si può escludere che in un prossimo futuro la CH possa essere misurata e correlata di routine con la IOP, come avviene attualmente per la pachimetria, implementando e valorizzando il semplice dato tensionale. Un rapporto sembra esistere inoltre tra CH e papilla ottica, anche se ancora meno chiare appaiono le loro interrelazioni. In uno studio non recente, in pazienti con IOP elevate, l'OHN subiva maggiore danno morfologico, con aumento del Cup/Disc, in presenza di alte CH piuttosto che per bassi spessori corneali, concomitanze al momento apparentemente poco intuitibili. La CH diminuisce in presenza di alte IOP, come già riferito. Se la resistenza biomeccanica sclerale in generale si abbassa, il danno assonale potrebbe peggiorare velocemente per effetto dello stress pressorio. L'esaurimento della fisiologica compliance tissutale, specialmente in area dell'ONH, per l'azione IOP/Tempo, potrebbe favorire una più veloce sofferenza assonale ganglionare per l'esaurimento della deformabilità delle strutture poste a protezione degli assoni ganglionari, fibre elastiche sclerali e cribrose in primis [29].

Come si vede siamo nel campo delle ipotesi, ma la strada all'integrazione tra biomeccanica e misurazioni/effetti della IOP/Tempo è ormai aperta, e in sicura evoluzione. Agarwal et al. [28] e come del resto anche Medeiros nella sua ricerca già citata, hanno individuato una interessante relazione tra

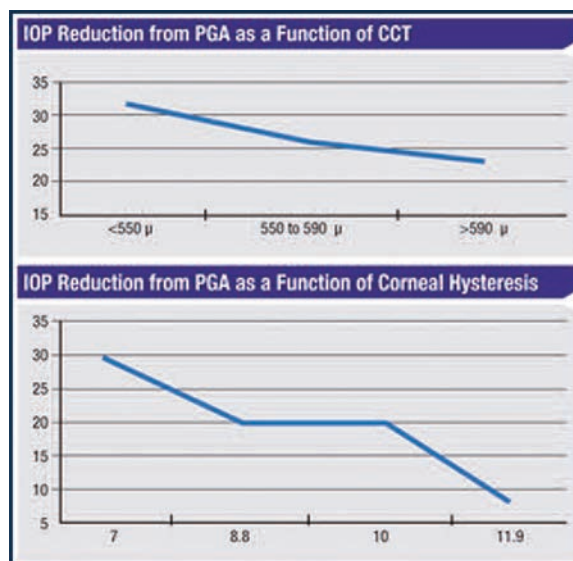


Fig 4 - Comportamento della IOP dopo prostaglandina PGA in funzione di CCT e CH, spessore corneale e isteresi corneale rispettivamente (da Medeiros et. al).

CH e risposta alla terapia antiipertensiva topica. In presenza di basse CH ≤ 7 mmHg si può avere una riduzione del 29% della IOP contro una riduzione del 7,6% in presenza di CH $\geq 11,9$ mmHg, utilizzando la stessa prostaglandina come ipotensivo (fig. 4).

Spesso nella pratica clinica quando la IOP non scende, si preferisce un'associazione farmacologica. Con un'alta CH di partenza il paziente ha un rischio più basso di progressione e la risposta terapeutica non sarà importante. In questa situazione potrebbe essere più sensato, invece di aggiungere un secondo collirio, limitarsi a monitorizzare strettamente il paziente, magari con esami strumentali Hi-Tech, verificando i parametri numerici e il trend di progressione.

Al contrario, una bassa CH ha di solito migliori risposte all'aggiunta di un secondo farmaco. Si potrebbe essere tentati in questi frangenti, raggiunto il target pressorio, di allungare i tempi di osservazione. Basso CH vuol dire anche che il paziente è più a rischio. Una volta riaggiustata la IOP target, non si è d'altronde sempre sicuri di rallentare la progressione del danno. L'aggiunta di una seconda molecola, anche in mono somministrazione e in monodose, può disturbare non poco il paziente, influenzandone negativamente lo stile di vita.

La CH alta o bassa, è questa l'ipotesi accennata dall'autore, potrebbe influenzare l'assorbimento corneale del farmaco, che aumenta se CH è bassa e diminuisce se invece è alta. Considerare la CH non è, quindi, del tutto superfluo.

È noto perchè la CH è variabile nel tempo [30]. Avremmo bisogno a rigore, è una mia considerazione, di una misurazione della CH medio-temporale, come una IOP delle 24 ore! Una notevole complicazione; la discussione è tutta aperta. Tenere in conto comunque anche la CH nel panorama della malattia glaucomatosa può essere, a mio parere, un'opportunità e un'esigenza diagnostico-prognostica non più negligibile, ma interessante ed essenziale: un'arma in più da utilizzare nell'intricato mondo del glaucoma.

ULTIMATE GOAL

L'articolo della dottoressa Anna Pandolfi del Dipartimento di Ingegneria Civile ed Ambientale del Politecnico di Milano "*Modellazione numerica del comportamento biomeccanico della cornea*", affrontando temi biomeccanici corneali a fini rifrattivi, assolutamente da plaudire e condivisibili, ha posto l'attenzione sui temi biomeccanici per la chirurgia corneale, studi che questa ricercatrice porta avanti da tempo con brillanti risultati [31,32]. Ritornando alla tonometria, campo d'incontro tra biomeccanica e glaucoma, è opportuno porre l'accento su una Review di Ho Sik Hwang et al., che in una retrospettiva su 958 occhi di 958 pazienti (età media 26.7 ± 6.1 , 43.4% maschi e 56.6% donne), visitati presso il BGN Eye Clinic di Seoul Corea, hanno studiato le proprietà biomeccaniche corneali con ORA e l'associazione tra i parametri anatomici del segmento anteriore e IOP [33]. Sono stati presi in considerazione e misurati:

- il raggio medio della curvatura corneale, l'astigmatismo, il volume corneale, la profondità e il volume della camera anteriore con il Pentacam, (Oculus Pentacam Rotating Scheimpflug Camera; Oculus, Wetzlar, Germany);
- lo spessore corneale centrale Central Corneal Thickness CCT con pachimetro ad ultrasuoni (Model US-1800; Nidek Co LTD, Gamagori, Japan);
- il diametro corneale e la distanza bianco bianco con Orbscan (Orbscan IIz, Bausch & Lomb GmbH, Feldkirchen, Germany);
- la CH, il fattore di resistenza corneale CRF, la IOP Goldmann correlata IOPg e la IOP cornea compensata IOPcc con ORA.

Il volume corneale medio trovato era 63.0 ± 3.3 mm³, il volume medio della camera anteriore 192 ± 31 mm³, il valore medio di CH 10.1 ± 1.4

mmHg, quello di CRF 9.9 ± 1.6 mmHg, mentre la media di IOPg e di IOPcc erano rispettivamente 14.8 mmHg e 15.8 mmHg. IOPg, IOPcc e CRT sono parametri espressi da ORA che sembrano acquistare crescente importanza. La IOPg è una media aritmetica tra P1 e P2, la IOPcc è determinata dal software del device e rappresenta un valore "puro" della IOP, scevro da influenze meccaniche della cornea, il CRF deriva dalla formula $CRF = P1 - KP2$ con K costante ricavata da analisi empirica tra P1, P2 e CCT. Tutto naturalmente sotto tutela brevettuale della Reichert [34, 35]. L'analisi multivariata ha mostrato che la CH è associata negativamente con il raggio medio di curvatura della cornea (coefficiente di regressione = -0,481, $p = 0,023$), positivamente con CCT (coefficiente di regressione = 0,015, $p < 0.001$) e con il volume corneale (coefficiente di regressione = 0,059, $p = 0,014$). L'associazione tra CH, diametro della cornea, profondità e volume della camera anteriore non erano statisticamente indicative. Il fattore di resistenza corneale CRF è negativamente associato con il raggio medio di curvatura della cornea (coefficiente di regressione = -0,540, $p = 0,013$) e positivamente con CCT ($\beta = 0,026$, $p < 0.001$). L'associazione tra CRF, il diametro corneale, il volume della cornea, la profondità e il volume della camera anteriore non era statisticamente significativa, mentre il la CH era associata positivamente solo con il volume della cornea, non con il volume della camera anteriore (fig. 5).

Non significative sono state, infine, anche le associazioni tra CRF, volume della camera anteriore e volume corneale.

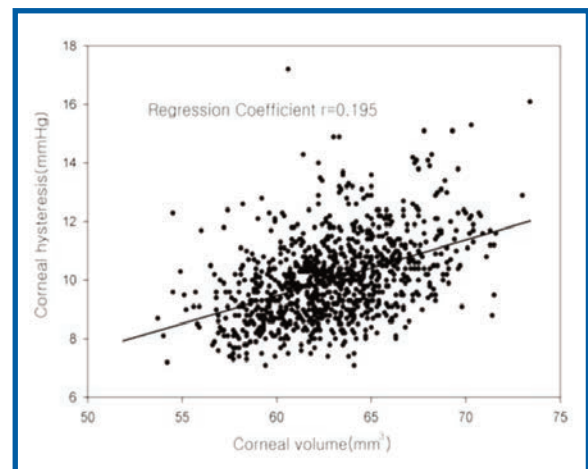


Fig 5 - Grafico del rapporto tra isteresi in mmHg e volume corneale in mm³ (da Ho Sik Hwang et. al).

PROSPETTIVE E CONSIDERAZIONI FINALI

I dati emersi da questo studio sono molti interessanti e correlano parametri non presi prima in considerazione, con validazione statistica. Non si è affrontata e studiata l'influenza sulla IOP della biomeccanica dei singoli parametri anatomici, e tanto meno la problematica sommativa dei moduli elastici delle strutture del segmento anteriore nella determinazione della IOP. Il Goal nella misurazione della IOP, come ho scritto in varie occasioni e prospettato a più centri di ricerca, è di arrivare alla caratterizzazione biomeccanica complessiva di tutte le strutture che incidono e modificano in qualche modo il risultato finale della IOP (**Figg. 6, 7**).

Lo studio biomeccanico delle singole strutture anatomiche e, in seguito, la loro integrazione sarà, a mio parere, la strada da percorrere in futuro

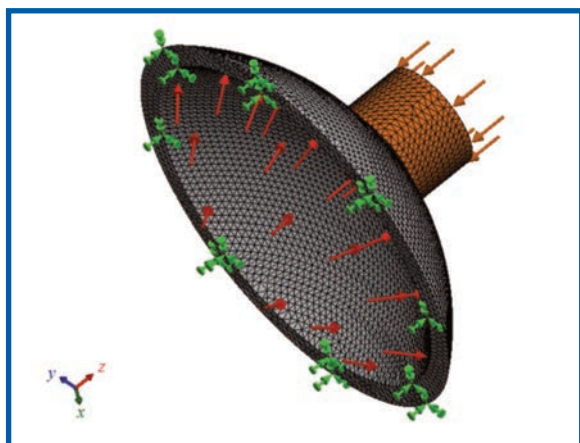


Fig 6 - Rappresentazione dei vincoli e dei carichi che agiscono sul modello corneale. Modello ad elementi finiti FEM della cornea (da Fabio Vilella).

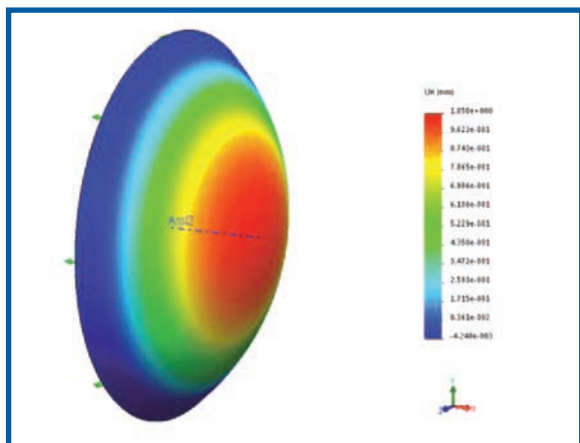


Fig 7 - Spostamento apicale dovuto alla pressione intraoculare misurato lungo l'asse di simmetria (da Fabio Vilella).

per la progettazione di nuovi strumenti integrati. Un futuro device dovrebbe prevedere l'integrazione di un air-puff systems come forza esterna, con saggio iniziale ad intensità crescente dei soffi per testare la resistenza iniziale, un tomografo da camera anteriore, magari un OCT Swept Source, la registrazione con telecamera ultrarapida per imaging dinamico sensibile ai fini movimenti flessionali delle strutture sottoposte a stress, così da avere piena contezza delle sollecitazioni meccaniche del segmento anteriore a 360°, compreso l'angolo camerulare [36]. È indubbio, infatti, che spessori corneali maggiori al limbus ed inclinazioni goniometriche della cornea differenti possano determinare resistenze diverse alle forze esterne applicate, concorrendo a falsificare il valore finale della IOP. La base numerica di calcolo dei modelli biomeccanici sono i *Finite Element Method (FEM)*, metodo agli elementi finiti. Con tale metodo il corpo di cui si studia la deformazione è suddiviso in un certo numero di elementi di dimensioni finite (da cui il nome), interconnessi attraverso nodi, ovvero punti atti a garantire la continuità fisica del corpo. All'interno di questi elementi le equazioni differenziali che governano il problema sono risolte in maniera approssimata per la ricerca di soluzioni con più variabili. I FEM costituiscono per così dire il Kernel, cioè il nucleo essenziale di un sistema operativo informatico (**fig. 8**) [37].

Con un software adeguatamente studiato, algoritmi aderenti al calcolo semplice, algoritmi sommativi e un indispensabile database di confronto, si potrebbero ricavare finalmente valori di IOP maggiormente corrispondenti al vero, più utili alla diagnosi, più idonei per decisioni terapeutiche e prognostiche mirate. Aspettando questi traguardi per ora futuribili ma possibili, attualmente è più che opportuno, nella nostra indagine di semeiotica strumentale, misurare e rilevare il valore biomeccanico della CH. Tenere presente anche questo nuovo parametro può sembrare cosa superflua e inutile, oltre che alquanto costoso.

Credo però che già ora la CH sia un parametro inalienabile che non si può ignorare, da integrare nella conoscenza dei valori tonometrici e pachimetrici. Mi sembra, infatti, sensato registrare la CH per avere indicazioni altrimenti non evidenti, utili per una terapia più consapevole, ragionata e con ampi orizzonti di conoscenza, sia nelle nuove prescrizioni terapeutiche che per modificarle in corso di follow-up. È chiaro che solo quando

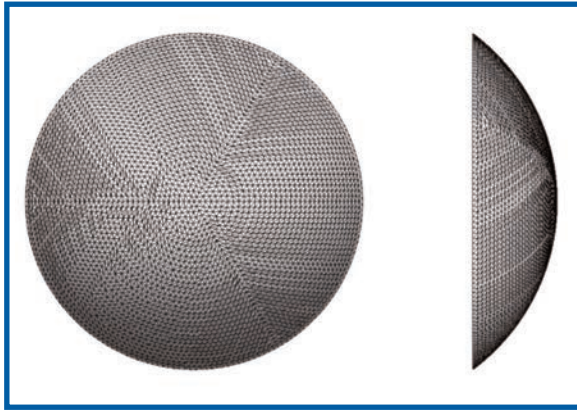


Fig. 8 - Modello ad elementi finiti della cornea (da Fabio Vilella)

avremo maggiori dati, potremo integrare pienamente la CH nella gestione del glaucoma. Henry Ford in una sua massima diceva che *“C'è vero progresso solo quando i vantaggi di una nuova tecnologia diventano per tutti”*. Questo monito vale in ogni campo della scienza e ancor di più per la biomeccanica applicata alla medicina. Futuri studi multicentrici condivisi da ricercatori di più discipline potranno, spero presto, portare risultati largamente fruibili e condivisibili. La comprensione biomeccanica delle resistenze del segmento anteriore considerato globalmente resta, a mio parere, il nodo da affrontare e sciogliere.

Sono certo che l'utilizzo di una tonometria finalmente basata su principi biomeccanici integrati potrà apportare cambiamenti sostanziali nelle scelte diagnostiche, terapeutiche e nella gestione del glaucoma.

REFERENCES

- 1) Foster A, Resnikoff S. Impact of Vision 2020 on global blindness. *Eye*. 2005; 19:1133–1135.
- 2) Quigley HA, Addicks EM. Chronic experimental glaucoma in primates. II. Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axonal transport. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1980; 19:137–152.
- 3) Bellezza AJ, Hart RT, Burgoyne C. The optic nerve head as a biomechanical structure: initial finite element modeling. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41:2991–3000.
- 4) A. Lucente. La tonometria e i tonometri. *Oftalmologia Domani*. N 2 Anno 2010.
- 5) L. Ambrosio, P. A. Netti, and L. Nicolais. *Soft Tissue*, Springer, New York, NY, USA, 2002.
- 6) A. Luce, Determining in vivo biomechanical properties of the cornea with an Ocular Response

Analyzer. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, vol. 31, no. 1, pp. 156–162, 2005.

- 7) Nery Garcia-Porta et al. Corneal Biomechanical Properties in Different Ocular Conditions and New Measurement Techniques. *ISRN Ophthalmology*, Vol. 2014 Article ID 724546.
- 8) D. Ortiz, D. Piñero, M. H. Shabayek, F. Arnalich-Montiel, and J. L. Alió. Corneal biomechanical properties in normal, post-laser in situ keratomileusis, and keratoconic eyes. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, vol. 33, no. 8, pp. 1371–1375, 2007.
- 9) Grise-Dulac, A. Saad, O. Abitbol et al. Assessment of corneal biomechanical properties in normal tension glaucoma and comparison with open-angle glaucoma, ocular hypertension, and normal eyes. *Journal of Glaucoma*, vol. 21, no. 7, pp. 486–489, 2012.
- 10) A. Lucente. Lo spessore corneale come indice di valutazione del tono oculare. *Bollettino di Oculistica* nel 2004.
- 11) Gordon MO1, Beiser JA, Brandt JD, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK 2nd, Wilson MR, Kass MA. Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 2002 Jun; 120(6):714-20; discussion 829-30.
- 12) J. Liu and C. J. Roberts. Influence of corneal biomechanical properties on intraocular pressure measurement: quantitative analysis. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, vol. 31, no. 1, pp. 146–155, 2005.
- 13) Fabio Vilella. (Matr. 105784) Analisi agli elementi finiti della risposta meccanica della cornea umana al processo tonometrico. Tesi di Laurea, Corso di Laurea in Ingegneria Meccanica, Anno Accademico 2013/2014, Università della Calabria, Relatore Luigi Bruno su proposta dottor A. Lucente.
- 14) J. Liu and C. J. Roberts. Influence of corneal biomechanical properties on intraocular pressure measurement: quantitative analysis. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, vol. 31, no. 1, pp. 146–155, 2005.
- 15) J. Liu and C. J. Roberts. Influence of corneal biomechanical properties on intraocular pressure measurement: quantitative analysis. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, vol. 31, no. 1, pp. 146–155, 2005.

- 16) H. Wang, P. L., Prendiville, P. J., McDonnell, and W. V. Chang. An ultrasonic technique for the measurement of the elastic moduli of human cornea. *Journal of Biomechanics*, vol. 29, no.12, pp. 1633–1636, 1996.
- 17) A. Elsheikh, D.Wang, M. Brown, P. Rama, M. Campanelli, and D. Pye. Assessment of corneal biomechanical properties and their variation with age. *Current Eye Research*, vol. 32, no. 1, pp. 11–19, 2007.
- 18) K. E. Hamilton and D. C. Pye. Young's modulus in normal corneas and the effect on applanation tonometry. *Optometry and Vision Science*, vol. 85, no. 6, pp. 445–450, 2008.
- 19) L. Ambrosio, P. A. Netti, and L. Nicolais. *Soft Tissue*, Springer, New York, NY, USA, 2002.
-  20) D. A. Luce. Determining in vivo biomechanical properties of the cornea with an Ocular Response Analyzer. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, vol. 31, no. 1, pp. 156–162, 2005.
- 21) Cook JA, Botello AP, Elders A, et al. Surveillance of Ocular Hypertension Study Group. Systematic review of the agreement of tonometers with Goldmann applanation tonometry. *Ophthalmology*. 2012 Aug; 119(8): 1552-7.
- 22) Kaushik S, Pandav SS, Banger A, et al. Relationship Between Corneal Biomechanical Properties, Central Corneal Thickness, and Intraocular Pressure Across the Spectrum of Glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2012 Feb 4.
- 23) Touboul D, Bénard A, Mahmoud AM, et al. Early biomechanical keratoconus pattern measured with an ocular response analyzer: curve analysis. *J Cataract Refract Surg*. 2011 Dec;37(12):2144-50.
- 24) Lukas Reznicek, Daniel Muth, Anselm Kampik, Aljoscha S Neubauer Christoph Hirneiss. Evaluation of a novel Scheimpflug-based non-contact tonometer in healthy subjects and patients with ocular hypertension and glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2013; 97:11 1410-1414.
- 25) Congdon NG, Broman AT, Bandeen-Roche K, Grover D, Quigley HA. Central corneal thickness and corneal hysteresis associated with glaucoma damage. *Am J Ophthalmol* 2006; 141:5:868-75.
- 26) De Moraes CV, Hill V, Tello C, Liebmann JM, Ritch R. Lower corneal hysteresis is associated with more rapid glaucomatous visual field progression. *J Glaucoma*. 2012; 21:4:209-13.
- 27) Vu DM, Silva FQ, Haseltine SJ, Ehrlich JR, Radcliffe NM. Relationship between corneal hysteresis and optic nerve parameters measured with spectral domain optical coherence tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013; 251:7:1777-83.
- 28) Medeiros FA, Meira-Freitas D, Lisboa R, Kuang TM, Zangwill LM, Weinreb RN. Corneal hysteresis as a risk factor for glaucoma progression: a prospective longitudinal study. *Ophthalmology* 2013; 120:8:1533-40.
- 29) Wells AP, Garway-Heath DF, Poostchi A, Wong T, Chan KC, Sachdev N. Corneal hysteresis but not corneal thickness correlates with optic nerve surface compliance in glaucoma patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49:8: 3262-8.
- 30) Agarwal DR, Ehrlich JR, Shimmyo M, Radcliffe NM. e relationship between corneal hysteresis and the magnitude of intraocular pressure reduction with topical prostaglandin therapy. *Br J Ophthalmol* 2012; 96:2:254-7.
- 31) Anna Pandolfi. Modellazione numerica del comportamento biomeccanico della cornea. *Oftalmologia domani - N. 1 - Anno 2014*.
- 32) Anna Pandolfi. Computational Biomechanics of the human cornea. Department of Structural Engineering, Politecnico di Milano, Italy.
- 33) Ho Sik Hwang, Seh Kwang Park, Man Soo Kim. biomechanical properties of the cornea and anterior segment parameters. *BMC Ophthalmology* 2013, 13:49. doi:10.1186/1471-2415-13-49. 
- 34) Kotecha A. What biomechanical properties of the cornea are relevant for the clinician? *Surv Ophthalmol* 2007, 52(1 2): S109–S114.
- 35) Lim L, Gazzard G, Chan YH, Fong A, Kotecha A, Sim EL, Tan D, Tong L, Saw SM. Cornea biomechanical characteristics and their correlates with refractive error in Singaporean children. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008, 49(9):3852–3857.
- 36) Osservazioni Cliniche: il vero tono oculare, 10/04/2012. www.amedeolucente.it. 
- 37) K.J. Bathe. Numerical methods in finite element analysis. Prentice-Hall 1976.
- 38) Sabine Kling, Nandor Bekesi, Carlos Dorronsoro, Daniel Pascual, Susana Marcos. Corneal Viscoelastic Properties from Finite-Element Analysis of In Vivo Air-Puff Deformation. *PLOS ONE* | www.plosone.org. August 2014 | Volume 9 | Issue 8 | e 104904.

CAPITOLO 14

ANGIO-OCT IN PROGRESS

INTRODUZIONE

L'angiografia tomografica a coerenza ottica senza mezzo di contrasto da poco più di cinque anni è una solida realtà semeiologica strumentale in oftalmologia.

Tale innovazione d'imaging, di straordinaria portata diagnostica, è sempre più diffusa e in continuo sviluppo, come attestano gli innumerevoli lavori scientifici e i brevetti depositati negli ultimi anni (**fig. 1**).

L'angiografia con fluoresceina (FA) per decenni ha permesso, in modo molto soddisfacente, l'imaging vascolare neuroretinica, e resta ancora gold standard per le patologie vascolari in oftalmologia.

A fronte degli indubbi vantaggi che ha apportato nelle conoscenze di gran parte delle patologie corioretiniche, la FA è una tecnica invasiva, non raccomandata in gravidanza, nell'infanzia, in soggetti con anamnesi di allergia, non ripetibile a intervalli ravvicinati nel tempo. L'angiografia OCT (OCTA) ha il vantaggio di essere una tecnologia non invasiva, non a contatto, ripetibile, senza mezzo di contrasto, senza limiti per età o stato di salute del paziente, e permette di visionare la trama vascolare neuroretinica per strati, evitando sovrapposizioni tissutali come in FA.

Rispetto all'imaging Doppler-OCT non è influenzata dall'orientamento dei vasi, visibili anche se disposti perpendicolarmente al fascio di scansione. La possibilità di avere un'imaging vascolare con modalità dyeless è dovuta essenzialmente alla fluttuazione della luce retrodiffusa (backscattered), secondaria al movimento dei fluidi intravascolari, principalmente eritrociti, correlata alla loro velocità.

Per una registrazione iconograficamente soddisfacente del flusso emoreologico sono necessari algoritmi applicativi, una sequenza di A-scan ripetute su B-scan, un tempo sufficiente al rilievo di segnali in movimento rispetto ai segnali statici.

Il tempo di ripetizione necessario alla cattura dello scattering di movimento è molto migliorato; negli attuali device è di soli pochi secondi, con comprensibile beneficio della qualità finale per i minori artefatti.

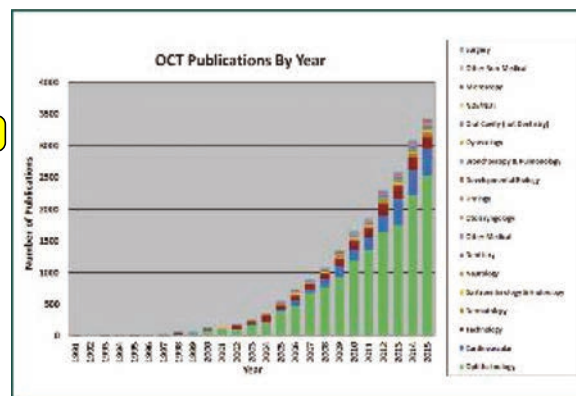


Fig. 1 - Pubblicazioni sugli OCT in PubMed per anno e per area di ricerca (by Eric A. Swanson and <http://www.sweptlaser.com>)

La ricostruzione dei network vascolari è opera dei software matematici applicativi e delle specifiche caratteristiche degli algoritmi di decorrelazione, qualità tecnologiche tutelate da brevetti depositati.

Applicazioni sempre più performanti sono disponibili negli OCTA con maggiori e più ampie possibilità diagnostiche, sia per il segmento anteriore che posteriore. I database di riferimento sono in continua elaborazione e aggiornati per i Report di stampa, con validazione statistica.

Mappe finali in falsi colori renderanno visibili i risultati degli esami effettuati in modo chiaro e immediato; questa possibilità è stata già realizzata inizialmente da Optovue per la Vessel Density. Da Gennaio 2017 anche la Zeiss permette una quantificazione il segnale OCTA, con misure di Perfusion Density, Vessel Density, Area FAZ, Perimetro FAZ, Circolarità FAZ; dal 2017 anche le altre case costruttrici stanno provvedendo in tal senso.

Una moltitudine di metodi OCTA si sta infatti sviluppando, con vantaggi e limiti che dipendono essenzialmente dalle caratteristiche informatico-matematiche degli algoritmi e dall'efficacia dei software applicativi.

Nessuna metodologia si è dimostrata chiaramente superiore rispetto alle altre; la strada da percorrere in angiografia dyeless, anche se tracciata, è ancora lunga e migliorabile.

Spesso nuove applicazioni rendono più fruibile tale metodologia, e le case costruttrici implemen-



Fig. 2 - Pubblicazioni sugli OCT dal 1991 al 2015 nelle varie discipline mediche (by Eric A. Swanson and <http://www.sweptlaser.com>).

tano di continuo gli originali pannelli applicativi dei loro OCTA.

In questo capitolo si discuterà, per quanto è possibile, dello sviluppo degli OCTA, con uno sguardo al futuro di questa straordinaria e, per molti versi, rivoluzionaria modalità d'imaging, applicata inizialmente in oftalmologia, e con efficaci applicazioni anche in altri campi della diagnostica per immagini (fig. 2).

DIFFUSIONE DEGLI OCTA

Le principali case costruttrici di OCTA sono:

- *Optovue* → *AngioVue*
- *Zeiss* → *AngioPlex Cirrus 5000*
- *Topcon* → *DRI OCT Triton*
- *Heidelberg* → *Spectralis con modulo OCT2*
- *Nidek* → *RS-3000 Advance OCT*
- *Canon* → *OCT-HS100 Angio Expert e modulo AX (Gruppo Haag-Streit)*.

I device hanno caratteristiche differenti; la possibilità d'imaging angiografica prevede per tutti un'implementazione con algoritmi di decorrelazione che sono utilizzabili su Spectral/Fourier Domain o Swept Source. Sempre più case costruttrici sono coinvolte nel business degli OCT/OCTA, migliaia sono i brevetti depositati non solo per l'oftalmologia (figg. 3-4).

L'articolo Benchmarking OCT di Mark Hillen apparso sulla Rivista "Ophthalmologist" nel febbraio 2016 analizza, in veste statistica, i temi pubblicati in MEDLINE, Medical Literature Analysis and Retrieval System Online, indicizzati per argomento MeSH, Medical Subject Headings, negli ultimi 5 anni. MEDLINE è un database bibliografico di scienze della vita e discipline biomediche della National Library

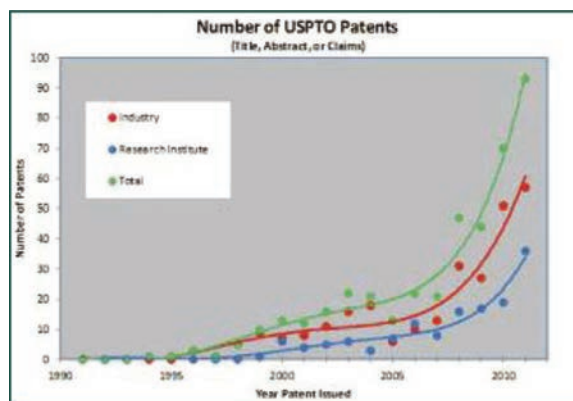


Fig. 3 - Brevetti OCT rilasciati per anno in US (by Eric A. Swanson and <http://www.sweptlaser.com>).

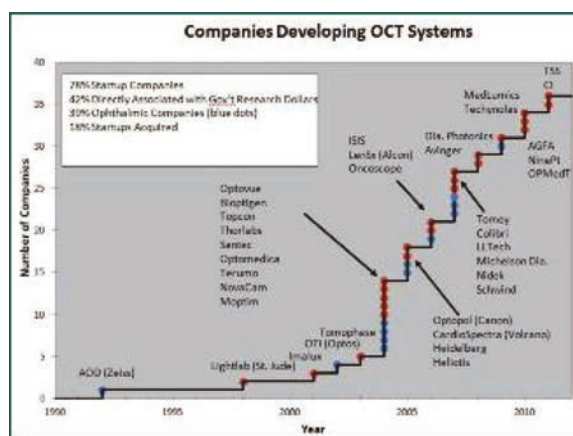


Fig. 4 - Startup degli OCT e relative industrie interessate (by <http://www.sweptlaser.com/OCT-market>).

of Medicine degli Stati Uniti, NLM, con 16 milioni di record e schede bibliografiche di oltre 5200 riviste scientifiche redatte in 37 lingue [1].

Nella classifica Top 20 MeSH, ben 6797 record sono inerenti agli OCT su un totale di 34760 record per l'Oftalmologia (fig. 5).

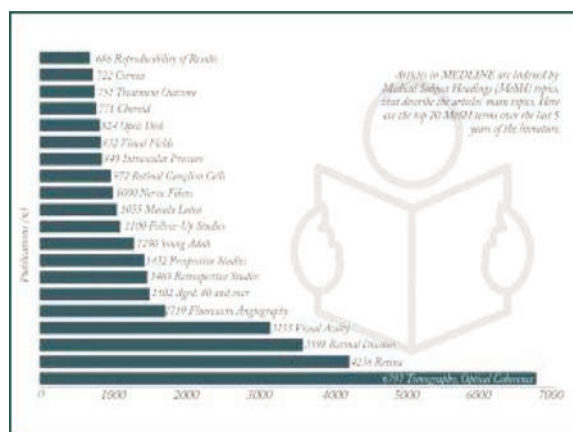


Fig. 5 - Numero delle pubblicazioni in Medline negli ultimi 5 anni per argomento in Oftalmologia (by Mark Hillen).



Fig. 6 - Numero di pubblicazioni scientifiche nelle singole riviste. (by Mark Hillen).

Gli OCT più utilizzati nelle ricerche scientifiche in ordine decrescente sono:

- 55,9% Zeiss
- 35,6% Heidelberg
- 6,4% Topcon
- 2,1% Nidek

Tra i primi 20 Autori Top 20 per numero di pubblicazioni sugli OCT ci sono due italiani, Francesco Bandello e Giuseppe Querques; la lingua utilizzata per il 94,6% è l'inglese; la rivista con maggiori pubblicazioni 834 è Invest Ophthalmol Vis Sci (fig. 6).

Questi dati evidenziano la mole degli studi e l'interesse che la tomografia a coerenza ottica sta suscitando, e fanno presagire i futuri sviluppi ed apporti di conoscenza nei prossimi anni.

Dai 200 device OCT1 Zeiss venduti nel 1999, ai 400 TD-OCT2 del 2002, ai 6000 OCT Stratus del

2006, standard of care per la tomografia in oftalmologia fino a quella data, alle 10000 installazioni di Cirrus HDOCT Zeiss al 2012, molti progressi si sono registrati e altre case costruttrici, oltre la Zeiss, sono ormai da tempo entrate nel lucroso mercato degli OCT.

Il market degli OCT al 2012 è stato stimato 1 bilioni di dollari (1 bilione di \$ dollari = 1000 milioni di dollari), con incremento annuo del 18-30%.

Dallo studio di una nuova tecnologia, all'approvazione da parte della comunità scientifica, alla vendita sul mercato, passano solitamente 15 anni [2].

Gli sviluppi successivi e le implementazioni dei software sono, invece, molto più rapidi e tumultuosi, spesso legati al successo del device e alle patologie in campo.

Alcune volte succede che da uno standard tecnologico si passa ad un altro, com'è successo dal Time Domain al Fourier Domain e ora allo Swept Source, al fine di migliorare la risoluzione e diminuire gli artefatti, con l'aiuto di algoritmi elaborati e dedicati.

ALGORITMI E ANGIOGRAFIA DYELESS

Gli algoritmi che hanno permesso la visualizzazione dei plessi vascolari neuroretinici utilizzano basi fisico-matematiche e sono capaci di esaltare e distinguere il contrasto tra tessuto statico e dinamico. Come accennato in altri articoli di questa Rivista, gli algoritmi in uso per l'angiografia dyeless sono attualmente [3]:

- Optical Microangiography(OMAG) [4]
- Speckle Variance [5]
- Phase variance [6]
- Split Spectrum Amplitude Decorrelation Angiography (SSADA) [7]
- Correlation mapping [8]

Molto spesso le case migliorano ed elaborano ulteriormente l'algoritmo originale, coniato nuovi acronimi di non facile memorizzazione e comprensione.

Gli OCTA più venduti hanno differenti velocità di scansione; non è però solo questa la caratteristica tecnologica che influenza la qualità finale dell'imaging.

Gli algoritmi, in sostanza, elaborano, implementano e rendono fruibile la scansione in imaging; sono fulcro e volano indispensabile per l'interpretazione del segnale angiografico.

Le successive modifiche apportate sugli algoritmi da bioingegneri e informatici rendono la visione angiografica neuroretinica finale quasi un unicum, con peculiarità proprie, non sempre comparabili.

I più diffusi OCTA hanno A-Scan rate e algoritmi di decorrelazione differenti:

- RTvue Avanti Optovue, 70.000 A-Scan/Sec → SSADA (Split Spectrum Amplitude Decorrelation Angiography) [9]
- HD-Cirrus Zeiss, 68.000 A-Scan/Sec → OMAGc (Optical Microangiography complex) [10]
- Swept Source OCT DRI OCT Topcon, 100.000 A-Scan/Sec → OCTARA (OCT Angiography Ratio Analysis) [11,12]
- Spectralis Heidelberg, 70.000 A-Scan/Sec → Full Spectrum Amplitude Decorrelation Algorithm [13]

Nuovi modelli OCTA stanno per uscire; alcuni affiancheranno inizialmente i modelli già esistenti, per superamento della tecnologia base Time-Domain/FourierDomain/Swept-Source, altri, invece, li sostituiranno, per miglioramenti e sviluppi del loro firmware/software.

Anqi Zhang *et al.*, come in parte riferito nell'articolo Angio OCT e Glaucoma del primo numero di questa Rivista 2016, hanno confrontato le performance dei più diffusi algoritmi in uso.

In questo studio emerge che l'algoritmo OMAG, fino al momento della ricerca, offre le migliori performance applicative [14]. Altri studi di confronto tra algoritmi, più di recente, hanno utilizzando lo stesso device per verificarne le capacità applicative.

Iwona Gorczynska *et al.*, su Biomedical Optics Express, febbraio 2016, confrontano le performance di tre algoritmi differenti con lo stesso Swept-Source OCT system, (1040 nm wavelength e 100,000 A-Scans/Sec.): Speckle Variance, Amplitude Decorrelation e Phase Variance. Per quanto riguarda le differenze nell'imaging della retina e della coroide la qualità è stata confrontata con due metodi Averaging: lo Split Spectrum e il Volume Averaging.

Per il confronto di qualità sulla visualizzazione dello strato coriocabillare è stato utilizzato il rapporto contrasto/rumore CNR Contrast-to-Noise Ratio, più sensibile del rapporto segnale/rumore SNR Signal-to-Noise Ratio nel definire la qualità dell'imaging; precisamente:

- SNR rapporto segnale/rumore relaziona la potenza del segnale utile con il rumore di fondo; più il suo valore è alto migliore è la ricezione finale del segnale;
- CNR rapporto contrasto/rumore misura la capacità di riconoscere le strutture biologiche in base ai toni di grigio percepibili dalla retina.

I risultati finali sono stati interpretati e visualizzati con un modello di scheletrizzazione 3D, tecnologia che presto sarà implementata nei nostri device.

Nel confronto tra le tre tecnologie OCTA, Amplitude Decorrelation offre migliore qualità e minore granulosità nel definire il network vascolare retinico rispetto a Speckle Variance e Phase Variance.

L'utilizzo di Split Spectrum migliora la resa delle tre metodiche applicative, mentre la più alta performance per la continuità del profilo dei vasi retinici è stata ottenuta con l'utilizzo dell'algoritmo Volume Averaging (fig. 7) [15].

Gli algoritmi restano la chiave di lettura del segnale tomografico di ritorno dal tessuto indagato, il vocabolario necessario per tradurre bene la riflettività in imaging.

Continuando il paragone lessicale, i software informatici aggiuntivi permettono, invece, una traduzione fluida, elegante, appropriata dei segnali

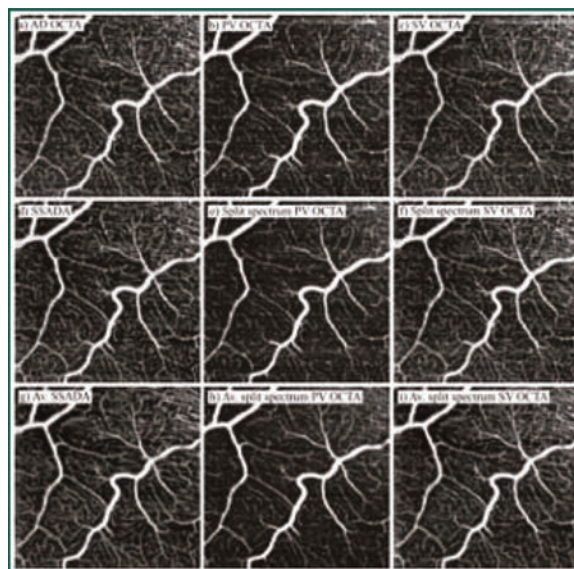


Fig. 7 - Confronto d'imaging di tre metodi OCTA. Prima colonna amplitudine-decorrelation method, seconda colonna phase-variance OCT, terza colonna speckle-variance OCT. Prima riga Full Spectrum, seconda riga Split Spectrum, terza riga Average con Split Spectrum data. Immagine a 6° nasali e 4° inferiori dalla fovea con campo 1,8 x 1,8 mm (by Iwona Gorczynska *et al.*).

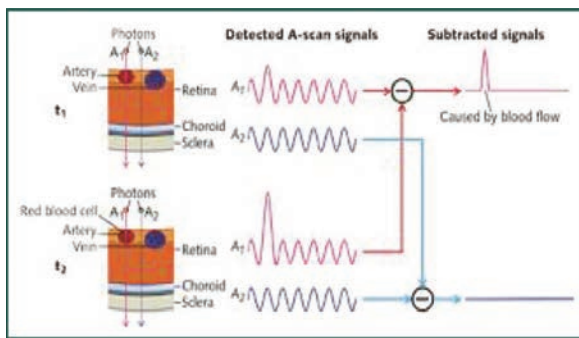


Fig. 8 - Schema di funzionamento degli angio OCT (by CHIEH-LI CHEN 11/13/2015 Bio Optics World).

rilevati, essenziali in angiografia dyeless per esaltare il movimento cellulare intravasale.

La trasformata di Fourier permette di visualizzare il segnale interferometrico in termini di ampiezza A0.

La seguente equazione mette in relazione ampiezza A0, Phase $i\Phi$, spazio (x, y, z) e tempo t:

$$A(x, y, z; t) = A0(x, y, z; t) \exp[i\Phi(x, y, z; t)]$$

Ampiezza A0 (x, y, z; t)
Phase $i\Phi$ (x, y, z; t)
Spazio (x, y, z)

Applicando questa equazione in differenti intervalli Δt , l'algoritmo rileva, seleziona ed elabora, il flusso per sottrazione. È in sostanza un linguaggio statistico-informatico dal segnale di ritorno (fig. 8).

La formula matematica evidenzia una logica di correlazione abbastanza evidente tra i singoli parametri del segnale interferometrico [15].

NUOVI SOFTWARE APPLICATIVI

Una fondamentale limitazione della fotografia 2D anche ad alta definizione Wide Field, o della FA, è la mancanza di discriminazione dei tessuti in profondità. L'angiografia dyeless risolve questo limite permettendo di sezionare la corioretina strato per strato e, nella papilla ottica, arrivare fino alla lamina cribrosa, con dettagli prima non possibili in live.

Solo alcuni dei più importanti software applicativi descritti in letteratura sono presenti nei nostri device, molti altri, in studio o in via di perfezionamento, con modifiche e peculiarità specifiche delle singole case costruttrici, non sono, ad oggi, ancora disponibili nei Printout di stampa.

Database non confrontabili, iconografie non simili, imaging finali peculiari per ogni singolo

OCTA rendono difficile la lettura dei risultati, anche per gli "addetti ai lavori". Lo scopo degli angiogrammi OCTA è di migliorare il contrasto tra il flusso, segnale dinamico, e il tessuto circostante, segnale statico, non vascolare.

Il segnale complessivo OCTA è dovuto alla sovrapposizione della componente statica, della dinamica e del noise di fondo: insieme determinano i voxel catturati dai device.

Il segnale dinamico è calcolato e rilevato per mezzo di un high-pass filtering filtro passa-alto, che scarta il segnale statico nelle sequenze dei frames, con inter frame di 11 millisecondi, intertempo sufficiente per acquisire i segnali dinamici, elaborati con averaging finale, media statistica del segnale filtrato.

- *Conor Leahy et al.* in uno studio sperimentale su ratti, hanno utilizzato diversi procedimenti matematici per definire la vascolarizzazione della retina interna.

Un procedimento molto efficace per questo scopo è la scheletrizzazione.

La scheletrizzazione (skeletonization) è un processo sistematico di sottrazione di voxel (pixel in 3D) da maschere binarie (1,0) tomografiche, fino a lasciare una traccia finale di voxel, la più spessa, rilevata e definita con l'applicazione dell'algoritmo di Lee et al. [16,17]. È una semplificazione informatica molto utile per determinare calcoli su aree e visualizzare in 3 D i plessi vascolari, ancor con più enfasi iconografica con l'utilizzo di falsi colori (fig. 9).

Questo processo di calcolo algoritmico richiede un adeguato linguaggio di programmazione che s'interfaccia con MATLAB.

MATLAB (Matrix Laboratory, MathWorks, Natick, MA, USA), creato alla fine degli anni Settanta

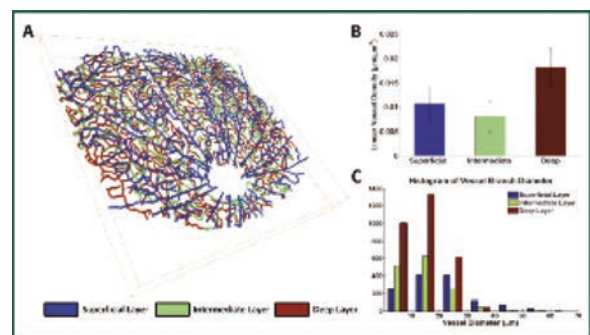


Fig. 9 - (A) Metodo di scheletrizzazione dell'intera vascolarizzazione retinica di ratto. I falsi colori indicano diversi strati di profondità. (B) Vessel density lineare dei tre plessi vascolari: superficiale, intermedio e profondo. (C) Istogramma di stima del diametro delle branche vascolari (by Conor Leahy et al.).

da Cleve Moler, è un ambiente per il calcolo numerico e l'analisi statistica scritto in C (C = linguaggio di programmazione ad alto livello), che consente di manipolare matrici, visualizzare funzioni e dati, implementare algoritmi, creare interfacce utente, comunicare con altri programmi.

È, in sostanza, un linguaggio statistico-informatico utilizzato da milioni di persone nell'industria e nelle università per la versatilità dei suoi numerosi strumenti a supporto dei più disparati campi di studio applicati, e funziona su diversi sistemi operativi, come Windows, Mac OS, GNU/Linux e Unix (da Wikipedia modificato).

COLOR-CODING & ULTRA WIDE-FIELD

La Wide-Field e la Ultra Wide-Field imaging sono metodiche d'imaging ad ampio campo.

Possono essere realizzate con la tradizionale Fundus Camera e visione della periferia retinica, con la lente di Staurengi 230 SLO Retina Lens (Ocular Instruments, Bellevue, Wash.) e Scanning Laser Ophthalmoscope camera Heidelberg HRA (Heidelberg Engineering) [18], con la Retcam (in commercio dal 1997) e ampiezza di circa 130° (Clarity Medical Systems, Pleasanton, Calif.) [19], oppure con Optos (Optos, Dunfermline, UK), introdotto nel 2000, prima camera con una visione fino a 200° gradi, 82.5% dell'area totale della retina [20-22].

Sette campi retinici in un collage standard coprono circa 75° gradi di retina al polo posteriore non esplorando la periferia, importante in tutte le neuro-retinopatie non strettamente centrali.

L'esigenza di un Wide-Field si sta avvertendo anche in angiografia dyeless, insieme alla possibilità in live di un confronto con le più familiari immagini fluoro/ICG. Il color code è un sistema per la visualizzazione d'informazioni tramite una scala di colori.

Il Color-Coded in angio-OCT è un'imaging composta dall'insieme di più campi angiografici en-face dyeless, utilizza ampiamente Adobe Photoshop™, permette un confronto più agevole con le immagini fluoro/ICG, e offre la possibilità ad ampio campo Wide Field, oltre le arcate vascolari. Per un miglior impatto iconografico si utilizzano in OCTA solitamente i seguenti falsi colori [23]:

- Red → superficial vascular plexus
- White → outer retina
- Blue → deep retina
- Green → choriocapillaris

VESSEL DENSITY E I SISTEMI FRATTALI

Santosh G. K. Gadde et al. hanno misurato la densità vasale del plesso superficiale e profondo retinico di 52 soggetti sani indio-asiatici tra 20 e 67 anni (Group A 20/30 anni, Group B 31/45 anni, Group C 46/67 anni), applicando l'analisi frattale locale con campi d'indagine A-Scan di 3mm x 3mm e un'analisi statistica tra i differenti gruppi per età.

È stato utilizzato RTVue XR Avanti OCTA (Optovue, Inc., Fremont, CA, USA), un singolo operatore, algoritmo SSADA.

L'area avascolare foveale FAZ Foveal Avascular Zone e la vessel density sono state divise in zone circolari e settoriali intorno alla fovea: C1 (diametro 1.5 mm), C2 (diametro 2 mm) e C3 (diametro 2.5 mm). La vessel density è stata calcolata, escludendo l'area FAZ, nei rispettivi settori temporale T, superiore S, nasale N, inferiore I, per un'area circolare di diametro di 2,5 mm. È stata considerata un'unica contour map per le densità vasali e le zone di dropout vascolare al fine di migliorare il confronto settoriale. Infine tutti i metodi sono stati implementati utilizzando MATLAB v7.10 (Mathworks, Inc.) (fig. 10) [24].

Gli autori hanno rilevato un'area FAZ superficiale di $0.35 \pm 0.003 \text{ mm}^2$ e un'area profonda di $0.49 \pm 0.012 \text{ mm}^2$, con un agreement tra la misura manuale e la misurazione frattale di 0.97, senza apparenti differenze per i tre gruppi di età. La vessel density era maggiore nel plesso profondo rispetto al superficiale ($P < 0.0001$), mentre per entrambi i plessi ($P < 0.05$) era più accentuata nel settore inferiore, similmente ai riscontri sperimentali su animali.

Per comprendere come i dati dei nostri OCTA sono elaborati e fruibili clinicamente, è opportuno dare un cenno sul sistema frattale, utilizzato non solo in questo studio per il calcolo della vessel density.

Un frattale è un oggetto geometrico dotato di omotetia interna (omos = simile, tithemi = metto,

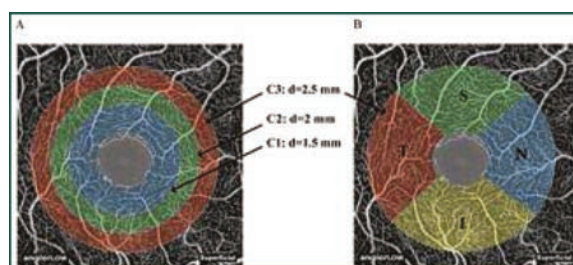


Fig. 10 - (A) Analisi con OCTA del plesso vascolare superficiale retinico in tre zone circolari C1,C2,C3; d=diametro. (B) Analisi con OCTA del plesso vascolare superficiale retinico in 4 settori: temporale T, superiore S, nasale N e inferiore I (by Santosh G. K. Gadde et al.).

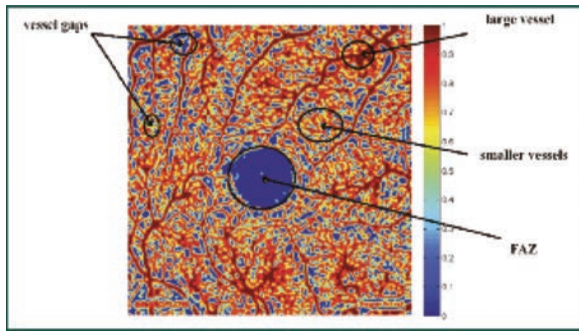


Fig. 11 - Contour Map con analisi frattale del plesso retinico superficiale dove si evidenziano la FAZ, vasi grandi, piccoli e zone di gaps vascolare (by Santosh G. K. Gadde et al.).

Michel Chasles 1827): si ripete cioè nella sua forma allo stesso modo su scale diverse di grandezza; una sua qualunque parte è simile all'originale.

Questa caratteristica è spesso chiamata anche auto similarità o autosomiglianza.

Il termine coniato nel 1975 da Benoît Mandelbrot descrive l'elaborazione di alcuni comportamenti matematici che sembrano essere "caotici", dal latino fractus (rotto, spezzato), come il termine frazione.

Le immagini frattali sono oggetti di dimensione anche non intera, immagini spezzate, analizzate nell'aspetto informatico-matematico attraverso due proprietà: la Self-similarity e la Hausdorff Besicovich dimension (modificato da Wikipedia) [25].

Inoltre necessitano, per una loro proficua utilizzazione, dell'intervento di numerosi algoritmi in sequenza: HYBRID algorithm, EXACT algorithm, Box-counting algorithm e Differential Box-counting algorithm.

Il sistema d'elaborazione, scomposizione e dimensione frattale è, in definitiva, senza addentrarsi ulteriormente in campi di difficile comprensione, un modo per stimare la complessità dell'imaging biomedicale e renderla leggibile in dati statistici ed iconografici.

Si avvale indispensabilmente della texture analysis (Fractal Texture Analysis), branca della scienza dell'imaging utile per la descrizione strutturale delle immagini dei tessuti biologici.

La definizione usata e accettata di texture è, infatti, inerente alla variazione spaziale dell'intensità dei pixel, al fine di rilevare ogni minima eventuale differenza di segnale nell'area biologica in studio [26] (fig. 11).

Numerose ricerche hanno introdotto nuovi parametri per determinare l'assetto vascolare OCTA: vessel area density (VAD), vessel skeleton density (VSD) e nonperfusion area.

Questi parametri sono importanti specie nella retinopatia diabetica e le maculopatie in genere [27→29], ma hanno evidenziato limiti applicativi, risultando insufficienti se presi singolarmente.

Zhongdi Chu et al., dopo aver puntualizzato questi limiti per VAD, VSD, e la nonperfusion area, in un loro studio del marzo 2016 hanno confrontato 5 indici quantitativi: la vessel area density, la vessel skeleton density, la vessel diameter index, la vessel perimeter index, e la vessel complexity index su retine sane e stabilmente patologiche, riscontrando un'ottima ripetibilità tra gli esami [30] (fig. 12).

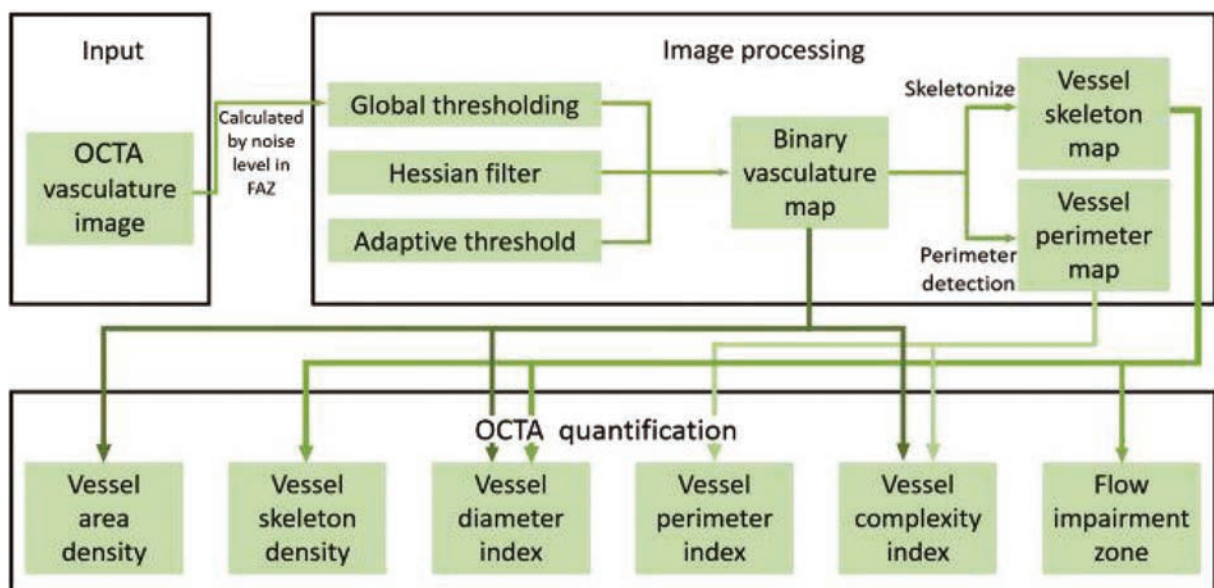


Fig. 12 - Modalità d'analisi quantitative(diagramma di flusso) applicando l'algoritmo OMAG (by Zhongdi Chu et al.).

Sono stati utilizzati due OCTA, un Cirrus HD 5000 a 840-nm central wavelength, 45-nm $\Delta\lambda$ ($\Delta\lambda$ = wavelength bandwidth, ampiezza di banda), 68-KHz A-scan rate, risoluzione assiale 7 μm , laterale 15 μm , campo d'indagine di 2.4 mm $\times$ 2.4 mm, 245 linee per ciascuna B-scan, 245 punti in assiale, con FastTrac per il tracking retinico, device già in commercio, e un SS-OCT a 1050-nm central wavelength, 100-nm $\Delta\lambda$, 100kHz A-scan rate, risoluzione assiale 5 μm , laterale 14 μm , campo d'indagine di 3 mm $\times$ 3 mm, 300 A-lines per ciascuna B-scan e 300 B-scans centrati nella fovea, di prossima commercializzazione, entrambi Carl Zeiss Meditec Inc.

Le scansioni HD-OCT sono state eseguite alla University di Washington Eye Institute, le scansioni SS-OCT al Bascom Palmer Eye Institute, University di Miami Miller School of Medicine.

Gli angiogrammi sono stati processati come immagini binarie utilizzando MATLAB (R2015b, MathWorks, Inc.) insieme ad algoritmi e filtri associativi, global threshold, hessian filter, e adaptive threshold, necessari per ottenere immagini in mappe binarie 1, 0, dove 1 rappresenta i pixel bianchi e l'esistenza di flusso white pixel (i.e., existence of blood vessel), e 0 i pixel neri black pixel e l'assenza di flusso (i.e., absence of blood vessel).

Questa elaborazione raffinata del segnale permette un'analisi del "tutto o nulla"; inoltre, la determinazione dei livelli di grigi noise level, serve per esaltare il movimento rispetto al tessuto stabile e non mobile [31,32]. L'imaging è stata elaborata con l'algoritmo di decorrelazione OMAG Optical microangiography, utilizzato nei device Zeiss, che prende in considerazione l'ampiezza e la fase del segnale OCT.

Queste caratteristiche migliorano la connettività vascolare, permettono un più alto rendimento segnale/rumore signal-to-noise ratio, e una più elevata sensibilità nel rilevare il flusso ematico capillare [3].

I risultati dimostrano che tutte le analisi quantitative utilizzate possono essere complementari, ripetibili, e che l'unione di tutti questi parametri permette una migliore resa in termini di quantità dell'imaging angio vascolare.

Nel lavoro non è stato affrontato il confronto, pur interessante, tra i due device utilizzati, elaborazione probabilmente in corso per una successiva pubblicazione.

PROBLEMATICHE IN ANGIO-OCT

Huang D. et al. lavorano da tempo per migliorare gli artefatti in angiografia dyeless. Hanno individuato che gli artefatti di proiezione inficiano in modo determinante la quantificazione della vessel density dei plessi vascolari profondi.

Nel loro studio, presentato al meeting dell'American Ophthalmological Society nel maggio 2016, hanno elaborato un ulteriore algoritmo nella definizione del segnale di ritorno "projection resolution and reflectance compensation", che migliora e risolve gli artefatti di proiezione.

La loro ricerca è stata eseguita su 30 occhi di 30 pazienti con glaucoma perimetrico, 10 con lesioni lievi (mild disease), 15 con lesioni moderate (moderate disease) e 5 con lesioni avanzate (advanced disease), oltre 30 soggetti di controllo.

Il plesso superficiale era statisticamente diminuito del 22% nella vessel density rispetto al gruppo di controllo ($P < .001$); i plessi intermedio e profondo mostravano una diminuzione rispettivamente di 8% e 13%. La vessel density del plesso superficiale dimostra nel glaucoma un'alta rispondenza diagnostica con i deficit al campo visivo e lo spessore delle cellule ganglionari maculari GCC ganglion cell complex, riaprendo nuovamente la strada vascolare del glaucoma, del resto mai abbandonata, con promettenti, realistiche nuove performances [33].

Adeleh Yarmohammadi et al., confermando quanto dimostrato da Huang D., con uno studio originale senza riscontri in letteratura, confrontano la sensibilità e l'accuratezza diagnostica della vessel density con OCTA AngioVue e lo spessore RNFL con SD-OCT Avanti in 164 pazienti normali e con glaucoma ad angolo aperto. La vessel density è stata calcolata nella zona peripapillare RNFL circolare centrata sulla papilla ottica con diametro 4,5 mm $\times$ 4,5mm, misurata tra la membrana limitante interna MLI e il bordo posteriore RNFL, con software standard Optovue (version 2015.1.0.90).

Le misurazioni della vessel density sono state effettuate per un intero campo enface di 4.5mm $\times$ 4.5mm (whole enface image vessel density, wiVD) e nella zona circumpapillare (circumpapillary vessel density, cpVD) delineata da un'ellissi di 750 μm dal bordo papillare.

La AUROC (Areas under the receiver operating characteristic curves) è stata utilizzata dal punto di vista statistico per validare l'accuratezza diagnostica dei risultati finali acquisiti.

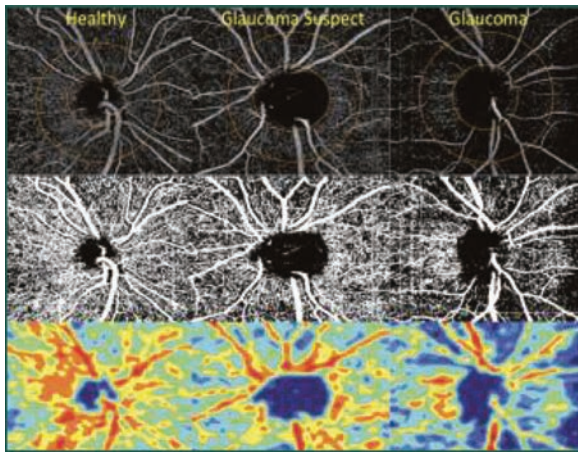


Fig. 13 - Vessel density map per le fibre ganglionari retiniche intorno al disco ottico(RNFL) in occhio sano, con sospetto glaucoma e glaucoma ad angolo aperto. Riga superiore: circumpapillary vessel density map 4,5 x 4,5mm. Riga intermedia: vessel density map estratta nella zona di maggior densità vasale. Riga inferiore: vessel density area in color-coded (by Adeleh Yarmohammadi et al.).

Gli autori confermano l'affidabilità di OCTA nel misurare la vessel density sovrapponibile, per sensibilità diagnostica, allo spessore RNFL nel management dei pazienti glaucomatosi.

Le curve AUROC hanno fatto rilevare massima efficacia per wVD (0.70), seguito da cpVD (0.65) e RNFL thickness (0.65) nel distinguere occhi sani e glaucomatosi.

Concludono il loro lavoro con la necessità di nuovi studi longitudinali per verificare se la bassa vessel density trovata nei glaucomatosi preceda o segua il danno al nervo ottico, prevedendo vantaggi nella diagnosi precoce dai risultati di questa ricerca [34] (fig. 13).

ULTIMATE GOAL E CONSIDERAZIONI FINALI

L'angiografia dyeless è il risultato dell'integrazione di più algoritmi, di processi d'elaborazione informatica di alto livello e di calcoli matematici molto complessi. Un'alta tecnologia in fase di rilievo tomografico e scansione dei tessuti biologici si è largamente sviluppata in questi anni, presupposto necessario e indispensabile per l'elaborazione angiografica dyeless.

Gli OCTA sono appena all'inizio del loro sviluppo.

Matthias Salas, Wolfgang Drexler et al. hanno presentato un nuovo prototipo compatto, multi-modal imaging, che mette insieme Ottiche Adattive, Fundus Camera e OCT a 200 KHz A-scan.

Questo prototipo ha una risoluzione trasversale ~4 µm, assiale ~5 µm, acquisisce un campo di

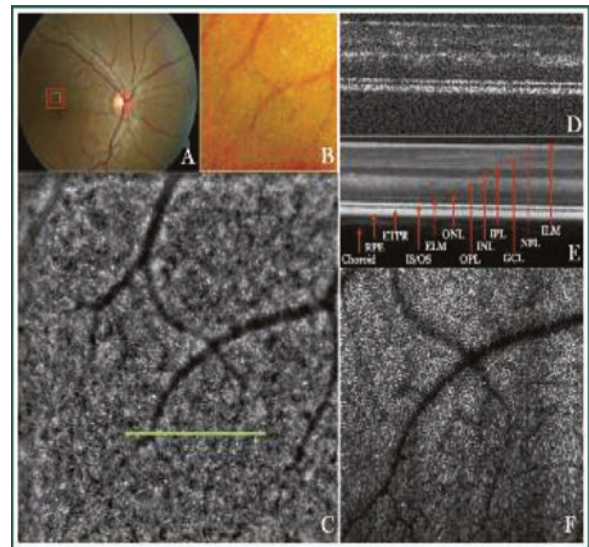


Fig. 14 - Multi-imaging Hi-tech con fotografia, OCT ed ottiche adattive (by Matthias Salas et al.).

4°x4°, ha un frame rate di 10 fps (10 al secondo) e un tempo di esposizione di 10 millisecondi (ms).

Queste caratteristiche permettono di azzerare o quasi ogni artefatto da movimento, consentendo un'elevata risoluzione finale [35] (fig. 14).

Il futuro andrà verso device sempre più integrati e complessi. L'impegno e l'interesse delle industrie è rendere questi nuovi device fruibili ad una platea di utilizzatori sempre più ampia, permettere migliori performance e più rapide diagnosi. Essere protagonisti e non semplici spettatori di questi repentini sviluppi tecnologici è, per tutti noi, un augurale auspicio e, allo stesso tempo, una sfida molto difficile, a mio parere necessariamente da affrontare, sicuramente da vincere, senza alcuna incertezza o infruttuosa esitazione.

REFERENCES

- 1) Mark Hillen. Benchmarking OCT. *Re Ophthalmologist*, February 2016, #27.
- 2) Michael Kaschke, Karl-Heinz Donnerhacke, Michael Stefan Rill. *Optical Device in Ophthalmology and Optometry*. Wiley-VCH; <https://books.google.it/books?isbn=3527648984>, 2013.
- 3) Anqi Zhang, Qinqin Zhang, Chieh-Li Chen, and Ruikang K. Wang. Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: a review and comparison. *Journal of Biomedical Optics* 20(10), 100901 (October 2015).

- 4) R. K. Wang et al.. Depth-resolved imaging of capillary networks in retina and choroid using ultrahigh sensitive optical microangiography. *Opt. Lett.* 35(9), 1467-1469 (2010).
- 5) A. Mariampillai et al.. Speckle variance detection of microvasculature using swept-source optical coherence tomography. *Opt. Lett.* 33(13), 1530-1532 (2008).
- 6) D. Yu Kim et al.. In vivo volumetric imaging of human retinal circulation with phase-variance optical coherence tomography. *Biomed. Opt. Express* 2(6), 1504-1513 (2011).
- 7) Y. Jia et al.. Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography. *Opt. Express* 20(4), 4710-4725 (2012).
- 8) H. M. Subhash and M. J. Leahy. Microcirculation imaging based on full-range high-speed spectral domain correlation mapping optical coherence tomography. *J. Biomed. Opt.* 19(2), 021103 (2014).
- 9) www.optovue.com/products/angiovue/ 
- 10) www.zeiss.com/.../en.../oct/oct-optical.../cirrus-hd-oct.html.
- 11) www.topcon-medical.eu/.../382-dri-oct-triton-swept-source-oct.
- 12) Stanga PE, Tsamis E, Papayannis A, Stringa F, Cole T, Jalil A. Swept-Source Optical Coherence Tomography Angio™ (Topcon Corp, Japan): Technology Review. *Dev Ophthalmol.* 2016; 56:13-7.
- 13) <https://www.heidelbergengineering.com/.../heidelberg-engineeri>.
- 14) Anqi Zhang, Qinqin Zhang, Chieh-Li Chen, Rukai K. Wang. Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: a review and comparison. *Journal of Biomedical Optics* 20(10), 100901 (October 2015).
- 15) Iwona Gorczynska, Justin V. Migacz, Robert J. Zawadzki, Arlie G. Capps, and John S. Werner. Comparison of amplitude-decorrelation, speckle variance and phase-variance OCT angiography methods for imaging the human retina and choroid. 1 Mar 2016, Vol. 7, No. 3. *BIOMEDICAL OPTICS EXPRESS* 911.
- 16) Conor Leahy, Harsha Radhakrishnan, Geoffrey Weiner, Jeffrey L. Goldberg, and Vivek J. Srinivasan. Mapping the 3D Connectivity of the Rat Inner Retinal Vascular Network Using OCT Angiography. <http://iovs.arvojournals.org/pdf> [access.ashx?url=/data/Journals/IOVS/9 34392/on 08/06/2016](http://iovs.arvojournals.org/pdf).
- 17) Lee TC, Kashyap RL, Chu CN. Building skeleton models via 3-D medial surface axis thinning algorithms. *Cvgip-Graph Model Im.* 1994; 56:462-478.
- 18) Staurengi G, Viola F, Mainster MA, et al. Scanning laser ophthalmoscopy and angiography with a wide-field contact lens system. *Arch Ophthalmol* 2005; 123:244-52
- 19) Dai S, Chow K, Vincent A. Efficacy of wide-field digital retinal imaging for retinopathy of prematurity screening. *Clin Experiment Ophthalmol* 2011;39(1):23-9.
- 20) Atkinson A, Mazo C. Imaged area of the retina. Data on file, Optos.
- 21) Matthew T. Witmer, MD and Szilárd Kiss, MD, New York City, Re Clinical Utility of Ultra-Wide-Field Imaging. *Review of Ophthalmology*. Published 8 March 2012.
- 22) Qinqin Zhang, Cecilia S. Lee, Jennifer Chao, Chieh-Li Chen, Romas Zhang, Utkarsh Sharma, Anqi Zhang, Jin Liu, Kasra Rezaei, Kathryn L. Pepple, Richard Munsen, James Kinyoun, Murray Johnstone, Russell N. Van Gelder & Rukai K. Wang. Wide-field optical coherence tomography based microangiography for retinal imaging. *Scientific Reports* | 6:22017 |
- 23) Maged Alnawaiseh, Friederike Schubert, Pieter Nelis, Gabriele Wirths, André Rosenreter and Nicole Eter. Optical coherence tomography (OCT) angiography findings in retinal arterial macroaneurysms. *Alnawaiseh et al. BMC Ophthalmology* (2016) 16:120.
- 24) Santosh G. K. Gadde, Neha Anegondi, Devanishi Bhanushali, Lavanya Chidambara, Naresh Kumar Yadav, Aruj Khurana, and Abhijit Sinha Roy. Quantification of Vessel Density in Retinal Optical Coherence Tomography Angiography Images Using Local Fractal Dimension. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* April 2016, Vol.57, 2263.
- 25) Antonio Napolitano, Sara Ungania and Vittorio Cannata. Fractal Dimension Estimation Methods for Biomedical Images. <http://dx.doi.org/10.5772/48760>.
- 26) William Henry Nailon. Texture Analysis Methods for Medical Image Characterisation. www.intechopen.com.
- 27) R. Reif et al.. Quantifying optical microangiography images obtained from a spectral do-

- main optical coherence tomography system. *J. Biomed. Imaging* 2012, 9 (2012).
- 28) Y. Jia et al.. Quantitative optical coherence tomography angiography of vascular abnormalities in the living human eye. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112(18), E2395–E2402 (2015).
 - 29) S. A. Agemy et al.. Retinal vascular perfusion density mapping using optical coherence tomography angiography in normals and diabetic retinopathy patients. *Retina* 35(11), 2353–2363 (2015).
 - 30) Zhongdi Chu, Jason Lin, Chen Gao, Chen Xin, Qinqin Zhang, Chieh-Li Chen, Luis Roisman, Giovanni Gregori, Philip J. Rosenfeld, Ruikang K. Wang. Quantitative assessment of the retinal microvasculature using optical coherence tomography angiography. *Journal of Biomedical Optics* 21(6), 066008 (June 2016).
 - 31) R. Reif et al.. Quantifying optical microangiography images obtained from a spectral domain optical coherence tomography system. *J. Biomed. Imaging* 2012, 9 (2012).
 - 32) A. F. Frangi et al.. Multiscale vessel enhancement filtering. in *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention MICCAI '98*, pp. 130–137, Springer Verlag, Berlin, Germany (1998).
 - 33) Huang D. Angiography of macular circulation in glaucoma. Presented at: American Ophthalmological Society; May 19-22, 2016; Colorado Springs, Colo.
 - 34) Adeleh Yarmohammadi, Linda M. Zangwill, Alberto Diniz-Filho, Min Hee Suh, Patricia Isabel Manalastas, Naeem Fatehee, Siamak Yousefi, Akram Belghith, Luke J. Saunders, Felipe A. Medeiros, David Huang, and Robert N. Weinreb. Optical Coherence Tomography Angiography Vessel Density in Healthy, Glaucoma Suspect, and Glaucoma Eyes. *iovs.arvojournals.org* j ISSN: 1552-5783.
 - 35) Matthias Salas, Wolfgang Drexler, Xavier Levecq, Barbara Lamory, Markus Ritter, Sonja Prager, Julia Hafner, Ursula Schmidt-Erfurth, and Michael Pircher. Multi-modal adaptive optics system including fundus photography and optical coherence tomography for the clinical setting. 1 May 2016 | Vol.7, No.5 | BIO-MEDICAL OPTICS EXPRESS.

CAPITOLO 15

ANGIO-OCTe GLAUCOMA

INTRODUZIONE

Le tecnologie d'imaging angio-OCT non invasive e label free sono molto utili per quantificare il flusso ematico a livello della rete capillare neuro-retinica. Queste tecnologie sono legate allo sviluppo degli OCT e all'implementazione di opportuni e raffinati algoritmi nei loro software [1]. La flussimetria non invasiva sta acquistando sempre più valore e spazio nella ricerca scientifica in ogni campo della diagnostica medica. L'oftalmologia, con ancor maggior enfasi iconografica, è investita pienamente da questo straordinario e positivo sviluppo Hi-Tech, con non pochi e sensibili vantaggi nella diagnosi e terapia di molte patologie neuro-corio-retiniche.

La visualizzazione dei networks microvascolari e la quantificazione della perfusione emoreologica con angio-OCT, infatti, stanno condizionando fortemente aspetti diagnostici, valutazioni prognostiche e nuove strategie terapeutiche con crescente razionalità iconografica (fig. 1).

La perfusione della testa del nervo ottico è stata per lungo tempo studiata secondo l'età, nella malattia iperbarica e, segnatamente, nel glaucoma. Le notizie più copiose sulla perfusione della papilla ottica pervengono dall'angiografia con fluoresceina FA. Nei pazienti con glaucoma ad angolo aperto la FA rivela l'alterata perfusione retinica insieme alla non perfusione della testa del nervo ottico, con aumento del leakage in relazione ai cambiamenti strutturali della lamina cribrosa e della vascolarizzazione delle fibre ottiche [2].

I dati forniti dalla FA, inoltre, rivelano in prevalenza tempi aumentati del passaggio arterovenoso nei glaucomi normo-tensivi e iperbarici ad angolo aperto, deficit di riempimento, di frequente settoriali e/o focali nelle forme normotensive, e ipoperfusioni diffuse nei glaucomi ipertensivi di lunga data [3,4]. La richiesta di un esame FA in corso di glaucoma se poteva essere in parte giustificata negli anni Ottanta e Novanta, è oggi improponibile, oltre che per le note controindicazioni generali, per le crescenti problematiche medico-legali.

Entrati da poco nella semeiologia strumentale oftalmologica, gli angio-OCT stanno rivoluzionando

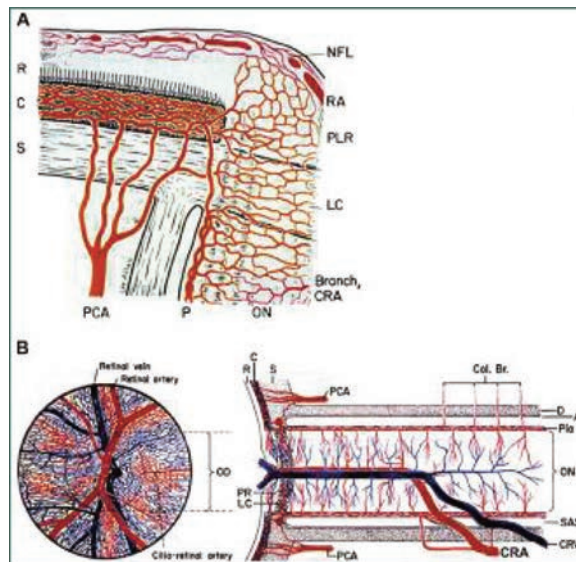


Fig. 1 - Schema della vascolarizzazione della testa del nervo ottico(A), e del nervo ottico (B) (da Hayreh). Abbreviazioni: A = arachnoid; C = choroid; CRA = central retinal artery; Col. Br. = Collateral branches; CRV = central retinal vein; D = dura; LC = lamina cribrosa; NFL = surface nerve fiber layer of the disc; OD = optic disc; ON = optic nerve; P = pia; PCA = posterior ciliary artery; PR / PLR = prelaminar region; R = retina; RA = retinal arteriole; S = sclera; SAS = subarachnoid space.

non poco l'approccio diagnostico delle malattie neuro-retiniche. Il glaucoma non si sottrae ad essere rivalutato con tale tecnologia, e il dato flussimetrico è riemerso come essenziale e predittivo nella diagnosi precoce di questa neuropatia.

Questo capitolo si propone di fornire informazioni e utili chiarimenti, per quanto è possibile, sull'imaging del nervo ottico che gli angio-OCT permettono, in modo efficace, diffuso, non invasivo e, segnatamente, di tracciare come questa nuova metodica d'indagine possa aiutare la diagnosi precoce del glaucoma.

FLUSSIMETRIA LASER-DOPPLER V/S ANGIO-OCT

Il *Laser Doppler Flowmetry LDF* e il *Laser Speckle Flowgraphy LSFG* sono due metodiche non invasive per misurare il flusso ematico retinico e della papilla ottica. Studi non isolati con tali tecniche hanno confermato i dati emersi dalla FA, mettendo in evidenza la diminuzione della perfusione ematica del disco ottico nei pazienti glaucomatosi rispetto ai soggetti normali. Più di

uno studio scientifico ha formulato l'ipotesi che l'ipoperfusione della testa del nervo ottico possa anticipare ed essere causa dei successivi deficit al Campo Visivo [5-7]. Il punto debole comune di queste due metodiche è la scarsa ripetibilità intra-visita e inter-visita. Il LSFG ha, infatti, un Coefficiente di Variazione (CV) nella riproducibilità intra-visita tra 1.9% e 11.9% e di ripetibilità inter-visita del 12.8%, valori troppo alti perché un esame strumentale possa essere considerato affidabile su larga scala. Il LDF è ancor meno attendibile del LSFG almeno nelle sue prime applicazioni strumentali, con range di CV intra-visita tra il 6.6% e il 21.2% e ripetibilità inter-visita tra il 25.2% e il 30.1%.

Oltre alla FA, al LDF e al LSFG, anche la Risonanza Magnetica Nucleare, utilizzata nello studio flussimetrico papillare, non ha dato grande affidabilità a causa del ristretto campo d'indagine e del suo limite di risoluzione [8].

La metà dei pazienti glaucomatosi alla prima osservazione, com'è noto, ha valori pressori spesso non elevati, e non sempre i danni funzionali sono proporzionali al regime pressorio oculare. Numerosi sono i lavori scientifici che, partendo da questi dati, avvalorano la genesi vascolare del danno strutturale in corso di glaucoma piuttosto che affidarsi al solo dato meccanico IOP dipendente [9,10].

Il laboratorio di fisiopatologia oculare diretto da Michele Virno e Maria Josè Pecori Giralaldi della Clinica Oculistica di Roma, con lungimiranza e acume scientifico, direttore Giovan Battista Bietti, già negli anni Settanta con forza ha sostenuto e studiato la patogenesi vascolare del glaucoma. Numerosi altri gruppi di ricerca, non solo italiani, hanno creduto nel ruolo patogenetico del flusso ematico secondario a IOP come *primum movens* del danno assonale nel glaucoma [11].

I non pochi lavori sperimentali su cavie prodotti da queste ricerche hanno trovato, tuttavia, difficile convalida sull'uomo, e la teoria vascolare, pur sempre in auge, è rimasta oggetto di studio senza riscontri clinici universalmente utilizzabili.

Nel 1995 Schuman, Puliafito e Fujimoto affermavano in *"Optical coherence tomography: a new tool for glaucoma diagnosis"* l'importanza e futuro sviluppo diagnostico nel glaucoma della nascente tomografia a coerenza ottica [12].

Da allora gli OCT hanno avuto uno straordinario sviluppo e diffusione, e sono diventati fondamentali

nell'indagine strutturale quantitativa in corso di glaucoma per lo spessore dello strato delle fibre ottiche retiniche intorno alla papilla ottica RNFL Retinal Nerve Fiber Layer, per lo spessore selettivo delle cellule ganglionari in macula GCC Ganglionar Complex Cells, per la determinazione dell'area della rima neurale Rim Area, oltre che per informazioni sulla forma del disco ottico, sul Cup-Disc e, non ultimo per importanza, sulla lamina cribrosa [13]. Inoltre, con l'indagine tomografica è stato possibile stabilire in modo più preciso il rapporto tra Struttura/Funzione, tra le alterazioni tomografiche della papilla, dell'area peripapillare e il Campo Visivo, con Reports molto suggestivi e iconograficamente accattivanti [14,15].

Tutto questo progresso Hi-Tech, straordinario e affascinante, nel glaucoma lasciava poco esplorato il dato vascolare. Lo studio degli indici di flusso ematico, elaborati con varie metodologie, come accennato, è stato spesso limitato dall'esperienza del singolo operatore, decisivo ai fini dei risultati ottenuti, scoraggiando successive ricerche in questo settore [16].

Con i nuovi angio-OCT questi limiti e variabilità individuali sembrano superati; affidabili network di flusso sono ottenibili durante l'esecuzione di una comune tomografia, con modalità dyeless, operatore indipendente, e con imaging di straordinaria chiarezza.

Tuttavia l'esperienza, la competenza nella lettura dei tomogrammi, l'accuratezza e l'ottimizzazione dei tempi d'esecuzione non possono essere sottovalutati, elevando ulteriormente la qualità finale dei risultati ottenuti [17].

FLUSSIMETRIA DEL NERVO OTTICO E GLAUCOMA

Alon Harris et al. pubblicavano nel 1996 su J. Glaucoma in un gruppo omogeneo di pazienti la variazione del flusso ematico del nervo ottico a differenti concentrazioni di anidride carbonica. Durante l'ipercapnia il flusso aumenta del 28%, il volume ematico del 22% e la velocità di circolo del 9% rispetto a normali condizioni di saturazione d'ossigeno. Concludevano che il Laser Doppler Flowmetry, da loro utilizzato, permetteva efficacemente e in modo non invasivo la misurazione del flusso ematico del nervo ottico [18]. Questo gruppo di ricerca, come vedremo, ha investito molto tempo nello studio flussimetrico in corso di glaucoma.

Larry Kagemann *et al.* del gruppo di studio di Harris, su *British Journal of Ophthalmology* due anni dopo, studiando in 12 soggetti la flussimetria del nervo ottico, affermavano che il Confocal Scanning Laser Doppler Flowmetry cSLDF Heidelberg retinal flowmetry HRF, era un promettente metodo per la determinazione del flusso ematico neuro-retinico su campi d'indagine nel tessuto peripapillare di $100\mu\text{m} \times 100\mu\text{m} \times 400\mu\text{m}$, equivalenti a 10×10 pixels (box of peripapillary retinal tissue) [19].

Alon Harris *et al.*, nello stesso anno su *Jama Ophthalmology*, dissertando sull'autoregolazione del flusso ematico del nervo ottico al variare della IOP, della pressione arteriosa sistemica e delle condizioni metaboliche, asserivano che molti aspetti dell'autoregolazione osservati sperimentalmente e in vivo in differenti condizioni, restavano ancora non adeguatamente esplorati e conosciuti, particolarmente nel glaucoma [20].

Il nervo ottico Optic Nerve Head ONH è irrorato da un plesso di vasi superficiali per gli strati iuxta-retinici *superficial layers* (fibre ottiche e strato superficiale del nervo ottico), tributario dell'arteria centrale della retina, e da un plesso di vasi profondi per gli strati iuxta-coroideali *deeper layers* (regione prelamina, lamina cribrosa, regione retrolaminare), tributario delle arterie ciliari profonde. Anche se iniziali rapporti indicavano il plesso delle arterie ciliari profonde come maggiormente coinvolto nel danno glaucomatoso, altre ricerche hanno rivalutato il ruolo del plesso superficiale di pertinenza dell'arteria centrale retinica (fig. 1) [21].

Come vedremo più avanti le metodiche laser-doppler, oltre ad essere più indaginose, sono in affanno nel distinguere questi differenti plessi nella patogenesi del danno iperbarico.

Hana Leiba *et al.*, utilizzando Heidelberg retinal flowmeter, descrivono su *Eye* nel 2000 che il decremento del flusso ematico nell'ONH è un indice di rischio importante per neuropatie ottiche ischemiche non infiammatorie (non-arteritic anterior ischaemic optic neuropathy, NAION) [22], allargando l'interesse dell'indagine vascolare oltre il campo del glaucoma.

M. Nagahara *et al.*, in successivi studi e ricerche, riaffermano che il *Laser Speckle Flowgraphy* (LSFG), rinnovato ed aggiornato, è una promettente tecnica metodologica per la valutazione della microcircolazione dell'ONH, capace di quan-

tificare, anche se non senza difficoltà, separatamente in vivo la quota ematica pertinente al letto coroideale e retinico, confermando le iniziali ricerche di Harris e collaboratori del 1996 e 1998 [23]. Wataru Kobayashi *et al.* in uno studio pubblicato su *Journal of Ophthalmology* nel 2014 sono arrivati a simili conclusioni [24].

Com'è noto oltre 70 milioni di persone sono affetti da glaucoma, seconda causa di cecità nel mondo [25]. Il glaucoma a bassa tensione Normal Tension Glaucoma NTG, nonostante sia molto diffuso e la forma di glaucoma ad angolo aperto più comune in Asia resta nella patogenesi, per molti aspetti, ancora controverso e oscuro [26]. Numerosi rapporti scientifici hanno dimostrato la relazione tra la diminuzione della circolazione emoreologica dell'ONH e il glaucoma, in particolare per la forma NTG con varie metodiche.

La metodologia con maggiori e recenti sviluppi per lo studio flussimetrico neuro-retinico è il laser speckle (speckle=chiazza, macchiolina, puntino) in precedenza citato. Introdotto nel 1980 con applicazioni soprattutto nelle neuroscienze, in dermatologia, e meno utilizzato in oftalmologia, è un potente strumento nell'imaging ad ampio campo del flusso ematico. Il termine speckle imaging significa "creare immagini a partire da macchie". Questa tecnologia è stata perfezionata dall'astronomo americano David L. Fried nel 1966 per migliorare la risoluzione dei telescopi nelle osservazioni delle galassie e delle stelle. Nonostante esista un copioso numero di report su questa tecnica per la quantificazione della flussimetria retinica negli animali, poche sono le immagini nell'uomo. La maggior parte degli studi ha, oltretutto, riportato valori medi di flusso calcolati senza mostrare le relative mappe spaziali neuro-retiniche.

L'agenzia *Japanese Pharmaceuticals and Medical Devices*, pur con le incertezze espresse, ha approvato dal 2008 un device che si basa su tale metodo flussimetrico, il LSFG-NAVI (LSFG-NAVI, Softcare Co., Ltd., Fukuoka, Japan; LSFG=Laser Speckle Flowgraphy), di recente ulteriormente migliorato e modificato (LSFG-NAVIOPE) (fig. 2) [27].

Lo studio di H. Isono *et al.* è uno dei pochi che mostra le mappe di flusso della retina umana utilizzando tale tecnica, con elaborazione di aree adiacenti per un'estensione complessiva di 3mm^2 [28]. Le ragioni delle difficoltà di questa metodologia risiedono essenzialmente nella sua limitata e ristretta risoluzione spaziale, dovuta ai

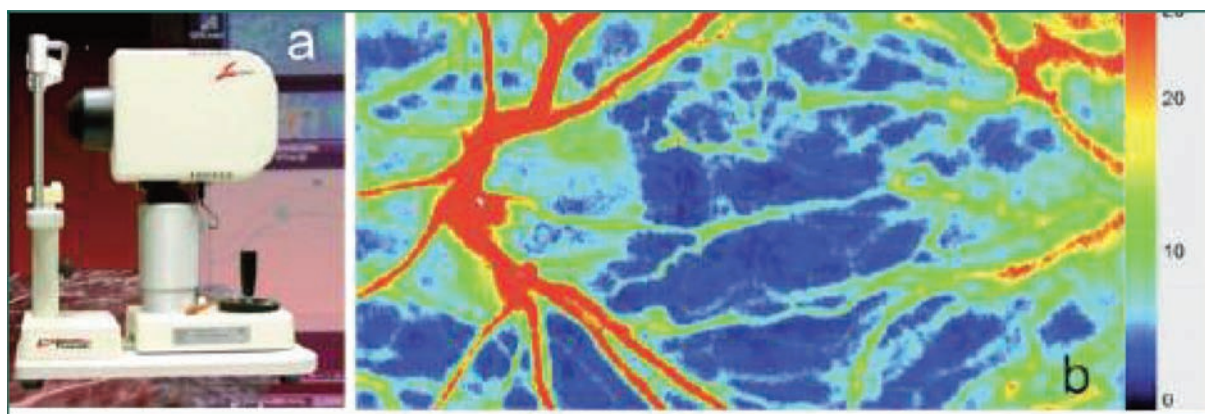


Fig. 2 - Device LSFG-NAVI-OPE in (a); imaging della vascolarizzazione nell'area dell'ONH con tecnologia Laser Speckle Flowgraphy in (b). LSFG=Laser Speckle Flowgraphy.

sensori della fotocamera, con un potere limitato a 100x100 pixels.

Un recente studio di *Tetsuya Sugiyama* del 2014 sembra però dileguare dubbi ed incertezze sulla bontà di tale tecnologia. Infatti, con l'utilizzo di una camera CCD Charge-Coupled Device e l'elaborazione dei segnali con Mean Blur Rate MBR (Tasso di sfocatura media), il nuovo device, rispetto al primo modello, dimostra una risoluzione spaziale delle mappe di flusso 24 volte migliore, con buona riproducibilità nelle misurazioni [29].

ANGIOGRAFIA-OCT DEL NERVO OTTICO

Il flusso emoreologico dell'ONH è indissolubilmente associato alla fisiopatologia della malattia iperbarica IOP dipendente. La valutazione quantitativa degli indici di flusso ematico, come da letteratura presa in esame, rimaneva effettuabile sostanzialmente in un ambito di ricerca, nei laboratori particolarmente attrezzati, non fruibile certamente su larga scala. L'introduzione degli Spectral Domain SD-OCT e degli Swept Source SS-OCT ha aperto nuove e più ampie prospettive d'indagine nel glaucoma nei confronti dell'aspetto biomeccanico e vascolare [30].

L'algoritmo Split-Spectrum Amplitude-Decorrelation Angiography SSADA, brevettato da David Huang nel 2012, è utilizzato su larga scala da RTVue-XR Optovue, primo angio-OCT in commercio in Europa con marchio CE. L'analisi dei plessi vascolari corio-retinici, la facilità e la rapidità d'imaging vascolare hanno grandemente contribuito, in modo definitivo, a porre nuovamente in discussione l'importanza del flusso ematico nelle

varie forme di glaucoma cronico ad angolo aperto, con particolare attenzione nelle forme pre-perimetriche (Early Glaucoma) e normotensive.

Yali Jia et al. su *Biomedical Optics Express* nel dicembre 2012 indicano la possibilità di determinare in modo dettagliato, con angiogrammi en-face in 2D, i valori medi di decorrelazione del flusso, *average flow index*, e le aree occupate dai vasi, *vessel density*, sull'intero ONH e/o sue parti, fornendo valori differenziali di questi parametri rispetto a soggetti normali.

Da questo studio pilota emerge che nei pazienti con glaucoma pre-perimetrico esiste un'indicativa riduzione di perfusione rispetto a soggetti normali, confermando l'efficacia diagnostica e prognostica nell'indagine dei flussi vascolari nell'Early Glaucoma con gli angio-OCT (fig. 3,4) [31].

Quest'iniziale indagine, pur limitata nel numero di soggetti coinvolti (4 normali e 4 con glaucoma pre-perimetrico) che ha avuto ulteriori conferme e riscontri su più vaste platee di soggetti, rende evidente e propone l'utilizzo degli angio-OCT come nuova possibilità di diagnosi precoce nel glaucoma, e apre nuove strade, ora ampiamente praticabili oltre i ristretti laboratori di ricerca.

Yali Jia et al. su *Ophthalmology* del 2014, con un nuovo studio svolto al Casey Eye Institute at Oregon Health & Science University, a conferma di quanto citato, infatti affermano, con un'indagine osservazionale cross-sectional su 24 soggetti normali e 11 glaucomatosi, che il network vascolare angio-OCT (OCT SweptSource Fourier-domain, 1050 nm) è ben visibile nei soggetti normali, mentre è attenuato nel gruppo dei glaucomatosi. La riproducibilità intra-visita è del 1,2%, la ripetibilità inter-visita del

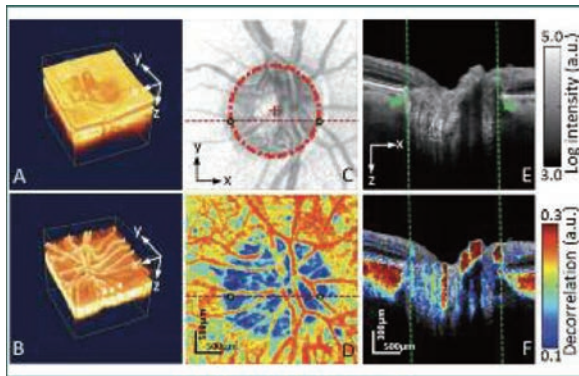


Fig. 3 - Immagini quantitative angio-OCT del flusso di ONH. Immagini di ONH in 3D (3mm x 3mm x 2,9mm sugli assi XYZ) di un soggetto normale. In (E) e (F) le immagini sono state tagliate da 2.9mm a 1.8mm. (A) Immagine della riflettività del volume del disco ottico. (B) Immagine 3D del flusso. (C) Immagine di massima riflettività dei rami dell'arteria centrale. (D) Immagine angiografica di massima decorrelazione. (E) Cross-Section del piano tracciato dalla linea rossa in (C). Il bordo del canale neurale (linee verdi verticali), determinato dalla terminazione del complesso Epitelio Pigmentato Retinico/Membrana di Bruch, è evidenziato dalle due frecce verdi che corrispondono ai punti verdi in (C) e (D). La Cross-Section con intensità in scala dei grigi (E) sovrapposta all'immagine a colori (F), mostra che la massima circolazione avviene nella regione della lamina cribrosa (da Yali et al; rif. Bibl. [31]).

4,2%, la variabilità dei flussi dell'ONH nella popolazione sana del 5% al CV (Coefficiente di Variabilità). L'indice di flusso dell'ONH, principale oggetto di studio, è ridotto del 25% nel gruppo dei glaucomatosi ($P = 0.003$), la sensibilità e specificità in entrambi i gruppi è del 100% una volta ottimizzato adeguatamente il cut-off e, inoltre, gli indici di flusso sono correlati con la Pattern Standard Deviation PSD del Campo Visivo ($R^2 = 0.752$, $P = 0.001$).

Significative sono le correlazioni trovate dopo aver considerato età, Cup/Disc ratio, RNFL e Rim Area [32]; l'algoritmo utilizzato è stato il SSADA (fig. 5).

Il SSADA non è l'unico algoritmo a permettere la decorrelazione del segnale tomografico e la visualizzazione del microcircolo in modo non invasivo.

OMAG Optical Microangiography è l'algoritmo utilizzato da Zeiss inizialmente su HD-Cirrus 5000 Angio-Plex, disponibile in Europa da gennaio 2016 e già in commercio in USA [33]. Rispetto al SSADA, che decorrela i frame considerando le variazioni dell'ampiezza del segnale tomografico rispetto al tempo, OMAG decorrela rispetto alle variazioni della fase.

L'AngioPlex Zeiss (68-kHz) è stato il primo angio-OCT ad avere avuto l'approvazione in USA dalla FDA Food and Drug Administration [510(K), FDA clearance for AngioPlex], dopo quella data

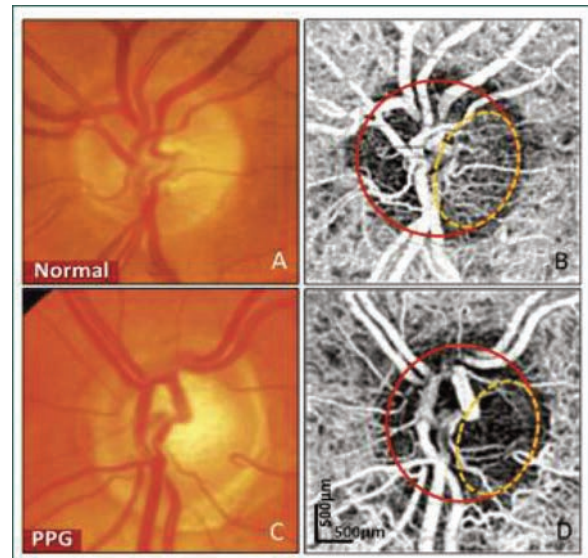


Fig. 4 - Fotografia di dischi ottici (A,C) e angiogrammi en face (B,D) di soggetto normale (NORMAL) (A,B) e con glaucoma pre-perimetrico (PPG) (C,D). La linea circolare continua indica il disco ottico per intero, la linea tratteggiata la zona ellittica temporale. Il network denso è ben visibile nel disco normale, appare molto attenuato nel disco glaucomatoso (da Yali Jia et al; rif. Bibl. [31]).

ha avuto il marchio CE per l'Unione Europea (CE Marking is pending from the European Union).

Al contrario RTVue-XR ha ottenuto da tempo il marchio CE e in data 16/02/16 l'approvazione da parte della FDA.

Al momento gli algoritmi utili per visualizzare il network vascolare corio-retinico con modalità dyeless sono:

- OMAG [34]
- Speckle Variance [35]
- Phase Variance [36]
- SSADA [37]
- Correlation Mapping [38]

La decorrelazione dyeless del segnale tomografico può avvenire con differenti tecnologie:

- a) Angiografia basata sull'ampiezza del segnale OCT
- b) Angiografia basata sulla fase del segnale OCT
- c) Angiografia basata sull'ampiezza e sulla fase del segnale OCT (complex signal)

Vista la rapida evoluzione della tecnologia angio-OCT, nonostante l'estesa letteratura già esistente, risulta arduo dare un giudizio, anche parziale, sulla validità complessiva delle tecnologie applicate. La Zeiss, negli Angio-Plex che si sono succeduti, ha migliorato la decorrelazione del segnale, aggiungendo alla fase l'intensità del se-

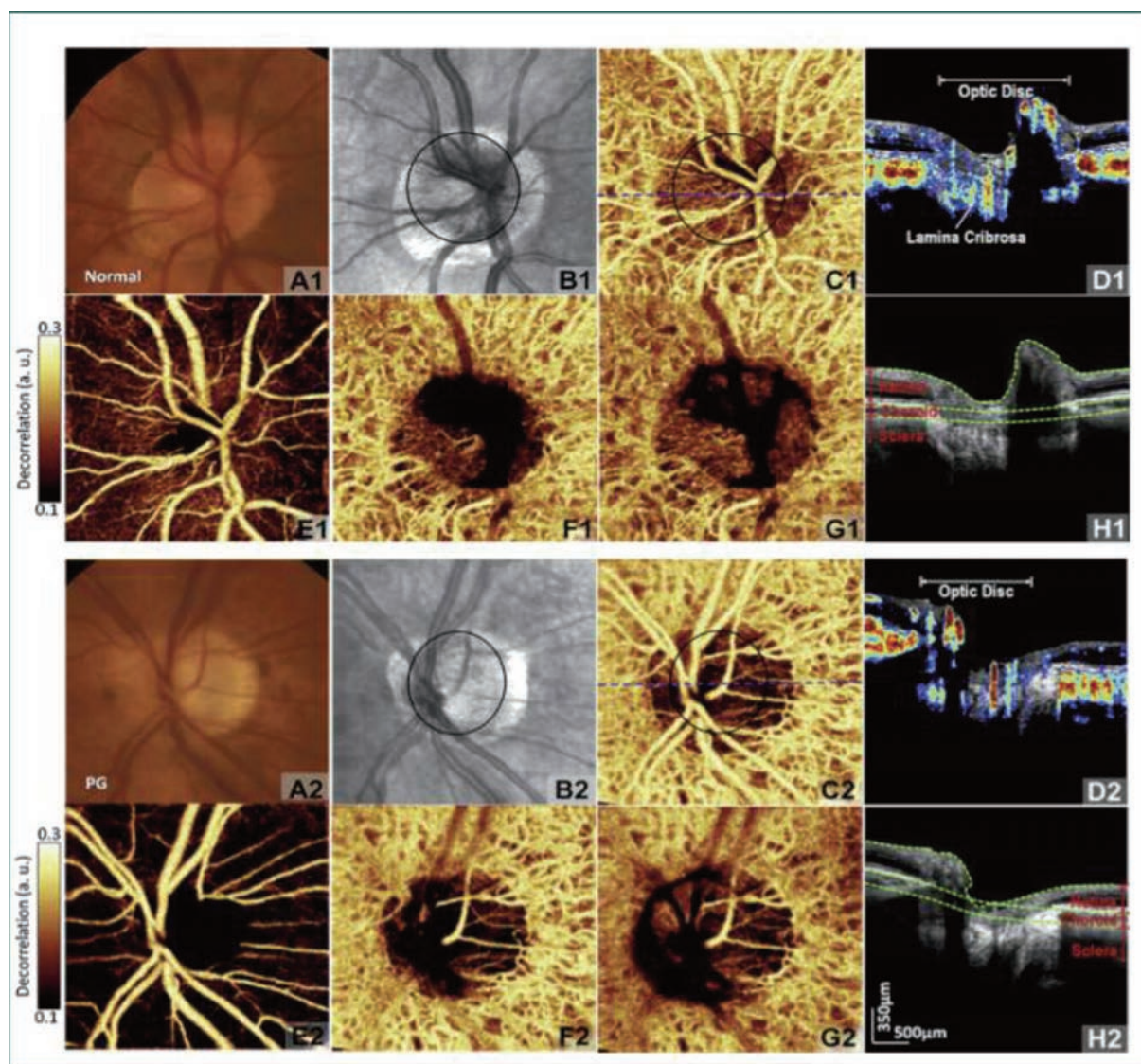


Fig. 5 - Fotografia di due dischi ottici (A1, A2), riflettività OCT (B1, B2), angiogrammi en-face per la complessiva profondità (C1, C2) e angiogrammi cross-sectional sovrapposti alla riflettività OCT in scala dei grigi (D1, D2) in occhio destro di soggetto normale (A1→H1) e in occhio sinistro di soggetto con glaucoma pre-perimetrico (A2→H2). I margini del disco sono marcati con una linea nera ellittica (B1, B2, C1, C2). La posizione della cross-section è segnata da una linea tratteggiata blu (C1, C2). Un denso network microvascolare è visibile negli angio-OCT del disco normale (C1), che risulta attenuato nel glaucoma pre-perimetrico (C2). Si apprezza la capacità angio-OCT nel determinare angiogrammi di flusso ematico nei vari strati vascolari, retinico (E1, E2), coroideale (F1, F2) e sclerale/lamina cribrosa (G1, G2). I confini utilizzati per la segmentazione sono indicati dalle linee grigie tratteggiate nelle riflettenze cross-sectional OCT (H1, H2) (da Yali Jia et al ; rif. Bibl.[32]).

gnale, implementando e migliorando l'originale algoritmo OMAG (OMAGc; $c = \text{complex}$).

Anqi Zhang et al. in una recente Review su Journal of Biomedical Optics (Ottobre 2015), discutono e confrontano per la prima volta in modo esaustivo la validità e la resa degli algoritmi utilizzati nella decorrelazione del segnale, tracciandone le principali caratteristiche d'applicazione. Da tale attenta disamina emerge che l'algoritmo OMAGc, fino al momento del loro studio, offre le migliori performance applicative (fig. 6).

In questa Review, di non facile lettura, gli algoritmi idonei alla decorrelazione del segnale sono ampiamente tra loro confrontati.

I parametri presi in esame sono la *connettività*, il *contrasto*, il *signal-to-noise ratio (SNR)* e i relativi *tempi computazionali*.

Tutti questi parametri ottico-informatici in sostanza sono indici di qualità degli algoritmi di decorrelazione, e ne riassumono l'*efficienza*, la *praticabilità informatico-tomografica* e la *capacità finale di resa iconografica* (fig. 7) (Tab.1, 2) [39].

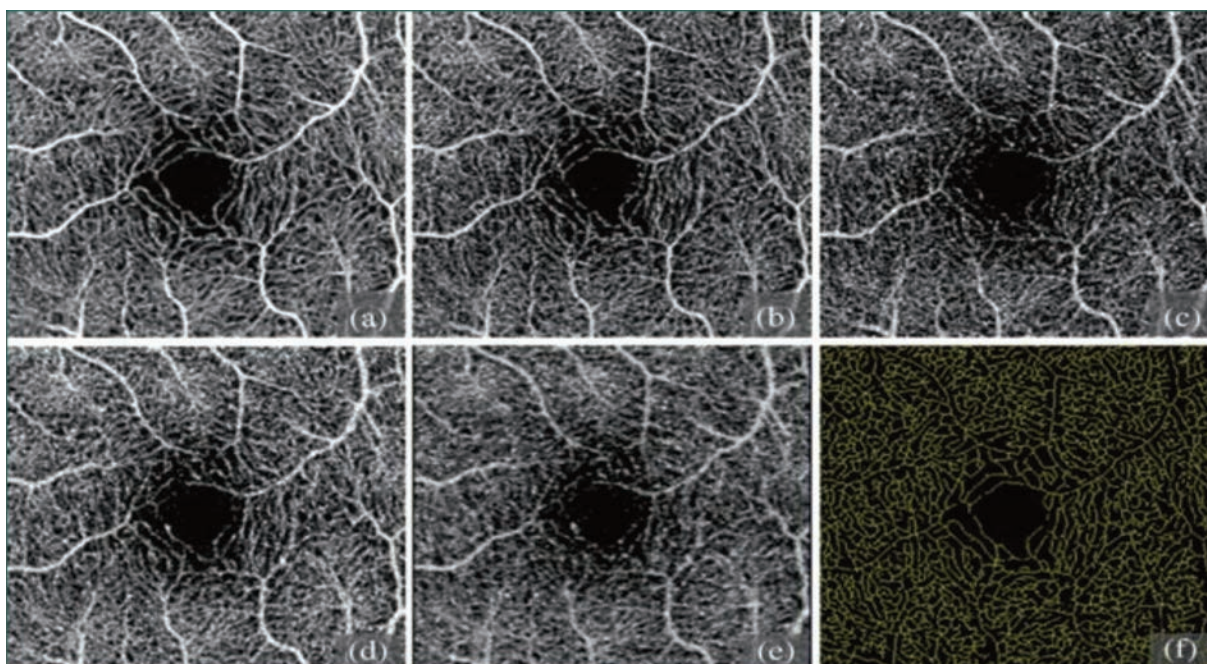


Fig. 6 - Performance dei networks vasali retinici in soggetto sano con OMAG (a), Speckle Variance(b), Phase Variance (c), SSADA (d) e Correlation Mapping (e). In (f) la rete dei capillari in giallo-verde per valutare meglio la loro connessione con la tecnica skeletonized vascular network mask (da Anqi Zhang et al. rif. Bibl.[39]).

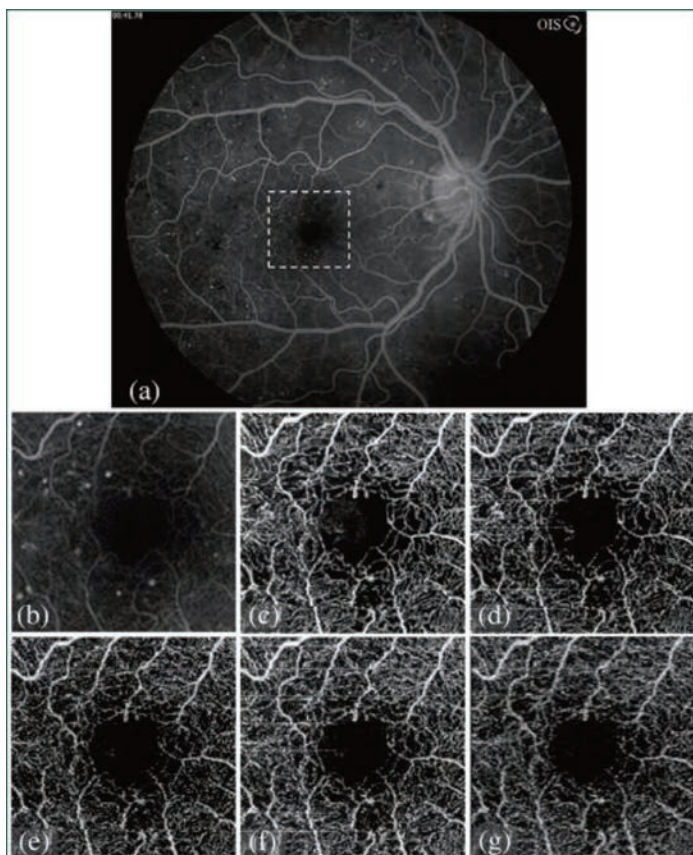


Fig. 7 - Retinopatia diabetica. (a) Angiogramma con fluoresceina con selezione di box tratteggiato in macula, (b) zoom del box image con fluoresceina. (c→g) Rete network visualizzata con OMAG, Speckle Variance, SSADA, Correlation Mapping (da Anqi Zhang et al. rif. Bibl. [39]).

NETWORK VASCOLARI ANGIO-OCT

Le possibilità d'imaging vascolare che i nuovi angioOCT permettono affascinano e, nello stesso tempo sconcertano, tanto alta è la possibilità di definizione dei plessi vascolari e la facilità a ottenere imaging selettive per strati. Com'è accaduto per gli OCT, anche per gli angio-OCT l'interesse dalla retina si è esteso all'ONH con angio-tomografie dettagliate della papilla ottica, lamina cribrosa compresa. Per il momento non sono disponibili molti studi sul flusso ematico angio-OCT dell'ONH oltre a quelli citati.

Su IOVS del 2012 *Huang JC et al.* utilizzando Ultrahigh-Speed Swept-Source OCT (100,000 axial scans/sec, 1050 nm tunable laser, 6 μ m axial resolution in tissue), device sviluppato inizialmente da Fujimoto e David Huang con utilizzo di SSADA, mettono in relazione in un gruppo di pazienti glaucomatosi e normali, il Campo Visivo, il flusso ematico e le misure delle strutture neurali.

I risultati emersi da tale studio sono così riassunti dagli autori: "*Total retinal blood flow and vascular caliber were re-*

Tabella 1**Comparazione per il tempo d'utilizzo di ciascun algoritmo (da Anqi Zhang et al. rif. Bibl.[39]).**

	OMAG	Speckle variance	Phase variance	SSADA	Correlation mapping
Time (s)	0.0149	0.0150	0.0152	0.231	0.444

Tabella 2**Comparazione degli algoritmi per connettività, contrasto e signal-to noise SNR (da Anqi Zhang et al. rif. Bibl.[39]).**

	OMAG	Speckle Variance	Phase variance	SSADA	Correlation mapping
Connectivity	0.1693	0.1761	0.1972	0.1934	0.1769
Contrast	3.3602	2.7863	2.2019	2.7276	2.3891
SNR	3.8165	3.3517	2.7282	2.9538	2.5655

Note: OMAG, optical microangiography; SSADA, split-spectrum amplitude-decorrelation angiography.

duced in glaucoma subjects”.

Parameter	Normal	Glaucoma	p-value
Total-Retinal Blood-Flow (μl/min)	45.5±9.5	34.9±8.5	<0.001
Arterial-Area	0.033±0.0077	0.028±0.0074	0.006 (mm ²)
Venous-Area	0.047±0.012	0.041±0.0086	0.01 (mm ²)

Dalla tabella chiaramente si deduce che nei pazienti glaucomatosi il flusso ematico espresso in μl/min e il calibro vascolare arterioso e venoso in mm² sono entrambi ridotti.

Utilizzando il metodo statistico di Spearman (Charles Edward Spearman 1863-1945; Spearman's correlation coefficient R) gli autori hanno inoltre reso evidente che l'età, la pressione del sangue, la IOP e la pressione di perfusione non erano significativamente correlate con il Campo Visivo, il flusso ematico e le misure strutturali neurali.

Questi ricercatori affermano, inoltre, che la riduzione del flusso sanguigno nei pazienti glaucomatosi ha una significatività, rispetto alle variabili strutturali neurali nel giustificare il peggioramento di MD al Campo Visivo di valore raddoppiato, e che la variazione di flusso ha un effetto diretto sulla funzione visiva, indipendente dai danni strutturali rilevati sull'ONH [40].

David Huang e i suoi collaboratori nell'articolo su Ophthalmology Management “A new view for an old disease” del Novembre 2015, facendo seguito alle loro numerose pubblicazioni in parte citate, dissertano sui metodi Hi-Tech utili per la diagnosi precoce del glaucoma. Riferiscono che lo spessore peripapillare delle fibre assonali retiniche

RNFL e delle cellule ganglionari in macula GCC, pur essendo efficaci mezzi per monitorare il danno strutturale, mostrano una limitata sensibilità nell'Early Glaucoma, e una relativa modesta correlazione con i danni al Campo Visivo (fig. 8) [41].

Confermano la validità del LDF Laser Doppler Flowmetry e del LSFG Laser Speckle Flowgraphy nel distinguere le variazioni flussimetriche tra soggetti normali e glaucomatosi ma, nello stesso tempo, ne evidenziano le difficoltà applicative, e affermano la validità e ripetibilità degli angio-OCT nella diagnosi precoce di glaucoma.

Di assoluto rilievo è altresì il riscontro in questo studio pilota (9 soggetti con glaucoma pre-perimetrico, 3 perimetrico e 12 soggetti normali per età) dell'efficacia di SSADA per il flusso dell'ONH, sia implementato su SS-OCT che su SD-OCT (RTVue-XR Optovue), attraverso scansioni 3mm x 3mm. I deficit di flusso sono stati infine paragonati con i difetti al Campo Visivo (Humphrey Field Analyzer II).

Nel gruppo con glaucoma, all'analisi statistica con coefficiente di Pearson (Karl Pearson, Londra 1857 Londra 1936), si evidenziava un'elevata correlazione tra diminuzione degli indici di flusso, densità vasale e deficit del Campo Visivo, mentre era presente solo una moderata correlazione tra indici del Campo Visivo e lo spessore RNFL, similmente a quanto riferito da altri studi.

Da questa ricerca risulta altresì che gli indici di flusso e la densità vasale erano altamente correlati agli stadi predefiniti del glaucoma, pre-perimetrico, moderato e severo, mentre non c'era correlazione significativa con lo spessore RNFL secondo il Glau-

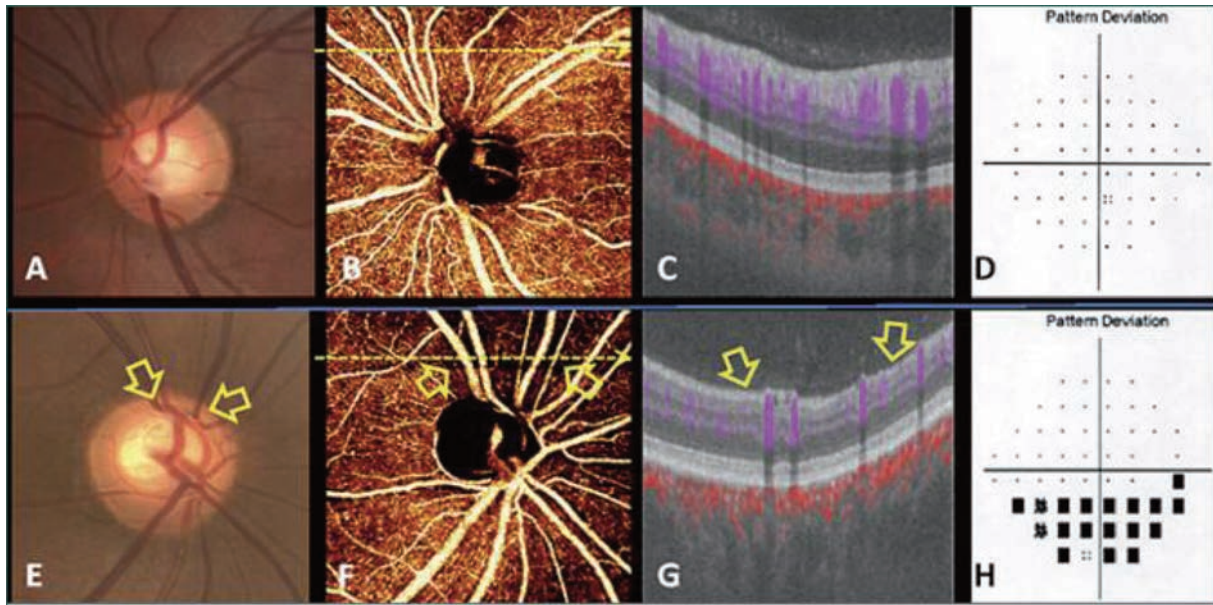


Fig. 8 - Disco ottico normale e glaucomatoso. Le fotografie (A, E) mostrano una rima neurale normale in (A) e con notch nel disco glaucomatoso (E). Un denso network microvascolare è ben visibile in angio-OCT intorno al disco dell'occhio normale (B), che risulta attenuato nell'occhio glaucomatoso con un deficit capillare e dropout, (freccia in F). Le cross-sections OCT (C,G) sovrapposti al flusso retinico (in rosso) e alla riflettenza (scala dei grigi) mostrano i difetti di perfusione associati con la diminuzione di spessore delle fibre ottiche retiniche (freccie). Le mappe della pattern deviation al CV (D,H) evidenziano una depressione inferiore corrispondente al deficit di perfusione nell'occhio glaucomatoso (H) (da D. Huang et al. rif. Bibl. [41]).

coma Staging System2 di Brusini [42-44].

Gli indici di flusso con angio-OCT si rivelano, in definitiva, come indicatori maggiormente significativi nel determinare la severità del glaucoma rispetto alle misure strutturali, con conferma anche nel follow-up.

In un'altra ricerca di settembre 2015 Liu L., David Hang et al. in 12 occhi normali per età e 12 glaucomatosi, utilizzando angio-OCT Spectral, Scan di 70-KHz, lunghezza d'onda di 840nm, doppio passaggio sul disco ottico e campi di 3mm x 3mm, in tutti gli occhi normali individuano un denso network microvascolare peripapillare, che risulta invece globalmente e focalmente attenuato nei 12 occhi glaucomatosi.

Negli occhi normali la riproducibilità inter-visita degli indici di flusso e della densità vasale peripapillare erano 4,3% e 2,7% del coefficiente di variazione CV, mentre le percentuali di variabilità nella popolazione erano 8,2% e 3% rispettivamente.

Gli indici di flusso e la densità vasale peripapillari erano più bassi negli occhi glaucomatosi ($P < .001$ per entrambi i parametri), dove era presente alta correlazione con la PSD al Campo Visivo (fig. 9) [45].

Come si evince gli studi confermano di concerto la validità dell'indagine vascolare angio-OCT nel glaucoma.

Chieh-Li Chen et al. sono stati tra i primi ad utilizzare l'algoritmo OMAG con HD-Cirrus 5000 AngioPlex Zeiss nei soggetti glaucomatosi (245 x 245 raster cube scan per un'area di 2.4 mm² x 2.4 mm² centrata su ONH). In 25 occhi di 13 soggetti con glaucoma (MD al CV -4.43±5.19 dB) e 15 occhi di 8 soggetti sani non sono state riscontrate differenze significative tra normali e glaucomatosi per l'età (normali v/s glaucoma: 59.0±6.6 v/s 70.9±3.7 anni, $p=0.11$, t-test).

Gli occhi normali avevano un maggior spessore di RNFL rispetto ai glaucomatosi (normali v/s glaucoma: 85.1±13.2µm v/s 72.1±10.4µm, $p=0.03$, t-test), la perfusione dell'ONH era statisticamente più deficitaria nei glaucomatosi rispetto ai normali nello strato pre-laminare (normali v/s glaucoma: 0.29±0.03 v/s 0.26±0.03, $p=0.024$) e sull'intero ONH (0.30±0.03 v/s 0.27±0.03, $p=0.022$), ma non sulla lamina cribrosa (0.17±0.02 v/s 0.17±0.03, $p=0.79$). Quest'ultimo risultato è probabilmente dovuto alle limitate possibilità in *deep resolution and penetration* del device Spectral domain utilizzato [46, 47] (fig. 10).

Michel Puech dell'Explore Vision di Parigi, afferma che esistono tre zone emoreologiche angio-tomografiche in cui verificare gli indici di flusso nell'ONH:

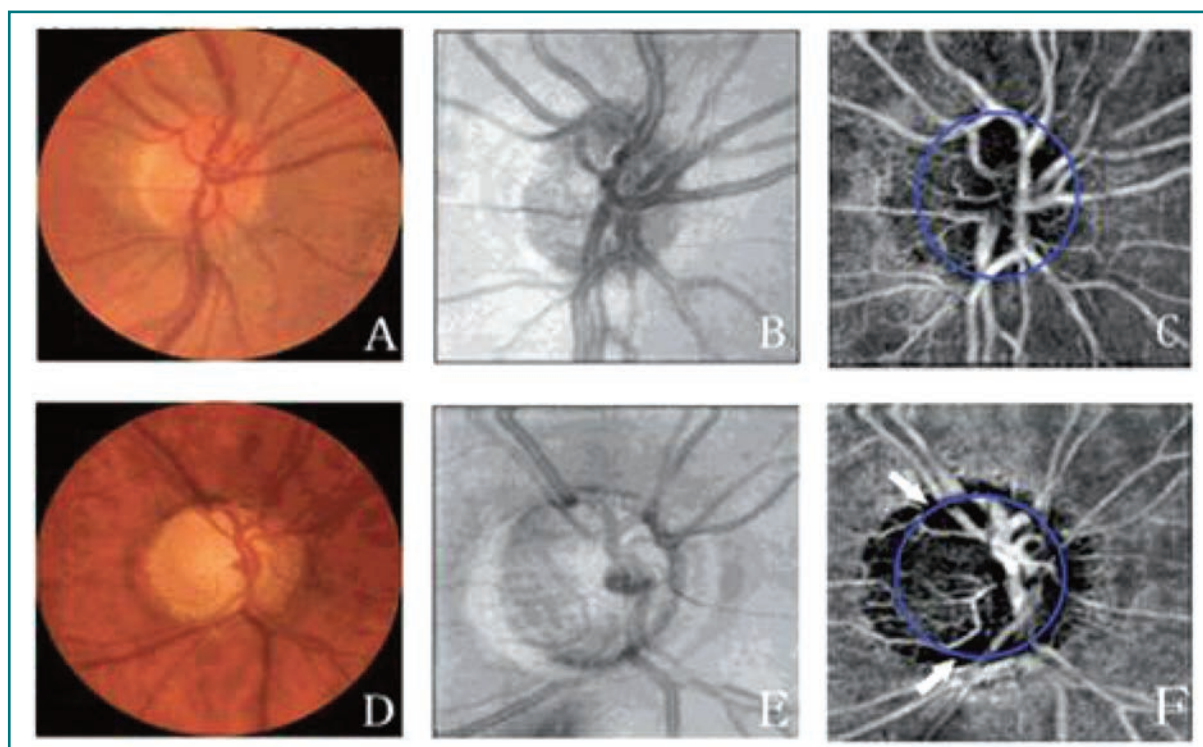


Fig. 9 - Fotografia del disco (A,D), immagini OCT en face (B,E) e angiogrammi(C,F) dell'ONH in soggetto normale(A→C) e con glaucoma(D→F). In (C) & (F). La linea circolare blu delimita l'area del disco ottico. La freccia in (F) indica il difetto di perfusione per assenza del network microvascolare. (da Liang Liu et al.; rif. Bibl. [49]).

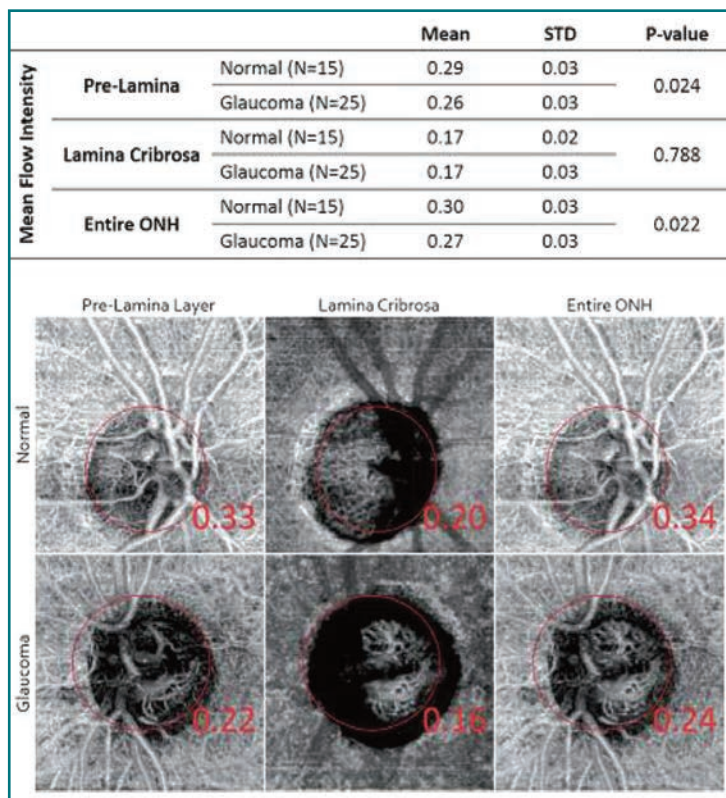


Fig. 10 - Intensità media del flusso in occhi normali e glaucomatosi. Dati di flusso medi (mean) in tabella e visualizzazione nella figura (angioPlex Zeiss e OMAG) (da Chieh-Li Chen et al. rif. Bibl. [46]).

- *Peri-Optic Disc Blood Flow*
- *Optic Disc Blood Flow*
- *Lamina Cribrosa*

La lamina cribrosa, infatti, secondo la sua profondità di posizione nel canale neurale, può essere più difficilmente indagata dagli SD-OCT rispetto agli SS-OCT. Dalla disamina di questi indici si potrà avere una diagnosi flussimetrica dello stadio del glaucoma che certamente, in un prossimo futuro, integrata a data base normativi validati su grandi numeri, agevolerà la diagnosi e migliorerà la prognosi della malattia IOP dipendente [48].

ULTIMATE GOAL & ANGIO-OCT

La visualizzazione e l'analisi delle proprietà morfologiche degli oggetti nell'ambito della computer vision sono obbiettivi strategici utili a migliorare la definizione delle forme analizzate, con notevoli performance

e comprensione finale dell'imaging. Come in molti campi della medicina, gli algoritmi applicativi degli angio-OCT si stanno velocemente sviluppando con grande successo iconografico.

La "scheletrizzazione" delle immagini informatiche tomografiche è un'importante tecnica d'approccio per la rappresentazione e comprensione di una forma strutturata, riducendo l'imaging ad un grafo.

Questa procedura algoritmica permette una semplificazione e trasformazione da una struttura complessa a forme più semplici e schematiche. È, in altri termini, un'elaborazione matematico-informatica di geometria applicata all'immagine processing (fig. 11) [49,50].

L'applicazione software *skeletonized vascular network mask*, proposta da Zeiss, è la realizzazione di questa tecnica, un'efficace elaborazione delle immagini per esaltare la visione dettagliata e schematica delle connessioni della rete vascolare capillare neuro-retinica.

L'innovazione algoritmica *Decorrelation Tail Removal* è un'applicazione particolarmente utile per aumentare il risultato qualitativo dell'imaging angio-OCT e diminuire gli artefatti di movimento. Rispetto ad altri algoritmi come Patented Motion Correction Technology (MCT) di Optovue utilizzati per lo stesso fine, sembra svolgere meglio il compito di migliorare la risoluzione finale dell'imaging.

L'imaging composita a mosaico di singoli campi neuro-retinici, con la possibilità di estendere oltre le arcate vascolari la visione complessiva angio-vascolare dyeless, è una nuova modalità Wide Field angio-OCT. L'ausilio di lenti opzionali (Stau-
renghi a 150°) utilizzate da qualche tempo in fluorangiografia ha definitivamente aperto la strada del Wide Field nell'imaging oftalmologico. Le implementazioni software utili al montaggio automatico di singole aree angio-tomografiche 3mm x 3mm e 6mm x 6mm, saranno presto a disposizione per una visione ad ampio campo anche nel-

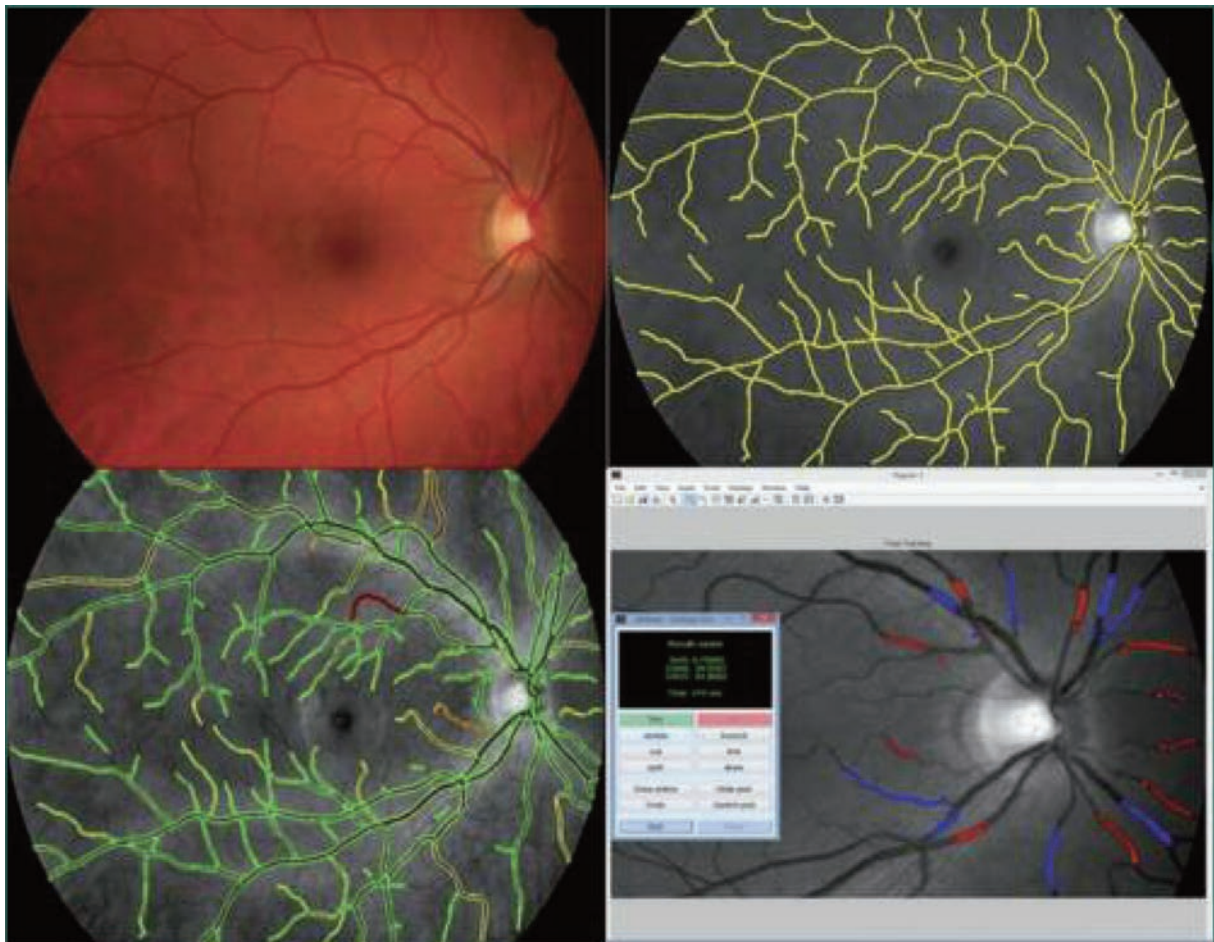


Fig. 11 - Esempio di sclerotizzazione dei vasi retinici. In alto a sinistra immagine fotografica originale. In alto a destra vasi sclerotizzati. In basso a sinistra metrica della tortuosità vasale Twist-based. In basso a destra metodo per classificazione i vasi (da J.C. Wigdahl et al.; ARVO 2015, University of Padova, Italy. rif. Bibl.[49]).

l'imaging vascolare dyeless. Le aree angiografiche sono andate via via aumentando fino a 12mm x 12mm e oltre con una sola acquisizione.

La definizione finale delle immagini resta funzione dei pixel totali; dal loro aumento dipende la migliore definizione complessiva con la metodica Wide Field anche con gli angio-OCT.

Akihito Uji et al. dell'Università di Kyoto, all'ARVO 2015, hanno proposto una nuova tecnica per estendere il campo dell'imaging OCT (EFI, Extended Field Imaging) applicata inizialmente su Spectralis OCT Heidelberg e DRI OCT-1 Topcon e, in seguito, su altri modelli (RS3000 Nidek, Cirrus HD-OCT Carl Zeiss Meditec, RTVue-100 Optovue, 3D OCT-2000 Topcon).

In media le Scan orizzontali e verticali con Spectralis OCT-EFI erano rispettivamente aumentate da $9416 \pm 410 \mu\text{m}$ e $9437 \pm 374 \mu\text{m}$ a $13,610 \pm 843 \mu\text{m}$ e $14,082 \pm 701 \mu\text{m}$ (per entrambe le Scan $P < 0.0001$), senza rilevanti distorsioni delle immagini [51].

Altro passo futuro, transitorio o definitivo, sarà l'utilizzo a tutto campo della tecnologia *Swept Source* e l'applicazione delle *Ottiche Adattive*. Sugli SS-OCT, riferito in altri capitoli.

La visione dettagliata che le Ottiche Adattive permettono, pur se per campi molto ristretti, offre la possibilità di vedere le singole entità cellulari e di studiarne la morfo-fisiologia anche in modo correlato.

Quest'opportunità straordinaria d'imaging aprirà, sicuramente, nuovi scenari e imprevedibili orizzonti scientifici, utilizzabili su larga scala, se i costi non saranno proibitivi.

CONCLUSIONI E CONSIDERAZIONI FINALI

Con la comparsa sul mercato di altri angio-OCT come Optovue Solix, AngioPlex Zeiss 6000, Triton e Maestro Topcon SS-OCT, RS 3000 Advance Nidek, Spectralis Heidelberg HRA-OCT con i vari moduli, il confronto e la discussione su questa nuova metodologia si è definitivamente e ulteriormente estesa, a tutto vantaggio delle conoscenze diagnostiche oftalmologiche in campo vascolare.

Grande e riconosciuto merito alla diffusione e conoscenza in Italia degli OCT prima e degli angio-OCT dopo è dovuto ai Corsi di Aggiornamento che da 40 anni Bruno Lumbroso organizza con assoluto alto profilo scientifico, grande rispondenza

di pubblico e ampia risonanza internazionale. A lui va anche l'indiscusso merito di aver pensato e realizzato la modalità tomografica en face, senza la quale non sarebbe stata possibile l'indagine vascolare dyeless angio-OCT.

Le informazioni offerte sulla velocità emoreologica e la densità vascolare sono estremamente importanti per la fisiologia neuro-retinica in molte malattie oculari non solo del polo posteriore. Tale è la bellezza angiografica e tomografica offerta dagli angio-OCT che *Philip J. Rosenfeld* del Bascom Palmer Eye Institute dell'Università di Miami, in un articolo apparso su *Ophthalmology Times* nel novembre 2015, così conclude: "*Consequently, it is a win-win situation for users*" riferendosi alla doppia possibilità d'indagine, strutturale e vascolare, che i recenti angio-OCT oggi ci offrono.

Gli sviluppi futuri saranno sicuramente molto promettenti e fruttuosi, con ancora importanti sorprese, non del tutto prevedibili. Le nuove possibilità diagnostiche vascolari non invasive, aperte ad una più grande platea d'utilizzatori, certamente saranno di vantaggio anche nella diagnosi precoce del glaucoma, con positive ricadute, oltre che sulla funzione visiva, anche sul risparmio previdenziale, così necessario per le finanze statali, ancor di più nel terzo Millennio per l'aumento della vita media della popolazione.

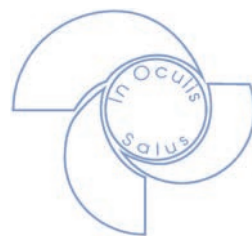
REFERENCES

- 1) 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.
- 2) Arend O, Plange N, Sponsel WE, Remky A. Pathogenetic aspects of the glaucomatous optic neuropathy: fluorescein angiographic findings in patients with primary open angle glaucoma. *Brain Res Bull* 2004; 62:517-24.
- 3) Schwartz B, Rieser JC, Fishbein SL. Fluorescein angiographic defects of the optic disc in glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1977; 95:1961-74.
- 4) Hitchings RA, Spaeth GL. Fluorescein angiography in chronic simple and low-tension glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1977; 61:126-32.
- 5) Piltz-Seymour JR, Grunwald JE, Hariprasad SM, Dupont J. Optic nerve blood flow is diminished in eyes of primary openangle glaucoma suspects. *Am J Ophthalmol* 2001; 132:63-9.

- 6) Hamard P, Hamard H, Dufaux J, Quesnot S. Optic nerve head blood flow using a laser Doppler velocimeter and haemorheology in primary open angle glaucoma and normal pressure glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1994; 78:449-53.
- 7) Hafez AS, Bizzarro RL, Lesk MR. Evaluation of optic nerve head and peripapillary retinal blood flow in glaucoma patients, ocular hypertensives, and normal subjects. *Am J Ophthalmol* 2003; 136:1022-31.
- 8) C. Prünte, J. Flammer, R. Markstein, and M. Rudin, "Quantification of optic nerve blood flow changes using magnetic resonance imaging" *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 36(1), 247-251 (1995).
- 9) Sommer A, Tielsch JM, Katz J, et al; Baltimore Eye Survey Research Group. Relationship between intraocular pressure and primary open angle glaucoma among white and black Americans. The Baltimore Eye Survey. *Arch Ophthalmol* 1991; 109:1090-5.
- 10) Flammer J. The vascular concept of glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1994;38(Suppl): S3-6.
- 11) Bonomi L, Marchini G, Marraffa M, et al. Vascular risk factors for primary open angle glaucoma: the Egna-Neumarkt Study. *Ophthalmology* 2000; 107:1287-93.
- 12) Schuman JS, Hee MR, Arya AV, Pedut-Kloizman T, Puliafito CA, Fujimoto JG, Swanson EA. Optical coherence tomography: a new tool for glaucoma diagnosis. *Curr Opin Ophthalmol*. 1995 Apr;6(2):89-95.
- 13) Sihota R1, Sony P, Gupta V, Dada T, Singh R. Diagnostic capability of optical coherence tomography in evaluating the degree of glaucomatous retinal nerve fiber damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006 May;47(5):2006-10.
- 14) Garway-Heath DF, Wollstein G, R A Hitchings RA. Aging changes of the optic nerve head in relation to open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1997 81: 840-845.
- 15) A. Lucente. Glaucoma tra struttura e funzione. *Oftalmologia domani* N.1 Anno 2014.
- 16) M. Cristina Leske. Ocular perfusion pressure and glaucoma: clinical trial and epidemiologic findings. *Curr Opin Ophthalmol*. 2009 March; 20(2): 73-78.
- 17) A. Lucente. Principi tecnologici e Imaging degli Angio-OCT. *Oftalmologia Domani*. N.2 Anno 2015.
- 18) Harris A, Anderson DR, Pillunat L, Joos K, Knighton RW, Kagemann L, Martin BJ. Laser Doppler flowmetry measurement of changes in human optic nerve head blood flow in response to blood gas perturbations. *J Glaucoma*. 1996 Aug;5(4):258-65.
- 19) Larry Kagemann, Alon Harris, Hak Sung Chung, David Evans, Scott Buck, Bruce Martin. Heidelberg retinal flowmetry: factors affecting blood flow measurement. *British Journal of Ophthalmology* 1998; 82:131-136.
- 20) Alon Harris, Thomas A. Ciulla, Hak Sung Chung, Bruce Martin. Regulation of Retinal and Optic Nerve Blood Flow. *JAMA Ophthalmology*. November 1, 1998, Vol 116, No. 11.
- 21) B. L. Petrig, C. E. Riva, and S. S. Hayreh. Laser Doppler flowmetry and optic nerve head blood flow. *Am. J. Ophthalmol.* 127(4), 413-425 (1999).
- 22) Hana Leiba, Rony Rachmiel, Alon Harris, Larry Kagemann, Ayala Pollack, Miriam Zilish. Optic nerve head blood flow measurements in non-arteritic anterior ischaemic optic neuropathy. *Eye* (2000) 14, 828-833; doi:10.1038/eye.2000.231.
- 23) M. Nagahara, Y. Tamaki, A. Tomidokoro, and M. Araie. In vivo measurement of blood velocity in human major retinal vessels using the laser speckle method. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 52, no. 1, pp. 87-92, 2011.
- 24) Wataru Kobayashi, Hiroshi Kunikata, Kazuko Omodaka, Kyousuke Togashi, Morin Ryu, Masahiro Akiba, Gaku Takeuchi, Tetsuya Yuasa, and Toru Nakazawa. Correlation of Optic Nerve Microcirculation with Papillomacular Bundle Structure in Treatment Naive Normal Tension Glaucoma. *Journal of Ophthalmology*. Volume 2014, Article ID 468908, 9 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/468908>
- 25) S. Resnikoff, D. Pascolini, D. Etya'ale et al.. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bulletin of the World Health Organization*, vol. 82, no. 11, pp. 844-851, 2004.
- 26) A. Iwase, Y. Suzuki, M. Araie et al. The prevalence of primary open-angle glaucoma in Japanese: the Tajimi Study. *Ophthalmology*, vol. 111, no. 9, pp. 1641-1648, 2004.
- 27) Tetsuya Sugiyama. Basic Technology and Clinical Applications of the Updated Model of Laser Speckle Flowgraphy to Ocular Diseases.

- Photonics 2014, 1, 220-234; doi:10.3390/photonics103022.
- 28) H. Isono, S. Kishi, Y. Kimura, N. Hagiwara, N. Konishi, and H. Fujii, Observation of choroidal circulation using index of erythrocytic velocity. *Arch. Ophthalmol. (Chicago)* 121, 225-231 2003.
 - 29) N. Konishi, Y. Tokimoto, K. Kohra, and H. Fujii. New laser speckle flowgraphy system using CCD camera. *Opt. Rev.* 9, 163-169 2002.
 - 30) A. Lucente. La Lamina Cribrosa: Imaging e biomeccanica. *Oftalmologia domani* N. 2 Anno 2014.
 - 31) Yali Jia, John C. Morrison, Jason Tokayer, Ou Tan, Lorinna Lombardi, Bernhard Baumann, Chen D. Lu, WooJhon Choi, James G. Fujimoto, David Huang. Quantitative OCT angiography of optic nerve head blood flow. 1 December 2012 / Vol. 3, No. 12 / BIOMEDICAL OPTICS EXPRESS 3128.
 - 32) Yali Jia, Eric Wei, Xiaogang Wang, Xinbo Zhang, John C. Morrison, Mansi Parikh, Lori H. Lombardi, Devin M. Gattey, Rebecca L. Armour, Beth Edmunds, Martin F. Kraus, James G. Fujimoto, David Huang. Optical Coherence Tomography Angiography of Optic Disc Perfusion in Glaucoma. *Ophthalmology* 2014; 121:1322-1332 by the American Academy of Ophthalmology.
 - 33) 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.
 - 34) R. K. Wang et al.. Depth-resolved imaging of capillary networks in retina and choroid using ultrahigh sensitive optical microangiography. *Opt. Lett.* 35(9), 1467-1469 (2010).
 - 35) A. Mariampillai et al.. Speckle variance detection of microvasculature using swept-source optical coherence tomography. *Opt. Lett.* 33(13),1530-1532 (2008).
 - 36) D. Yu Kim et al.. In vivo volumetric imaging of human retinal circulation with phase-variance optical coherence tomography. *Biomed. Opt. Express* 2(6), 1504-1513 (2011).
 - 37) Y. Jia et al. Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography. *Opt. Express* 20(4), 4710-4725 (2012).
 - 38) H. M. Subhash and M. J. Leahy. Microcirculation imaging based on full-range high-speed spectral domain correlation mapping optical coherence tomography. *J. Biomed. Opt.* 19(2), 021103 (2014).
 - 39) Anqi Zhang, Qinqin Zhang, Chieh-Li Chen, Ruikang K. Wang. Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: a review and comparison. *Journal of Biomedical Optics* 20(10), 100901 (October 2015).
 - 40) Huang JC, Konduru R, Zhang X, Tan O, Francis BA, Varma R, Sehi M, Greenfield DS, Sadda SR, Huang D. Relationship among visual field, blood flow, and neural structure measurements in glaucoma. *IOVS* 2012.
 - 41) Huang D, et.al. A new view for an old disease SSADA software, coupled with OCT angiography shows potential in diagnosing, monitoring glaucoma. *Ophthalmology Management*. Article Date: 11/1/2015.
 - 42) Abadia B, Ferreras A, Calvo P, et al. Relationship between spectral-domain optical coherence tomography and standard automated perimetry in healthy and glaucoma patients. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:514948.
 - 43) Brusini P. Clinical use of a new method for visual field damage classification in glaucoma. *Eur J Ophthalmol* 6:402-407,1996.
 - 44) Brusini P, Johnson CA. Staging functional damage in glaucoma: review of different classification methods. *Surv Ophthalmol* 52:156-179,2007.
 - 45) Liu L, Jia Y, Takusagawa HL, Pechauer AD, Edmunds B, Lombardi L, Davis E, Morrison JC, Huang D. Optical Coherence Tomography Angiography of the Peripapillary Retina in Glaucoma. *JAMA Ophthalmol.* 2015 Sep;133(9):1045-52.
 - 46) Chieh-Li Chen, Divakar Gupta, Joanne C. Wen, Raghu C. Mudumbai, Murray A. Johnstone, Philip P. Chen, Karine D.Bojikian, Qinqin Zhang, Yanping Huang, Ruikang K. Wang. Optic disc perfusion in glaucoma with optical microangiography (OMAG). *ARVO* 2015.
 - 47) Liang Liu; Yali Jia; John C Morrison; Mansi Parikh; Beth Edmunds; David Huang. Angiography of Optic Disc Perfusion in Glaucoma with a 70 kHz Spectral OCT. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* April 2014, Vol.55, 221. <http://cnpg.comparenetworks.com/167610-Angio-OCT-of-Optic-Disc-SSADA>. fantomake.altervista.org/tesi/Capitolo III.

- 50) Jeffrey C Wigdahl, Pedro Guimaraes, Enea Polletti, Alfredo Ruggeri. ReVMS (Retinal Vasculature Measurement System). Investigative Ophthalmology & Visual Science June 2015, Vol.56, 5260. doi:
- 51) Akihito Uji, Nagahisa Yoshimura. Ophthalmology, Kyoto Univ Graduate Sch of Med, Kyoto City, Japan. ARVO 2015 The Application of Extended Field Imaging to Optical Coherence Tomography.



CAPITOLO 16

EPR E AMD

INTRODUZIONE

L'epitelio pigmentato retinico (EPR/RPE) è costituito da un singolo strato di cellule a forma esagonale/poligonale, con aspetto nel suo insieme colonnare, interposto tra la membrana di Bruch (BrM) e i fotorecettori retinici [1]. Studiato dalla metà del 19° secolo, l'EPR è stato riconosciuto come tessuto distinto, con origine embrionale dalla doppia invaginazione delle vescicole ottiche diencefaliche, opposto, anche per polarità apice-apice (apical-to-apical), ai fotorecettori retinici [2].

Lo sviluppo embrionale, geneticamente determinato, è condizionato da diversi segnali biochimici.

Tra questi il *growth factor activin* che fa parte del fattore di crescita trasformante beta (TGF- β), una citochina secreta nello spazio intercellulare con spiccata capacità d'induzione filogenetica [3].

Una delle più frequenti e conosciute alterazioni retiniche da squilibrio tra fattori di crescita e d'inibizione è l'iperplasia dell'EPR. Quest'occasionale e comunemente sottovalutato reperto oftalmoscopico richiede di essere distinto dai nevi corioideali che hanno la possibilità di viraggio verso un melanoma.

È opportuno altresì considerare, d'altra parte, che una semplice iperplasia di queste cellule, anche se occasionalmente, può essere associata a poliposi adenomatosa familiare favorente il cancro del colon, la più frequente neoplasia dell'apparato gastroenterico [4].

L'integrità morfologica dell'EPR è di fondamentale importanza per la complessa attività elettrofisiologica della neuroretina, e per contrastare l'insorgere di diverse patologie corio-retiniche (**fig. 1**).

Il suo ruolo nelle maculopatie non è stato tuttavia ancora pienamente delineato, anche se da

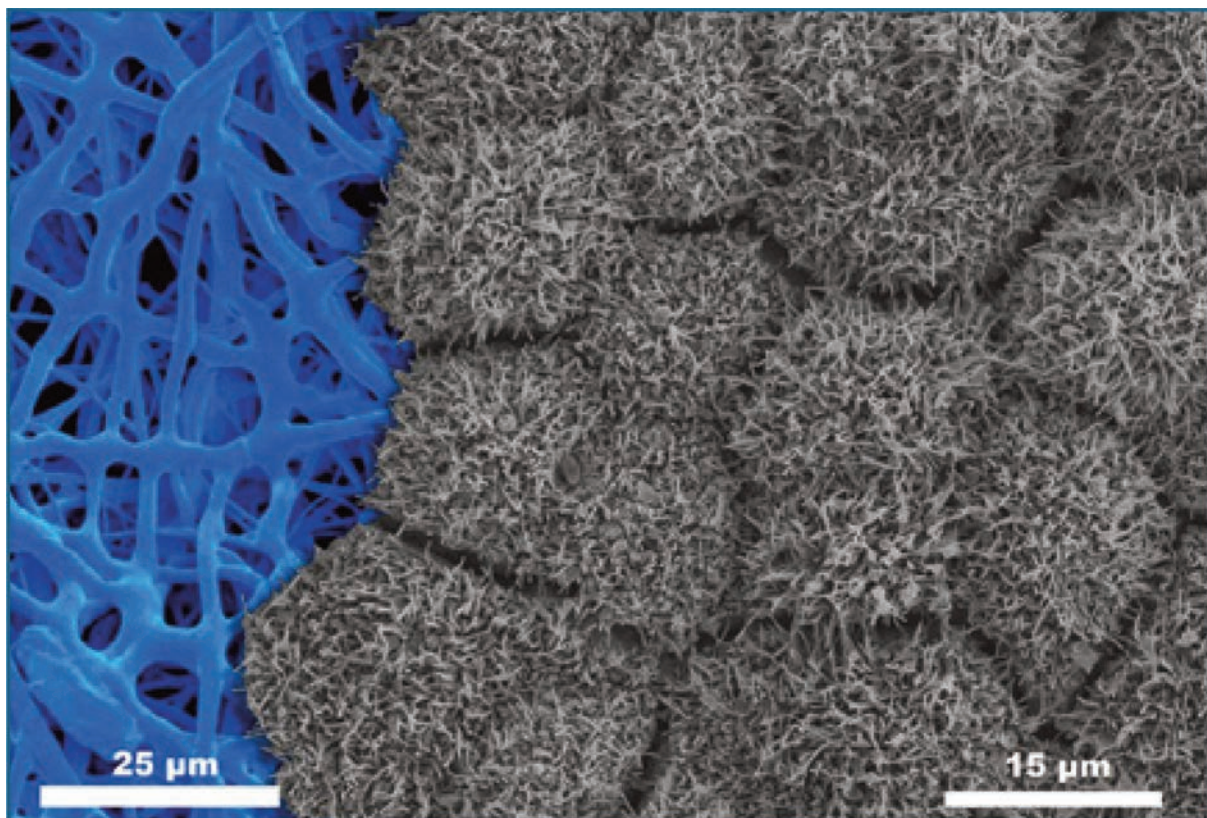


Fig. 1 - Fotografia con microscopio a scansione di alcune cellule dell'EPR coltivate su trama di nanofibre in blu (falsi colori); sono stati utilizzati due differenti ingrandimenti (barre in basso). Immagine preparata da Nathan Hotelling (da Kapil Bharti).

molto tempo è oggetto di studi e continue approfondite ricerche.

In questo capitolo si discuterà il ruolo dell'EPR nella patogenesi delle maculopatie, dando uno sguardo, inevitabilmente non esaustivo, alla più recente ed interessante letteratura.

EPR E MACULOPATIE

L'EPR umano è un tappeto monostratificato di circa 5 milioni di unità cellulari. Prevalentemente esagonali al polo posteriore, con un diametro medio di 16 micron, le cellule pigmentate aumentano di estensione in area equatoriale, fino a 60 micron in estrema periferia retinica. Il numero complessivo dei fotorecettori oltrepassa notevolmente quello delle cellule pigmentate (130 milioni contro 5 milioni), per cui più fotorecettori sono in contatto con una cellula dell'epitelio pigmentato oltre l'area strettamente maculare. Solo in quest'area privilegiata per la visione distinta, infatti, il rapporto tra le cellule dell'EPR e i fotorecettori è di uno a uno [2].

I coni e i bastoncelli sono connessi ai microvilli dell'EPR (5-7 μ m di lunghezza) con l'interposizione di una sottile matrice inter-fotorecettoriale di ori-

gine mesenchimale, densa rete di proteine e proteoglicani contenente enzimi, fattori di crescita, proteine di trasporto e altri componenti [5].

Lo spazio tra EPR e fotorecettori è quindi virtuale; diventa reale in alcune patologie, nel distacco di retina o nella sierosa centrale. Dal lato basale si trovano la BrM e l'endotelio fenestrato della coriocalpillare. Le singole cellule dell'EPR, molto polarizzate, separano così il tessuto nervoso retinico dal letto vascolare della coriocalpillare, con funzioni simili alla barriera ematoencefalica [6].

Le sue capacità funzionali sono molteplici, spesso con modalità bidirezionali.

Le singole cellule dell'EPR rendono, infatti, disponibili i fattori nutrienti provenienti dalla corioide ai fotorecettori, e scaricano nella coriocalpillare metaboliti, ioni e l'acqua in eccesso.

A dispetto dell'apparente semplicità cito-istologica queste cellule sovrintendono, inoltre, negli occhi dei vertebrati, all'assorbimento della luce eccessiva per ridurre lo stress ossidativo, alla secrezione di VEGF Vascular Endothelial Growth Factor, alla mediazione immunologica, al turnover/fagocitosi dei segmenti esterni dei fotorecettori, alla secrezione ed espressione di numerose proteine retiniche (fig. 2) [7].

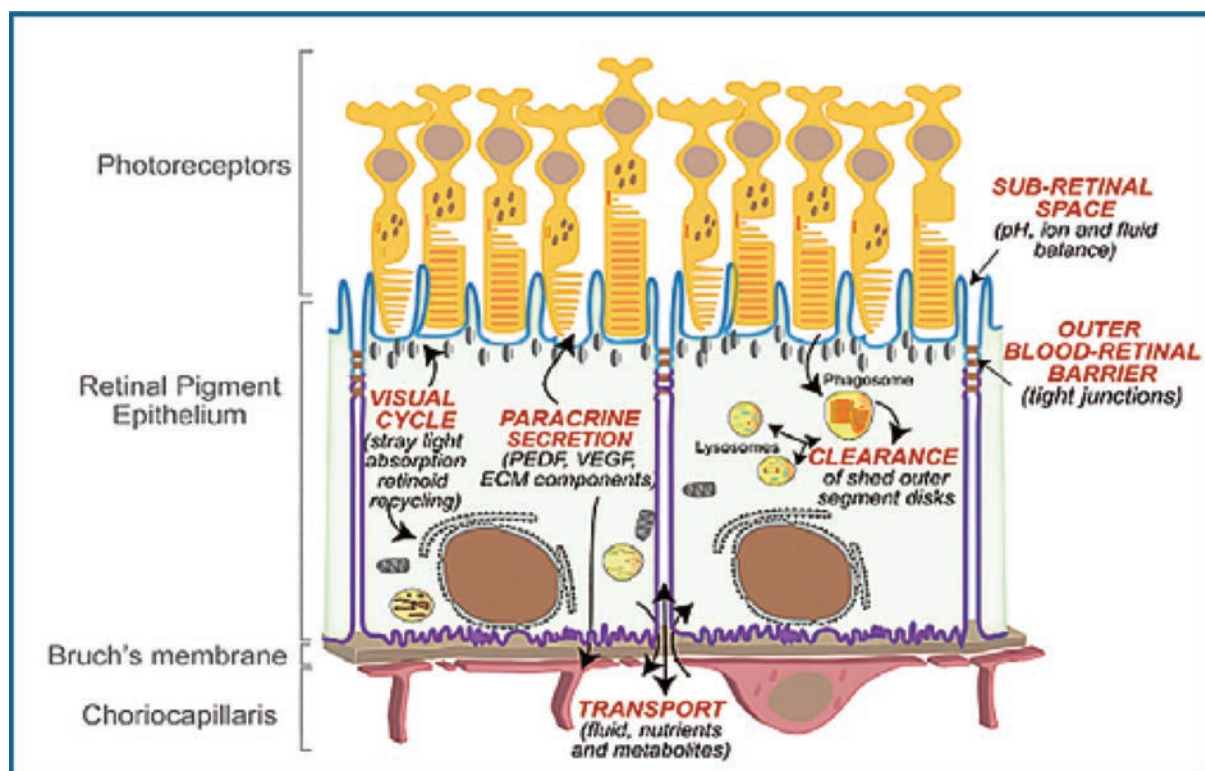


Fig. 2 - Rapporti anatomico-fisiologici tra EPR, fotorecettori e matrice interfotorecettoriale.

Una mancata funzionalità dell'EPR è stata da più ricerche assunta come fattore predisponente della degenerazione maculare legata all'età, principale causa di cecità legale nel mondo occidentale e terza causa nei paesi in via di sviluppo [8].

La degenerazione maculare retinica legata all'età AMD o ARMD (Age Macular Degeneration, Age Related Macular Degeneration) è un disordine della struttura della retina centrale con incidenza progressiva all'aumentare dell'età.

Si manifesta, com'è noto, in due forme: umida "*wet form*", e non essudativa o secca "*dry form*", con severe diminuzioni visive, fino alla cecità, specie nelle popolazioni a più elevato sviluppo industriale [9].

L'incidenza annuale negli Stati Uniti è stimata essere di 3,5 per 1000 abitanti sopra i 50 anni (~ 1.9/1000 per la forma secca, ~ 1.8/1000 per la forma umida) [10].

Secondo il National Institutes of Health NIH l'AMD ha una prevalenza del 5.4% tra i bianchi, 4.6% tra i cinesi, 4,2% tra gli ispanici e 2.4% tra la popolazione nera [11].

La previsione, rispettata, per il 2020 negli USA era di oltre 3 milioni di persone interessate da questa malattia [12].

Anche se sono coinvolte e/o alterate direttamente o indirettamente molte cellule retiniche, l'EPR è ritenuto lo strato cellulare inizialmente responsabile di entrambe le forme di maculopatie.

I fattori genetici certamente determinano e modulano le complesse alterazioni strutturali che portano all'AMD; tuttavia il meccanismo d'innescio e progressione dell'AMD, nonostante gli innumerevoli studi, rimane ancora poco conosciuto.

EPR E WET FORM AMD

Una potenziale Neovascolarizzazione Corioideale CNV (Choroidal neovascularization) caratterizza la forma umida delle maculopatie, la più pericolosa e distruttiva per la funzione visiva.

I primi neovasi iniziano a proliferare dalla coriocapillare, penetrano la BrM e possono espandersi attraverso diverse modalità nei distretti retinici.

La Wet Form, più frequente nell'anziano generalmente dopo i 70 anni, è quasi sempre a rapida evoluzione, con severe perdite visive, formazione di emorragie sottoretiniche e devastanti cicatrici disciformi.

Le più accreditate ipotesi per lo sviluppo delle CNV prevedono sostanzialmente due principali cause, non necessariamente disgiunte:

a) *Irregolarità della BrM*

b) *Maggiore espressione non bilanciata di VEGF*

Le alterazioni della BrM includono difetti nella continuità cellulare e/o della sua matrice basale.

Fenomeni infiammatori di diversa origine sono sempre presenti e influenzano, non poco, i meccanismi dell'angiogenesi [13].

L'espressione non bilanciata di VEGF, anche se ritenuta la più importante causa per lo sviluppo di CNV, non sembra sufficiente a determinare e sostenere da sola uno sviluppo efficace di neovasi retinici [14].

- *Shirinifard A et al.* hanno preso recentemente in considerazione i principali meccanismi della proliferazione neovascolare retinica.

L'adesione tra i singoli elementi cellulari è da molti studi considerata fondamentale per l'inizio e il progressivo sviluppo della CNV [15].

Partendo da questa condivisa convinzione gli autori hanno utilizzato una multi-cell computer simulation e un modello meccanico computazionale che coinvolge la coriocapillare, la BrM e i fotorecettori, in conformità agli studi sperimentali di *Glazier JA et al.* (Glazier-Graner-Hogeweg model, GGH, Cellular Potts Model, CPM) (fig. 3) [16].

Gli autori hanno previsto vari scenari sperimentali per la gemmazione e successiva proliferazione neovascolare, prendendo in considerazione il variare dell'adesività BrM – RPE - POS complex (Photoreceptors Outer Segments) senza altre concause, e dopo invecchiamento e/o l'instaurarsi di fenomeni infiammatori, sia in retine umane che con modelli animali [15].

Per le simulazioni tridimensionali gli autori hanno utilizzato il metodo CompuCell3D simulation secondo gli studi di *Swat et al.* [17,18].

Infine, per lo sviluppo di una CNV, hanno tracciato gli scenari possibili sperimentali in accordo alle osservazioni cliniche e alle ricerche di laboratorio descritte in letteratura.

Hanno previsto lo sviluppo di una CNV:

- a) *Nello spazio tra BrM e EPR, (Sub-RPE, Occult, Type 1 CNV);*
- b) *Nello spazio tra EPR e fotorecettori, (Sub-Retinal, Classic, Type 2 CNV);*
- c) *Simultaneamente in entrambi gli spazi, (Combined, Type 3 CNV).*

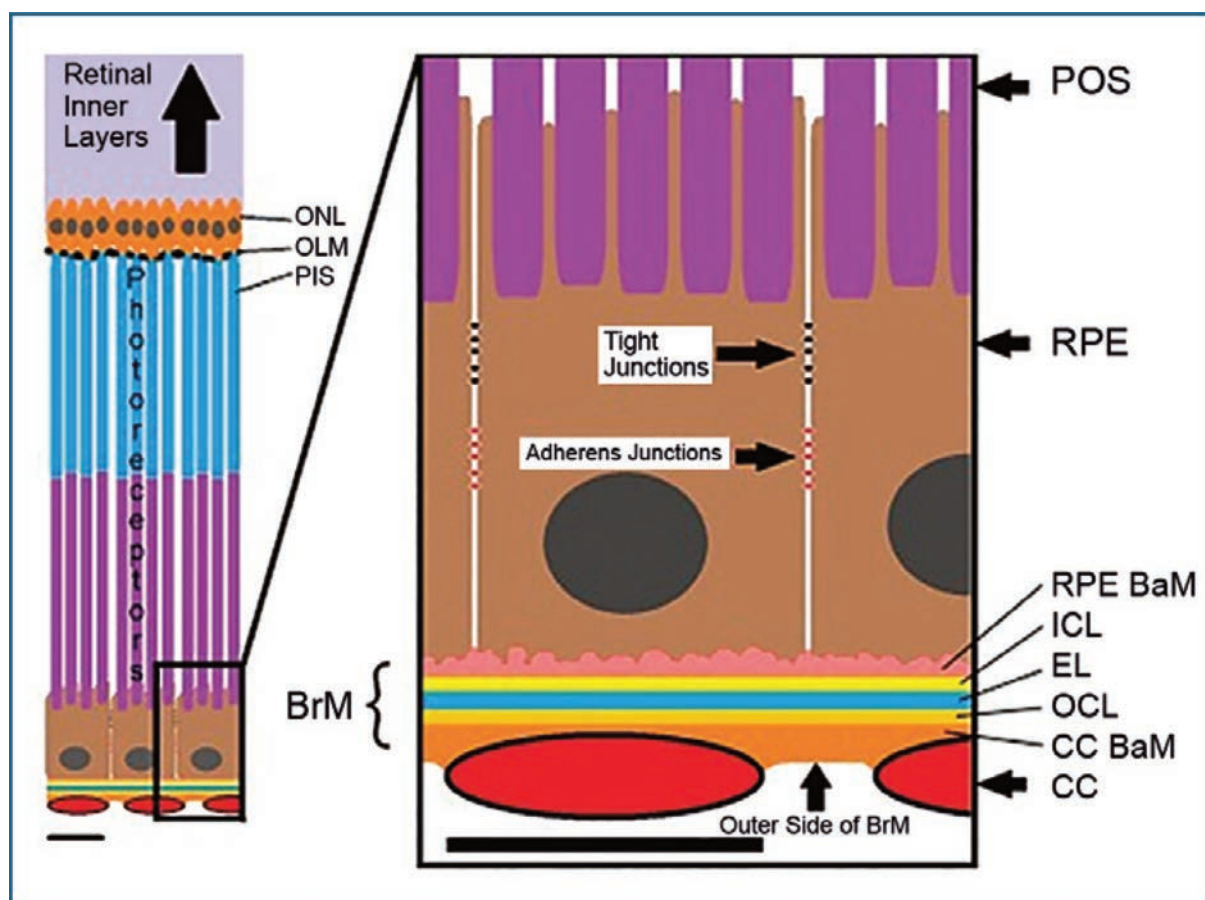


Fig. 3 - Complesso corio-capillare CC - Membrana di Bruch BrM - EPR. A sinistra retina esterna, EPR e CC. A destra dettaglio CC - BrM - EPR - POS complex. (CC: CorioCapillare, BrM: Membrana di Bruch, RPE: Epitelio Pigmentato Retinico, CCBaM: Membrana Basale CC, OCL: Strato Collagene Esterno, EL: Strato Elastico, ICL: Strato Collagene Interno, RPEBaM: Membrana Basale EPR, POS: Segmenti Esterni Fotorecettori, PIS: Segmenti Interni Fotorecettori, ONL: Strato Nucleare Esterno). (Abbas Shirinifard et al., Biblio 15).

La CNV Type 3 può manifestarsi e svilupparsi, a sua volta, da una CNV Type 1 o Type 2 [19].

Secondo il Macular Photocoagulation Study Group il 40% circa di CNV Type 1 porta ad una significativa perdita visiva entro 12 mesi; inoltre, la CNV Type 1 ha una conversione nel Type 3 nel 23% entro 3 mesi, mentre un ulteriore 23% vira entro 12 mesi [19].

Sempre secondo il Macular Photocoagulation Study Group la prognosi delle CNV, nonostante le diverse terapie, resta non favorevole. Solo il 20% dei pazienti con CNV Type 1 ha, infatti, un quadro stabile e/o migliorato a 36 mesi dalla comparsa della patologia [19].

I diversi fattori di crescita growth-factor e le alterazioni della BrM coinvolti nello sviluppo delle CNV hanno suggerito agli autori differenti patterns di crescita, suggestivi modelli in 3D multi-cell model, e possibili sequenze fisio-patologiche.

Gli scenari sperimentali descritti in questo studio sono:

- Alterazioni dell'adesione tra EPR ed EPR (RPE-RPE epithelial junctional adhesion);*
- Alterazioni dell'adesione tra il complesso basale della BrM ed EPR (RPE-BrM adhesion);*
- Alterazioni dell'adesione tra EPR e POS, (RPE-POS adhesion).*

Gli autori hanno ipotizzato quattro possibili evoluzioni fisiopatologiche allorché un gettone neovascolare si forma e inizia a svilupparsi:

- Resistenza di tutte le adesioni cellulari, tra EPR-EPR, EPR-BrM, EPR-POS senza sviluppo di CNV;*
- Non aderenza tra EPR-BrM (per accumulo di sostanze lipido-simili): sviluppo di Early Sub-RPE, Occult o Type 1 CNV ;*
- Non aderenza EPR-POS e/o EPR-EPR (per processi infiammatori) con adesione ancora pre-*

sente tra BrM e la sua membrana basale: sviluppo di *Early Sub-Retinal, Classic o Type 2 CNV*;

- 4) *Non aderenza simultanea tra EPR-EPR e EPR-BrM: sviluppo di Combined Pattern o Type 3 CNV.*

Questi modelli sperimentali di simulazione al computer hanno inoltre indicato che la sola presenza di piccole interruzioni della BrM non sono sufficienti a stimolare e sostenere un valido sviluppo di una CNV (fig. 4).

Le mutazioni biochimiche delle componenti della matrice intercellulare tra i fotorecettori e EPR sembrano, per quanto riferito, fortemente coinvolte nello sviluppo e progressione delle varie forme di CNV [15].

EPR E DRY FORM AMD

Ci sono numerosi studi che attestano la capacità mitotica delle cellule dell'EPR [20,21].

Molte e più evidenti ricerche scientifiche escludono, al contrario, la capacità replicativa di queste cellule: anche se presente, sarebbe limitata, sporadica, non sufficiente a contrastare efficacemente l'insorgere e/o l'evoluzione delle varie forme di AMD [22].

Una valida ipotesi per la progressione della dry form AMD prevede la morte delle singole cellule dell'EPR, con conseguente stress e alterazione dei fotorecettori corrispondenti. Un'altra ipotesi prevede che la degenerazione e la conseguente apoptosi delle cellule dell'EPR porterebbero ad un insufficiente numero di cellule pigmentate, in-

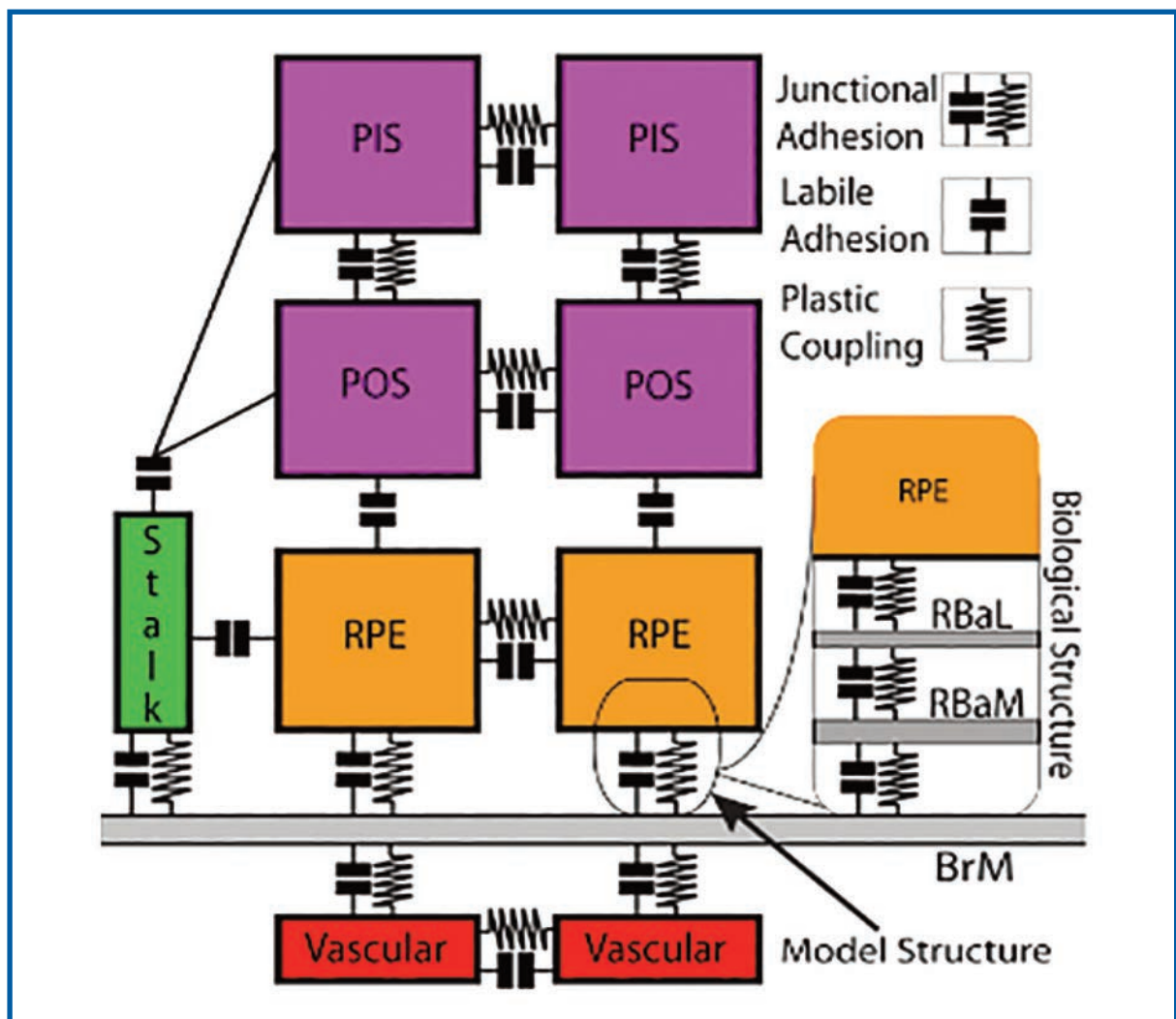


Fig. 4 - Modello di simulazione ed interazione tra i componenti cellulari e non cellulari nel processo neovascolare corio-retinico. (Abbas Shirinifard et al., Biblio 15).

congrua loro redistribuzione, conseguenti rotture nella continuità anatomico-fisiologica del tappeto cellulare pigmentato, e possibile innesco di AMD [22]. A fronte di queste incertezze patogenetiche, la Dry Form AMD è la forma più frequente di maculopatia (85%-90%).

- *Bonilha, V.L. et al.* ipotizzano che questi eventi cito-istologici sopra descritti possano avvenire in area maculare prima che in periferia, determinando i differenti fenotipi di AMD. L'età, pur essendo ritenuta un fattore di rischio per le AMD, non trova sufficienti supporti sperimentali secondo gli studi di questi autori.

Non ci sono, infatti, evidenze scientifiche che convalidino, con l'aumento dell'età, la diminuzione del numero, il cambiamento delle dimensioni ed eventuali redistribuzioni delle cellule dell'EPR [23].

È chiaro che l'assetto genico determina le manifestazioni fenotipiche. Il fenotipo non è, com'è noto, una semplice manifestazione del genotipo, e questa regola vale anche per le AMD. Le caratteristiche fenotipiche sono il risultato di un combinato tra genotipo e altre forze macro e/o micro ambientali, con variabili poco conosciute e quantificabili, conoscenze già esposte da Wilhelm Johannsen nel 1911 [24].

- *Ach T. et al.*, in tempi più recenti, a conferma di quanto detto, utilizzando l'autofluorescenza lipofuscinica-dipendente, non hanno rilevato perdite di cellule dell'EPR con l'età [25].

L'accumulo di glutazione nelle cellule dell'EPR sembra essere un chiaro segnale di stress per la retina; questo dato si trova associato agli iniziali danni nelle AMD. In entrambe le forme di AMD le cellule del Muller, al pari dell'EPR, sono interessate dall'accumulo di glutammina e glutazione. Tali molecole possono raggiungere anche valori doppi rispetto alle normali concentrazioni intracellulari, sin dalle fasi iniziali della patologia [26]. Il glutazione svolge un ruolo importante nel prevenire l'ossidazione dei lipidi e nella purificazione dai radicali aldeidici, processi essenziali per l'integrità delle cellule retiniche, in primo luogo EPR e fotorecettori. I primi segni di danno cellulare si manifestano nell'AMD con l'ipertrofia cellulare dei corpi dei fotorecettori, delle cellule del Muller e delle cellule pigmentate, spesso associati all'aumento di glutazione.

A dispetto del ruolo che i processi ossidativi svolgono nella patogenesi dell'AMD, e dell'impor-

tanza del glutazione nell'omeostasi cellulare, modeste restano tuttavia le conoscenze circa i meccanismi che portano alle due varianti fenotipiche dell'AMD [27].

La progressione della Dry AMD s'innesca con alterazioni iniziali istologiche, procede per alterazioni intermedie, e arriva a forme decisamente più avanzate (early, intermediate, advanced).

- *Frederick L. Ferris III et al.* riportano i risultati per una nuova classificazione dell'AMD che 26 oftalmologi di diverse nazionalità, esperti in maculopatie, in collaborazione con altre figure scientifiche, hanno concorso a descrivere nel 2013, utilizzando il metodo Delphi modificato. Condividendo criteri comuni hanno indicato AMD come unico termine da utilizzare, al posto di ARM o ARMD [28].

In questo lavoro di riclassificazione i soggetti privi di drusen e alterazioni pigmentarie sono stati considerati senza alcuna forma di AMD.

Le drusen sono depositi extracellulari che si accumulano inizialmente tra l'EPR e lo strato interno collagene della BrM. La presenza di piccole drusen ($\leq 63 \mu\text{m}$, drupelets) è stata considerata normale secondo l'età, non clinicamente rilevante per il rischio e sviluppo di AMD nel tempo.

Soggetti con drusen di media grandezza ($\geq 63 \mu\text{m}$ e $\leq 125 \mu\text{m}$) e senza alterazioni pigmentarie, sono stati considerati con *Early AMD*. Soggetti con drusen grandi ($\geq 125 \mu\text{m}$) o con alterazioni pigmentarie associate a drusen medie sono stati considerati con *Intermediate AMD*.

Soggetti con più alterazioni associate, Wet o Dry AMD, sono stati considerati con *Late AMD*. Il rischio stimato di progressione a 5 anni delle forme Late AMD è 100 volte maggiore, con range di rischio di 0.5% per le forme retiniche normali per età, fino al 50% per le forme intermedie di AMD [28].

AMD E IMAGING IN PROGRESS

Numerosi studi hanno cercato di valutare e identificare i fattori di rischio associati ad AMD.

Oltre l'età e il fumo di sigaretta che sembrano avere un qualche ruolo secondo alcune ricerche, gli altri fattori di rischio come l'ipertensione arteriosa, il consumo di alcool, l'esposizione alla luce solare e le malattie cardiovascolari hanno fatto rilevare legami di causalità inconsistenti con l'AMD [29].

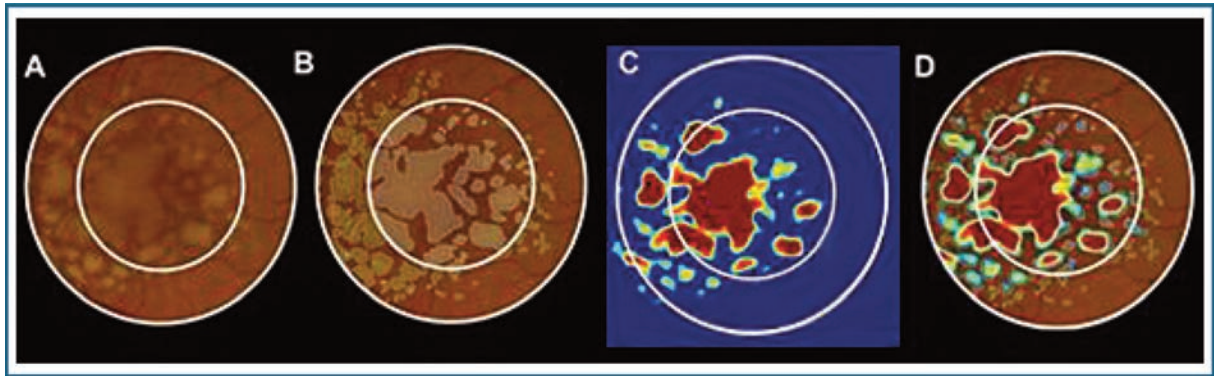


Fig. 5 - Esempio di un buon agreement tra le drusen aree misurate manualmente su retinografia a colori e con algoritmo implementato su HD-OCT Cirrus Zeiss. (A) Fundus Color con aree circolari a 3 e 5 mm. (B) Drusen delineate manualmente (drusen area 3.46 mm² a 3 mm, 5.65 mm² a 5 mm). (C) Drusen map con algoritmo automatizzato (drusen area 3.47 mm² a 3 mm, 5.14 mm² a 5 mm). (D) Sovrapposizione delle drusen map automatica e manuale. La misurazione eseguita con l'algoritmo non identifica la maggior parte delle aree ipopigmentate evidenti al Fundus Color classificate dai selezionatori come drusen. (Zohar Yehoshua, Giovanni Gregori et al.).

Le drusen grandi, in particolare se associate ad alterazioni dell'EPR, invece, sono state riconosciute come fattore di rischio per la progressione dell'AMD [30].

L'atrofia geografica si evidenzia nello stadio finale della Dry AMD, seconda causa più comune di deficit visivi severi dopo la forma Wet AMD [31].

Com'è noto da tempo è caratterizzata dal graduale allargamento delle chiazze atrofiche (patches) a discapito delle cellule dell'EPR, coinvolgendo cellule neurosensoriali e coriocapillare, rispettivamente sopra e sotto l'EPR [32].

Il coinvolgimento bilaterale e simmetrico dell'area maculare da parte di drusen, associate a forme avanzate di AMD, è stato largamente documentato nei diversi fenotipi delle maculopatie [33, 34], e confermato anche in studi istopatologici post-mortem [35].

La fotografia a colori è stata per anni l'unica modalità d'imaging utilizzata con successo negli studi clinici ed epidemiologici per seguire l'AMD nel tempo [36]. L'imaging fotografico è ancora un valido ed insostituibile supporto nei Report delle AMD, come vedremo in seguito. L'estrema variabilità degli aspetti riscontrabili nei fenotipi delle AMD fa emergere, tuttavia, i limiti dell'esame fotografico nel quantificare l'estensione delle aree di atrofia, e nella rappresentazione della morfologia e numero delle drusen [37].

I moderni SD-OCT offrono in vivo una nuova opportunità di diagnosi e studio nel descrivere, classificare le drusen, e determinare l'estensione dei patches nella Dry AMD [38].

Algoritmi con capacità di segmentazione nel tessuto retinico sono già disponibili, con strategie

manuali ed automatizzate (Carl Zeiss Meditec Inc, Dublin, CA, USA) [39].

Sono stati eseguiti dal 2010 studi e ricerche che attestano la validità dell'analisi algoritmica con SD-OCT, con riscontro per la riproducibilità dei dati elaborati [40-42].

- B Diniz et al. (Doheny Eye Institute, Los Angeles, CA, USA) in collaborazione con alcuni studiosi di altre università, nel 2015 hanno esaminato 434 occhi di soggetti di età superiore a 50 anni con HD-OCT Cirrus Zeiss, utilizzando l'algoritmo RPE analysis (6.0.), implementato nel device per questo studio e, successivamente commercializzato dopo validazione da parte della FDA, Food and Drug Administration [43]. Sono stati presi in considerazione sesso, età, abitudine al fumo di sigaretta e pressione arteriosa sistemica.

Per l'indagine sulle drusen e sulle aree di atrofia dell'EPR l'algoritmo utilizza due aree concentriche, la più centrale di 3 mm (Central Circle, CC) e una seconda zona di 3-5 mm esterna alla prima (Perifoveal Ring, PR) (fig. 5).

L'area retinica è stata indagata con scansioni 6 mm x 6 mm centrate in fovea dopo dilatazione, con protocollo scansione/volume 200 x 200 mm³; sono state prese in considerazione solo scansioni di buona qualità (signal strength > 7). Le aree di atrofia dell'EPR sono state trovate più estese tra le donne (0.63 ± 0.16 vs 0.26 ± 0.08 mm², $P = 0.05$) con incremento all'aumentare dell'età. Le drusen in zona perifoveale aumentano di estensione con l'età ($P < 0.001$); nella zona centrale rimangono stabili dopo i 70 anni (0.25 ± 0.06 mm² tra 70-79 anni contro 0.25 ± 0.07 mm² dopo 80 anni).

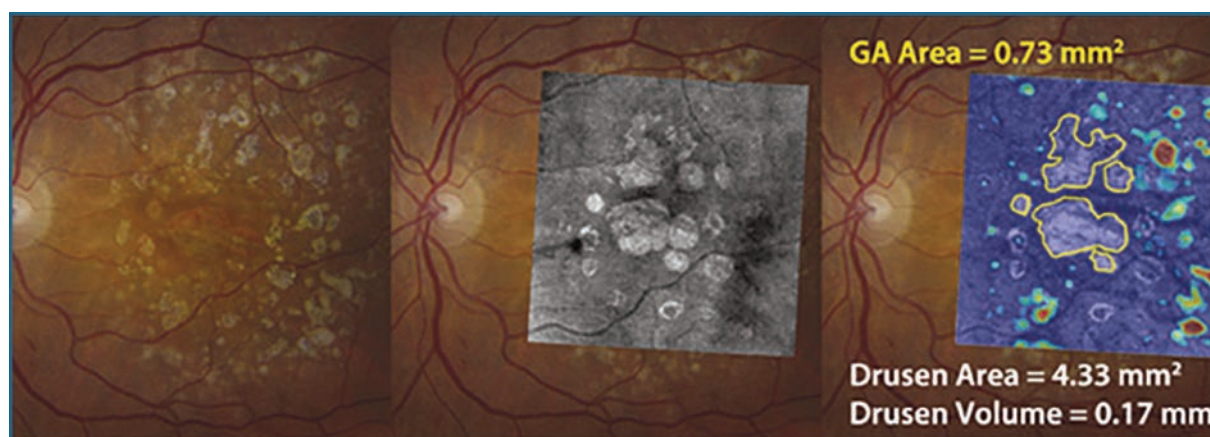


Fig. 6 - Fotografia a colori della retina; la sovrapposizione Cirrus OCT fundus evidenzia l'atrofia geografica GA; l'immagine ibrida mostra l'estensione delle GA, del volume ed estensione delle drusen. L'ultima immagine è stata eseguita utilizzando l'algoritmo di Giovanni Gregori del Bascom Plamer Eye Institute. (Brandon J. Lujan).

Molto sorprendentemente il volume delle drusen nella zona centrale (CC = 3 mm) era più ridotto dopo gli 80 anni ($0.009 \pm 0.003 \text{ mm}^3$) rispetto ai soggetti tra 70-79 anni ($0.02 \pm 0.008 \text{ mm}^3$) [43].

Mentre la grandezza delle drusen era simile tra il gruppo dei fumatori e non fumatori, l'area (0.29 mm^2 , $P = 0.05$) e il loro volume (0.40 mm^3 , $P = 0.005$) in zona perifoveale erano correlate al tempo d'utilizzo del fumo di sigarette.

L'estensione dell'area di atrofia (0.24 mm^2 , $P = 0.10$), delle drusen in area perifoveale (0.29 mm^2 , $P = 0.05$ e il loro volume (0.40 mm^3 , $P = 0.005$) in zona perifoveale erano correlate al tempo d'utilizzo del fumo di sigarette. L'estensione dell'area di atrofia (0.24 mm^2 , $P=0.10$), delle drusen in area perifoveale (0.29 mm^2 , $P=0.05$ e il loro volume (0.40 mm^3 , $P=0.005$) erano direttamente associati alla pressione arteriosa sistemica, con coinvolgimento di entrambi gli occhi dei soggetti esaminati [43].

- *Zohar Yehoshua et al.* in un loro recente lavoro affermano, a conferma di quanto detto, che la fotografia resta fondamentale nell'indagine delle drusen poiché capace, mediamente, di evidenziare aree retiniche coinvolte più estese rispetto all'analisi con SD-OCT. L'algoritmo finora utilizzato con SD-OCT riconosce, infatti, come drusen solo le deformazioni dell'EPR sopra una certa soglia, escludendo spesso drupelets, le drusen piane e i depositi drusenoidi sottoretinici (fig. 6).

L'autore termina che le due tecniche possono essere comunque complementari, aggiungendo informazioni molto utili alla diagnosi e prognosi delle AMD [44].

ULTIMATE GOAL E CONSIDERAZIONI FINALI

- *Alfredo Dubra* (Medical College of Wisconsin, Milwaukee, Wisconsin, United States) da alcuni anni si è dedicato all'imaging in vivo dell'EPR con numerose pubblicazioni su animali e sull'uomo, insieme con alcuni collaboratori di altre università [45].

In un recente lavoro del 2016, utilizzando uno scanning laser a banda larga, ottiche adattive Adaptive Optics AO e angiografia all'indocianina AO-ICG in campo scuro (dark-field), l'autore ha investigato alcune retine di soggetti sani riuscendo ad evidenziare il mosaico dell'EPR. Sono state individuate 2209 cellule epiteliali in tre regioni d'interesse (regions of interest, ROI) scelte vicino all'area foveale, con una densità media di 5811 cellule/ mm^2 , paragonabile ad altri report che riportano valori simili su retine umane, con picchi di densità in fovea ± 7500 cellule/ mm^2 e ± 5000 cellule/ mm^2 ad 1° di eccentricità [46].

L'autore ha utilizzato i diagrammi di Voronoi (Georgij Voronoi, 1868-1908), un tipo di decomposizione matematica degli spazi rispetto a determinati punti presi in considerazione, che permettono un effetto facilmente comprensibile ed iconograficamente efficace del mosaico epiteliale esaminato, molto simile all'imaging endoteliale corneale (fig. 7).

Le cellule dell'EPR, come riferito, sono considerate elementi cellulari terminali differenziati post-mitotici. Nell'invecchiamento il loro numero diminuisce, il volume citoplasmatico aumenta e diventano spesso multinucleate, condizione bio-

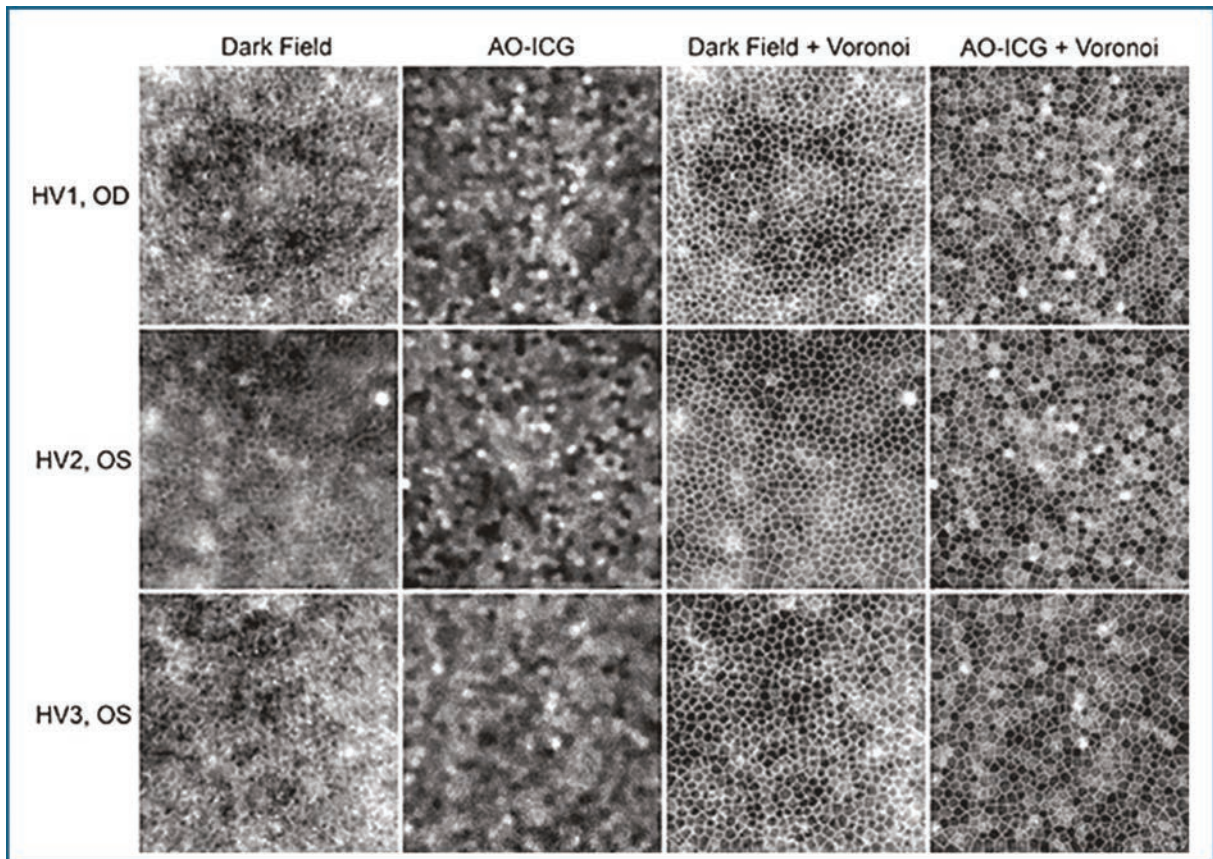


Fig. 7 - Tre imaging di retine umane, HV1, HV2, HV3, con Ottiche Adattive AO in area foveale. (Da sinistra a destra). Riflettenza dei fotorecettori con AO confocale; immagine dell'EPR con AO e Dark Field; immagine con filtro infrarosso e fluorescenza AO-ICG. Tutte le ROI (region of interest) sono state selezionate a 1° dal centro foveale, area con più alta densità di coni. (Scale bar: 50 μ m) (Johnny Tam et al.).

logica che possiamo definire di “*pre-apoptosi non a tempo*”. Normalmente il tappeto dell'EPR si mantiene inalterato per lunghi anni. Questo dato suggerisce l'esistenza di probabili di meccanismi riparatori e/o compensatori tuttora non chiariti, che già dalla metà degli anni Settanta erano stati ipotizzati da Ts'o MO e Friedman [47,48]. È stato descritto e riferito che i cambiamenti dell'EPR avvengono con l'aumento dell'età, aumentano con l'instaurarsi delle forme di AMD, e che le correlazioni tra le singole cellule dell'EPR e le terminazioni dei fotorecettori garantiscono il loro fisiologico turnover. Un'alterazione di questi delicati rapporti è stata descritta tra le cause dell'AMD [49].

Recentissime ricerche valorizzano il ruolo dell'EPR come porta immunologica (gateway) della corio retina, con modalità simile all'epitelio dei plessi coroidei dell'encefalo, specie nei confronti di leucociti e monociti [50].

Il fermento scientifico intorno all'EPR, come ho cercato di evidenziare, non si è mai arrestato.

Le nuove possibilità d'imaging con AO-OCT potranno sicuramente dare risposte molto efficaci nella prevenzione delle AMD.

Il ruolo dell'EPR per molti versi misterioso e indecifrabile sarà, ancora una volta, fondamentale per ogni possibile quanto auspicabile valido progresso. Le nuove tecnologie Hi-Tech costituiranno sicuramente il mezzo necessario più efficace per ogni prossima e futura conoscenza nella patogenesi e terapia dell'AMD, dopo i doverosi quanto obbligatori riscontri biochimici-istopatologici.

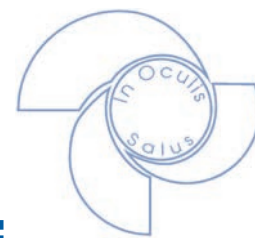
REFERENCES

- 1) El-Beltagy AEFBM. Light and electron microscopic studies on the pigmented epithelium and photoreceptors of the retina of common buzzard (*Buteo buteo*). Tissue Cell 2015; 47: 78–85.
- 2) Lucente A. EPR e l'Imaging retinico. Oftalmologia domani N. 3 Anno 2011

- 3) Jennifer J Hill, Tammy-Lynn Tremblay, Christiane Cantin, Maureen O'Connor-McCourt, John F Kelly and Anne EG Lenferink. Glycoproteomic analysis of two mouse mammary cell lines during transforming growth factor (TGF)- β induced epithelial to mesenchymal transition. *Proteome Science* 2009, 7:2.
- 4) Shields JA, Shields CL, Eagle RC Jr, Singh AD: Adenocarcinoma arising from congenital hypertrophy of retinal pigment epithelium. *Arch Ophthalmol* 119:597–602, 2001.
- 5) Rohlich P. The interphotoreceptor matrix: electron microscopic and histochemical observations on the vertebrate retina. *Exp Eye Res.* 1970; 10: 80–6.
- 6) Ballabh P, Braun A, Nedergaard M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis.* 2004; 16: 1–13.
- 7) Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev.* 2005; 85: 845–81.
- 8) Ferris FL III. Senile macular degeneration: review of epidemiologic features. *Am J Epidemiol.* 1983; 118: 132–51.
- 9) Binder S, Krebs I, Ralf-Dieter H, et al. Outcome of transplantation of autologous retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration: a prospective trial. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(11): 4151–4160.
- 10) Rudnicka AR, Kapetanakis VV, Jarrar Z, et al. Incidence of late-stage age-related macular degeneration in American whites: systematic review and meta-analysis. *Am J Ophthalmol.* 2015; 160:85–93, e83.
- 11) Klein R, Klein BE, Knudtson MD, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in 4 racial/ethnic groups in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Ophthalmology.* 2006; 113:373–380.
- 12) Eye Diseases Prevalence Research Group. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch Ophthalmol* 2004; 122:564–72.
- 13) Bhutto IA, McLeod DS, Hasegawa T, Kim SY, Merges C, et al. (2006) Pigment epithelium-derived factor (PEDF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in aged human choroid and eyes with age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 82: 99–110.
- 14) Oshima Y, Oshima S, Nambu H, Kachi S, Hackett SF, et al. (2004) Increased expression of VEGF in retinal pigmented epithelial cells is not sufficient to cause choroidal neovascularization. *J Cell Physiol* 201: 393–400.
- 15) Shirinifard A, Glazier JA, Swat M, Gens JS, Family F, Jiang Y, Grossniklaus HE *PLoS Comput. Biol.* (2012). Adhesion Failures Determine the Pattern of Choroidal Neovascularization in the Eye: A Computer Simulation Study.
- 16) Glazier JA, Graner F (1993) Simulation of the differential adhesion driven rearrangement of biological cells. *Physical Review E* 47: 2128–2154.
- 17) (<http://www.compuCell3d.org/>).
- 18) Swat MH, Hester SD, Balter AI, Heiland RW, Zaitlen BL, et al. (2009) Multicell simulations of development and disease using the CompuCell3D simulation environment. *Methods Mol Biol* 500: 361–428.
- 19) Group MPS (1996) Occult choroidal neovascularization. Influence on visual outcome in patients with age-related macular degeneration. Macular Photocoagulation Study Group. *Arch Ophthalmol* 114: 400–412.
- 20) Al Hussaini, H., Kam, J.H., Vugler, A., Semo, M., and Jeffery, G. (2008). Mature retinal pigment epithelium cells are retained in the cell cycle and proliferate in vivo. *Mol. Vis.* 14, 1784–1791.
- 21) Kokkinopoulos, I., Shahabi, G., Colman, A., and Jeffery, G. (2011). Mature peripheral RPE cells have an intrinsic capacity to proliferate; a potential regulatory mechanism for age-related cell loss. *PLoS One* 6:e 18921. doi:10.1371/journal.pone.0018921.
- 22) Bryan W. Jones, Rebecca L. Pfeiffer, William D. Ferrell, Carl B. Watt, James Tucker and Robert E. Marc. Retinal Remodeling and Metabolic Alterations in Human AMD. *Frontiers in Cellular Neuroscience* | www.frontiersin.org. April 2016 | Volume 10 | Article 103.
- 23) Bonilha, V.L. (2008). Age and disease-related structural changes in the retinal pigment epithelium. *Clin.Ophthalmol.* 2, 413–424.
- 24) Johannsen W. 1911. The genotype conception of heredity. *American Naturalist* 45, 129–159.
- 25) Ach, T., Huisinigh, C., McGwin, G. Jr., Messinger, J.D., Zhang, T., Bentley, M.J., et al. (2014). Quantitative autofluorescence and cell density maps of the human retinal pigment epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55, 4832–4841.

- 26) Marc, R.E., Jones, B.W., and Watt, C.B. (2005). *Retinal Remodeling: Circuitry Revisions Triggered by Photoreceptor Degeneration*. Springer: Kluwer Academic Press Corporation.
- 27) Winkler, B.S., Boulton, M.E., Gottsch, J.D., and Sternberg, P. (1999). Oxidative damage and age-related macular degeneration. *Mol. Vis.* 5:32.
- 28) Frederick L. Ferris III, C. P. Wilkinson, Alan Bird, Usha Chakravarthy, Emily Chew, Karl Csaky, SriniVas R. Sadda, on behalf of the Beckman Initiative for Macular Research Classification Committee. Article in *Ophthalmology*. January 2013.
- 29) Butt AL, Lee ET, Klein R, Russell D, Ogola G, Warn A et al.. Prevalence and risks factors of age-related macular degeneration in Oklahoma Indians: the Vision Keepers Study. *Ophthalmology* 2011; 118: 1380–1385.
- 30) Abdelsalam A, Del Priore L, Zarbin MA. Drusen in age-related macular degeneration: pathogenesis, natural course, and laser photocoagulation-induced regression. *Surv Ophthalmol* 1999; 44: 1–29.
- 31) Fleckenstein M, Adrion C, Schmitz-Valckenberg S, Göbel AP, BindewaldWittich A, Scholl H et al.. Concordance of disease progression in bilateral geographic atrophy due to AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 5: 637–642.
- 32) Sunness JS. The natural history of geographic atrophy, the advanced atrophic form of age-related macular degeneration. *Mol Vis* 1999; 5: 25.
- 33) Roy M, Kaiser-Kupfer M. Second eye involvement in age-related macular degeneration: a four-year prospective study. *Eye* 1990; 4: 813–818.
- 34) Wang JJ, Mitchell P, Smith W, Cumming RG. Bilateral involvement by age related maculopathy lesions in a population. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 743–747.
- 35) Coffey AJ, Brownstein S. The prevalence of macular drusen in postmortem eyes. *Am J Ophthalmol* 1986; 102:164–171.
- 36) Yehoshua Z, Rosenfeld PJ, Gregori G, Penha F. Spectral domain optical coherence tomography imaging of dry age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2010; 41(Suppl): S6–14.
- 37) Fleckenstein M, Schmitz-Valckenberg S, Adrion C, Visvalingam S, Göbel AP, Moßner A et al.. Progression of age-related geographic atrophy: role of the fellow eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 6552–6557.
- 38) Gregori G, Wang F, Rosenfeld PJ, Yehoshua Z, Gregori NZ, Lujan BJ et al.. Spectral domain optical coherence tomography imaging of drusen in nonexudative age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2011; 118: 1373–1379.
- 39) Chiu SJ, Izatt JA, O'Connell RV, Winter KP, Toth CA, Farsiu S. Validated automatic segmentation of AMD pathology including drusen and geographic atrophy in SD-OCT images. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 53–61.
- 40) Gregori G, Wang F, Rosenfeld PJ, Yehoshua Z, Gregori NZ, Lujan BJ et al. Spectral domain optical coherence tomography imaging of drusen in nonexudative age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2011; 118: 1373–1379.
- 41) Nittala M, Ruiz-Garcia H, Sadda SR. Accuracy and reproducibility of automated drusen segmentation in eyes with non-neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 8319–8324.
- 42) Yehoshua Z, Garcia Filho CA, Penha FM, Gregori G, Stetson PF, Feuer WJ et al. Comparison of geographic atrophy measurements from the OCT fundus image and the sub-RPE slab image. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2013; 44: 127–32.
- 43) B Diniz, DC Rodger, VR Chavali, T MacKay, SY Lee, D Stambolian and SVR Sadda. Drusen and RPE atrophy automated quantification by optical coherence tomography in an elderly population. *Eye* (2015) 29, 272–279, 2015.
- 44) Zohar Yehoshua, Giovanni Gregori, SriniVas R. Sadda, Fernando M. Penha, Raquel Goldhardt, Muneeswar G. Nittala, Ranjith K. Konduru, William J. Feuer, Pooja Gupta, Ying Li, and Philip J. Rosenfeld. Comparison of Drusen Area Detected by Spectral Domain Optical Coherence Tomography and Color Fundus Imaging.
- 45) Johnny Tam, Jianfei Liu, Alfredo Dubra, and Robert Fariss. In Vivo Imaging of the Human Retinal Pigment Epithelial Mosaic Using Adaptive Optics Enhanced Indocyanine Green Ophthalmoscopy. *iovs.arvojournals.org* j ISSN: 1552-5783.
- 46) Ach T, Huisinigh C, McGwin G, et al. Quantitative autofluorescence and cell density maps

- of the human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014; 55:4832–4841.
- 47) Ts'o MO, Friedman E (1967) The retinal pigment epithelium. I. Comparative histology. *Arch. Ophthalmol.* 78, 641–649.
- 48) Ts'o MO, Friedman E (1968) The retinal pigment epithelium. 3. Growth and development. *Arch. Ophthalmol.* 80, 214–216.
- 49) Mei Chen, Dinusha Rajapakse, Monika Fraczek, Chang Luo, John V. Forrester and Heping Xu. Retinal pigment epithelial cell multinucleation in the aging eye – a mechanism to repair damage and maintain homeostasis. *Aging Cell* (2016) 15, pp436–445.
- 50) Benhar I, Reemst K, Kalchenko V, Schwartz. The retinal pigment epithelium as a gateway for monocyte trafficking into the eye. *MEMBO J.* 2016 Jun1;35(11):1219-35. Epub 2016 Apr 22.



FORO RETINICO PERIFERICO GIGANTE: CONSENSU CONFERENCE

INTRODUZIONE

Il nostro comportamento terapeutico nei confronti delle lesioni retiniche periferiche non sicuramente regmatogene è molto cambiato negli ultimi anni. Gli studi epidemiologici e le evidenze cliniche hanno portato ad una rilevante riduzione del numero di trattamenti argon laser periferici, e ad una moderazione sull'energia applicata per singolo spot e complessiva.

Il caso in discussione è molto singolare. Non ho trovato descritto nella letteratura consultata fori retinici atrofici periferici di tali proporzioni.

Le grandi dimensioni 3 mm x 5 mm circa rendono, infatti, questo occasionale reperto oftalmoscopico del tutto insolito, e mi hanno spinto, dopo colloquio con il direttore di Oftalmologia Domani, Costantino Bianchi, recentemente scomparso, ad aprire questa Consensus Conference, coinvolgendo più colleghi di lunga e comprovata esperienza in diversi ambiti lavorativi.

Le risposte ricevute integralmente riportate hanno confermato l'appropriatezza clinica del dibattito aperto, e convalidato la fondatezza per i dubbi e le incertezze terapeutiche inizialmente manifestate.

Per Consensus Conference generalmente si intendono riunioni e dibattiti promossi per ricevere opinioni su argomenti controversi in ambito scientifico, tecnologico o etico. Introdotte per la prima volta in Danimarca negli anni Ottanta dal Danish Board of Technology, Commissione Danese sulla Tecnologia, le Consensus Conference sono tuttora utilizzate con grande rispondenza e partecipazione della popolazione, che apprezza molto questa forma diretta di democrazia. Pur non avendo alcun potere formale, questo tipo di consultazioni godono ancor oggi di molta popolarità e grande autorevolezza tra le istituzioni.

Tutta la Redazione di Oftalmologia Domani è soddisfatta di poter iniziare questo nuovo percorso ancora poco esplorato, con la certezza che il colloquio e il dibattito su temi così controversi siano utili per allargare le conoscenze di tutti.

DESCRIZIONE E CONSIDERAZIONI SUL CASO CLINICO

Grande foro retinico periferico supero temporale in paziente giovane adulta di sesso femminile, senza anamnesi personale e familiare per altre patologie o di traumi, asintomatica, difetto rifrattivo $\leq 1D$ non rilevante, visus corretto 20/20, tono oculare 14 mmHg in ambo gli occhi. Il foro retinico, all'apparenza a tutto spessore per l'intera sua area, lievemente ovalare con diametri di 3 mm x 5 mm circa all'esame fotografico standard, presenta un bordo non sollevato, sclerotico, bianco-grigiastro, che non si discosta dal piano retinico dopo indentazione sclerale, senza apparenti trazioni vitreali con lente corneale a tre specchi (**Fig. 1**).

Con imaging ultra-widefield i dettagli iconografici sarebbero sicuramente migliori. Oltre agli interrogativi sulla sua possibile patogenesi, la decisione nell'immediato era se trattare o non trattare con argon laser. Dopo attenta valutazione ho deciso di non trattare e rivedere la paziente a distanza di 6 mesi, considerando che un trattamento intorno al foro, anche condotto in modo leggero, potrebbe essere in questa fase dannoso per i rapporti vitro-retinici. Il corpo vitreo è, infatti, completamente adeso, non fluido, con ialoide integra per quanto visibile.

Il trattamento argon laser prevedrebbe per lo meno 400/600 spot. Considerando per semplificare il foro come circolare, con diametro medio di 4 mm, la lunghezza della sua circonferenza (diametro x 3,14) è $4 \text{ mm} \times 3.14 = \pm 12,56 \text{ mm} = \pm 12.560 \text{ micron}$. Scegliendo per esempio un'apertura spot di 100 micron, il numero totale di spot è uguale a 12.560: $100 = 125,6 \text{ spot} \times 3/4 \text{ file concentriche}$, per un totale di oltre 500 spot. Se si considera che molti spot si sovrappongono, non arrivano a sbiancare efficacemente la retina e devono essere ripetuti, l'ammontare totale di energia diventerebbe veramente importante.

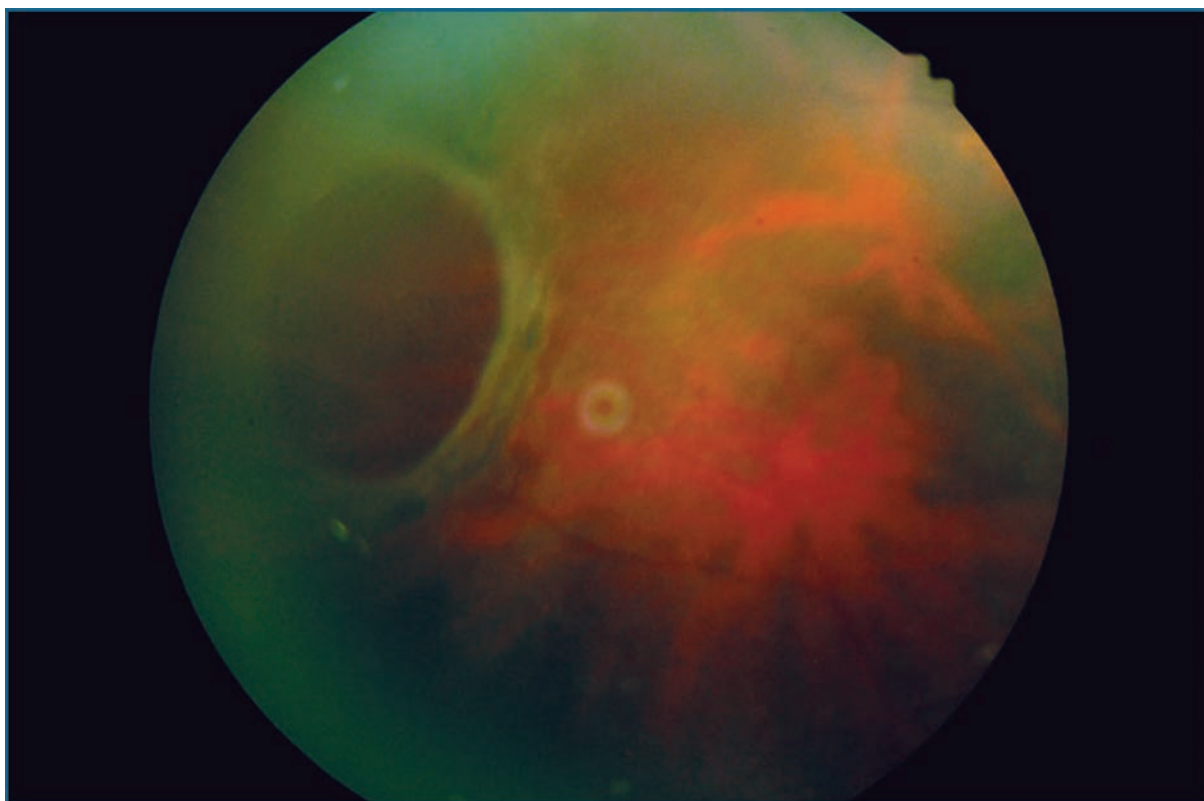


Fig. 1

Bisogna inoltre considerare che l'energia degli spot a distanza dal margine atrofico/sclerotico potrebbero favorire la formazione di minime trazioni vitreali, con allargamento secondario del foro stesso. Il foro, in adiacenza della base del vitreo, permetterebbe un trattamento circolare per 360°. Qualora si decidesse di intervenire tale modalità di barrage sarebbe, a mio parere, da preferire per non lasciare zone del bordo libere, e creare rapporti di forza vitreo-retinici differenziati lungo il perimetro della circonferenza. Un trattamento circonfrenziale, lambendo la base vitreale potrebbe, d'altro canto, favorire la creazione nel tempo di tensioni vitreo-retiniche e fughe lacerative.

È inoltre ben nota la correlazione temporale tra i trattamenti periferici argon laser, così frequenti, intensi e spesso inutili degli anni Ottanta e Novanta, e i rimaneggiamenti dell'EPR in macula. La paziente presenta un visus di 20/20, test di Amsler multicolore negativo e totale assenza di alterazioni maculari.

Il foro non ha altri segni di pericolo che la sua stessa presenza, non ha opercolo, condizione che conferma la sua origine non trazionale, conseguenza probabile di una meiopragia/atresia con-

genita settoriale della retina periferica, contrapposto, per istologia e patogenesi, alla più comune ipertrofia dell'EPR.

È sufficiente tale reperto occasionale per effettuare un trattamento argon laser? L'eventuale barrage laser con tre/quattro file di spot perché dovrebbe apportare maggiore stabilità al quadrante retinico se il foro non è regmatogeno? Il distacco di retina dovrebbe attuarsi per quali eventi fisiopatologici se finora non è avvenuto?

Per un successivo trauma, o per il futuro distacco del vitreo spontaneo o dopo intervento di cataratta? Per assicurare una stabilità più certa alla retina sarebbe necessario, come ultima ratio, un cerchiaggio sclerale con una minima indentazione sul foro stesso! Sarebbe tale estremo provvedimento un eccesso di prevenzione? Che cosa fare? Ho chiesto consiglio ad alcuni colleghi: la maggior parte sono del parere di intervenire. Le risposte ricevute non mi confortano, e rimango dell'idea che il solo controllo a distanza sia la migliore decisione terapeutica al momento per la paziente. A favore di un trattamento laser depongono sicuramente le sue grandi dimensioni non riscontrabili nella letteratura presa in considera-

zione, e la sua posizione nel quadrante superotemporale, più a rischio. Tuttavia, allo stato attuale, i rischi di un trattamento laser mi sembrano maggiori dei possibili benefici. Eventualmente potrei richiamare la paziente per un consenso informato al non trattamento, ma non credo sia previsto e consentito dall'etica professionale. Cercherò, se possibile, di eseguire alcune scansioni OCT per accertare l'eventuale presenza dell'EPR, e chiedo l'apertura di una Consensus Conference, dopo suggerimento e conforto del compianto direttore Costantino Bianchi, all'epoca ancora in vita.

APERTURA CONSENSUS CONFERENCE

Cari Colleghi,

Invio alla Vostra cortese attenzione un caso di rottura retinica giunto di recente alla mia osservazione, che ha suscitato non poca perplessità nella scelta terapeutica e nell'interpretazione fisiopatogenetica. Ho sottoposto il caso a numerosi colleghi con vario livello di esperienza in patologia retinica, e ho avuto risposte che non sono state per me pienamente soddisfacenti. Ho pensato pertanto di richiedere il Vostro per maggiori indicazioni e suggerimenti. A tale fine ho pensato di aprire una "Consensus Conference", inviando questa mia motivata richiesta.

L'obiettivo è di aprire un approfondito e proficuo dibattito per tracciare, nei limiti del possibile, linee guida utilizzabili in casi così controversi. Sicuro che la Vostra sensibilità scientifica e comprovata competenza saranno stimulate da un caso all'apparenza così semplice nella diagnosi, ma altrettanto complesso per gli aspetti prognostico-terapeutici, sarei grato se mi inviaste il Vostro parere in merito (trattare o non trattare e, se sì, cosa è meglio fare).

Con Stima

Amedeo Lucente

Risposte

Paolo Arpa, Monza

Gentile Dott. Lucente,

Credo che almeno un trattamento fotocoagulativo sia opportuno. A conferma di quanto dico, mi chiedo chi di noi avendo un regalo simile nel proprio occhio non si farebbe trattare?

Cordiali saluti

Paolo Arpa

Teresio Avitabile, Catania

Caro Amedeo,

Sono d'accordo con Paolo Arpa che se probabilmente lo avessi io per paura me lo farei trattare, ma la letteratura ed in particolare le linee guida della American Academy sono inequivocabili: foro e non lembo per di più asintomatico non va assolutamente trattato. Oggi poi anche noi in Italia con la nuova legge Gelli dobbiamo attenerci alle linee guida e se lo trattassimo e dovessimo avere eventi avversi quali pucker etc., saremmo indifendibili.

Cordiali saluti

Teresio

Claudio Azzolini, Varese

Caro Amedeo,

Le linee guida dell'AMA sconsigliano il trattamento fotocoagulativo, come detto da Teresio. L'alterazione retinica senza sintomatologia è probabilmente congenita e poco evolutiva come detto da Marco. Ma conta anche la nostra esperienza.

Finché il corpo vitreo non degenera, va tutto bene. E probabilmente (ma non ne siamo sicuri) la rottura o erosione retinica (non si vede bene) resterà chiusa anche dopo, visto il bordo biancastro e ben adeso della lesione. D'accordo a non intervenire a breve, se hai dubbi, ed a seguire il paziente in tempi ravvicinati. Ma nel tempo, appena avrai un dubbio, deciderai di fare una fotocoagulazione leggera e ben fatta non adiacente al bordo della lesione. Nel dubbio fra fare e non fare, io farei sì una fotocoagulazione retinica come suggerito da Paolo Arpa. Gli svantaggi di rare complicanze trattive dopo una fotocoagulazione laser ben fatta sono secondo me inferiori agli svantaggi di affrontare un distacco di retina anche iniziale in futuro.

Rimango invece perplesso sulla tua possibile richiesta alla paziente di un consenso informato al non trattamento. È l'esperienza e giudizio del medico a decidere l'eventuale terapia in accordo con il paziente. Non possiamo coinvolgere troppo il paziente sulla scelta della non terapia. Il paziente difficilmente capirebbe, chiederebbe ovviamente altri pareri e sarebbe confuso. E il nostro lavoro sarebbe ancora più complicato.

Grazie e un caro saluto

Claudio

Francesco Bandello, Milano

Non vedo elementi clinici che autorizzino a considerare l'approccio a questo foro atrofico di grandi dimensioni in modo diverso rispetto a quanto raccomandato in letteratura. In particolare: non ci sono sintomi, trazioni, familiarità, problemi nell'occhio controlaterale, etc. Appartengo ad una Scuola di laseristi convinti e, sicuramente, anni addietro non avrei avuto dubbi ed avrei eseguito anche io il mio bravo "barrage" (però con impatti da 500). Molta acqua è nel frattempo passata sotto i ponti e molta EBM ha contribuito a modificare i nostri approcci terapeutici. Sicuramente un follow-up stretto lo raccomanderei ed al primo accenno di sintomi o segni di distacco vitreale rivaluterei la mia scelta, ma al momento mi schierei senza dubbio con quanti hanno consigliato un atteggiamento di attesa.

Francesco Bandello

*Antonio Berarducci e Antonio Laborante,
San Giovanni Rotondo*

Caro Amedeo,

Qualora si trattasse di un foro retinico ci troveremmo d'accordo con chi ha consigliato di non trattarlo...è presumibilmente una situazione data, asintomatica e già pigmentata, pertanto autosbarratasi. Ad ogni modo, dovendo fare diagnosi su una immagine che purtroppo ha dei limiti nella qualità (quindi nella percezione dei dettagli) e nella bidimensionalità, ci chiediamo se invece non possa trattarsi di una retinoschisi con rottura gigante di uno dei foglietti, che in questo caso sarebbe presumibilmente quello esterno (anche se, senza la percezione della profondità e dei dettagli, è davvero difficile dirlo con assoluta certezza). Si vede bene che ai bordi della rottura la retina è un pochetto arrotolata su sé stessa, come un lenzuolo ai piedi del materasso. Come giustificare invece il bordo pigmentato? Potrebbe essere un esito legato ad un distacco su schisi (schisis detachment), che magari stava per svilupparsi in passato e che poi, per i caratteri di cronicità, si è autosbarrato. Qualora si verifici un distacco nelle schisi bisogna ricordare che è necessaria una rottura sia nel foglietto esterno che in quello interno in modo da avere una connessione diretta tra la cavità vitreale e lo spazio sottoretinico. Qualora si trattasse di questo ci troveremmo di fronte ad una situazione pertanto non particolarmente inusuale per la quale in realtà non c'è molto da fare (tanto più con una

paziente asintomatica e con visus di 10/10). Quello che le consiglieremmo sarebbe una semplice osservazione nel tempo per valutare eventuali segni di progressione, che magari andrebbero documentati con una foto fundus (per esempio presenza di tide mark, eventuale presenza ed estensione di fluido sottoretinico, etc.). Forse un OCT su quell'area sarebbe in grado di dare qualche informazione in più sulle componenti anatomiche di quella porzione di retina...talvolta i foglietti nelle schisi sono talmente sottili che non è facile identificarle oftalmoscopicamente, specie se si tratta di lesioni datate o croniche.

Speriamo di aver in qualche modo contribuito a dare spunto ad ulteriori considerazioni e consigli.

Inviemo cordiali saluti.

Antonio Berarducci e Antonio Laborante Grazie a presto. Ciao.

Antonio

Marco Borgioli, Macerata-Firenze

Gentilissimo dottor Lucente,

Ho preso in considerazione il caso clinico che ha sottoposto alla mia osservazione. L'esame oftalmoscopico mostra un grosso foro atrofico in area supero-temporale, probabile esito di un'alterazione retinica congenita. La paziente, da quanto ho capito, non ha lamentato alcuna sintomatologia, si tratterebbe, quindi, di un reperto occasionale in corso di una visita oculistica di "routine". Facendo riferimento alla letteratura, i fori atrofici asintomatici presentano una progressività molto bassa per distacco di retina (0-0,8%). Tali pazienti non necessitano, quindi, di un trattamento fotocoagulativo laser. Secondo le opzioni terapeutiche dell'AAO (2003), il trattamento nei casi di fori atrofici asintomatici è raramente raccomandato. Consigliabile l'osservazione della paziente nel tempo (ogni 6 mesi 1 anno). Penso che il trattamento fotocoagulativo o altro possa essere preso in considerazione in seguito a modificazioni della situazione retinica e/o ad eventuale DPV. Cordiali saluti,

Prof. Marco Borgioli

Francesco Boscia, Sassari

Gentile Dott. Lucente,

Credo che un trattamento fotocoagulativo sia opportuno e necessario. La ragione è che se attualmente il foro potrebbe sembrare innocuo, nel momento in cui si svilupperà un distacco di vitreo, mancando il tamponamento offerto dal vitreo

stesso, potrebbe facilmente generarsi un distacco di retina.

Non ritengo invece necessario il cerchiaggio in assenza di una componente trazionale. Concordo con il dr Arpa sul fatto che anche io mi farei trattare allo stesso modo se avessi la sfortuna di avere un problema simile. Cordiali saluti

Francesco Boscia

Claudio Carbonara, Roma

Caro Amedeo,

Ho guardato e letto il tutto. Forse con una foto più dettagliata potrei ripensarci ma io, se fosse il mio occhio, mi farei fare un cerchiaggio e piombaggio, se un piombaggio da solo non fosse sufficiente. Sicuramente, non avendo un chirurgo di riferimento a portata di mano, aspetterei come te 6 mesi per rivalutare la situazione e, comunque, non la toccherei con il laser.

Un saluto,

Claudio

Ermanno dell'Omo, Campobasso

Caro Amedeo,

Il foro sembra essere presente da tempo considerando che i bordi sono pigmentati. La paziente è asintomatica e non sono presenti trazioni, aspetti che, unitamente alla presumibile non recente insorgenza del foro, potrebbero indurre ad optare per una semplice osservazione della lesione nel tempo. D'altro canto le dimensioni del foro e la modificazione che si verificherà inevitabilmente nei prossimi anni nei rapporti tra retina e vitreo, mi spingono a consigliare un trattamento, limitato tuttavia alla regione del foro, non esteso su 360°. Prima di procedere, sarebbe comunque interessante eseguire, se tecnicamente possibile, una scansione OCT della lesione, soprattutto al fine di inquadrarla meglio da un punto di vista morfologico e patogenetico.

Un caro saluto,

Ermanno

Raffaello di Lauro, Napoli

Caro Amedeo,

Anche se la letteratura internazionale non raccomanda il trattamento dei fori retinici asintomatici, io, per le dimensioni del foro, opterei senza dubbio per un "barrage" laser.

Cordialmente Raffaello

Christopher Girkin, Birmingham Alabama US

It is probably retinoschisis that has evolved into a full thickness break, it's unclear how posterior the fluid goes, but this should be treated almost certainly.

It would ideally be best if the person was examined by a retinal specialist.

Kindest regards Christopher Girkin

Tommaso Micelli Ferrari, Acquaviva delle Fonti

Caro Amedeo,

Ho osservato le immagini e si osserva accanto al bordo del foro la presenza di una linea di auto sbarramento; ritengo quindi non necessario alcun trattamento se non uno stretto monitoraggio iniziale con allungamento dei controlli nel tempo. Patogeneticamente è una patologia degli strati retinici interni (evoluzione di bolla di schisi? Evoluzione di alterazione postnatale tipo lesione emorragica da parto-forcipe-? Ma non una classica lesione regmatogena che si associa con una alterazione vitreale contigua, che mi dici non esserci). Il trattamento laser potrebbe, riscaldando il vitreo, attivarlo, quindi non lo consiglierei.

Un abbraccio Tommaso

Alberto Montericcio, Trapani

Ciao, Sicuramente il foro è lì da diverso tempo. Nella mia esperienza non mi sono MAI pentito di trattare un foro retinico oltretutto di queste dimensioni. Io fare un bel barrage e mi metterei al sicuro.

Alberto Montericcio

Direttore Clinica Oftalmica "Casa Verde" Trapani

Claudio Panico, Torino

Caro Amedeo,

Sposo incondizionatamente le tue tesi, argomentate perfettamente, di non trattare il foro. La letteratura è abbastanza concorde sul fatto che un foro atrofico asintomatico non sia regmatogeno e quindi non vada trattato. Siamo tutti figli degli anni Ottanta e di quei trattamenti eroici. Un'osservazione semestrale sarà sufficiente, avvertendo il paziente di presentarsi in caso diventasse sintomatico, ma le probabilità di progressione del foro saranno esigue.

Un saluto a te e a tutti i colleghi che leggeranno in copia.

Claudio Panico

Alfredo Pece, Milano

Caro Amedeo,

Il caso da te descritto appare interessante e come abbiamo visto le opinioni su come debba essere gestito sono piuttosto discordi.

Il foro retinico del caso descritto, molto ampio, appare sulla carta come un foro tendenzialmente atrofico, in paziente giovane e asintomatico, senza alterazioni nell'occhio controlaterale. non vengono descritti traumi o fattori patogenetici rilevanti. Personalmente ritengo che:

È vero che in letteratura viene segnalato che un foro atrofico non debba essere trattato, ma esistono variabili difficili da valutare. Siamo assolutamente sicuri che sia un foro atrofico e che non ci siano trazioni sul lembo? Inoltre esistono fori che comunque hanno una evoluzione come progressione. La sede del foro è superiore e pertanto più a rischio. La differenza inoltre la fa la dimensione che appare molto ampia. Non si tratta di un piccolo foro atrofico ma di un ampio foro con bordi leggermente eversi in una sede tendenzialmente più a rischio. Personalmente farei un trattamento laser che mi dà una maggiore tranquillità. Il rischio non è tanto nell'accelerare la progressione del foro quanto di una retrazione dell'interfaccia maculare. Pertanto è opportuno valutare biomicroscopicamente la distanza dalla macula per prendere una decisione. in caso di foro comunque periferico e pertanto con ampi margini di sicurezza, è sufficiente eseguire un barrage di due file a 300 micron a bassa potenza e poi ricontrollare la cicatrizzazione a distanza di tempo.

Ovviamente è necessario discutere con il paziente le problematiche del fare o non fare un trattamento e le alternative possibili.

Cari saluti Alfredo

Vincenzo Petitti, Roma

Caro Amedeo,

Io aspetterei e controllerei la paziente ogni tre mesi, peraltro è un reperto occasionale senza disturbi soggettivi: perché stuzzicare in cane che dorme?

Un abbraccio. Vincenzo

Pierangelo Pintore e Pierpaolo Patteri (Chirurghi del segmento anteriore), Alghero

Carissimo Amedeo,

Nella routine preoperatoria della cataratta, oltre ad effettuare l'esame OCT, controlliamo sem-

pre e in modo rigoroso la periferia retinica. Per questo capita spesso di imbattersi in lesioni di vario tipo: alcune di esse, come nel caso in questione, alimentano forti dubbi sulla necessità di effettuare trattamenti profilattici nei confronti del distacco di retina. Le nostre decisioni maturano attraverso criteri di analisi che interessano fondamentalmente:

1) Aspetto, morfologia e classificazione della lesione. Una volta etichettata l'alterazione retinica, oltre che alla nostra esperienza, ci affidiamo all'analisi del caso attraverso la letteratura. Nel caso in esame osserviamo elementi che si collocano a cavallo fra il foro retinico atrofico e l'erosione retinica. Depongono per il foro atrofico la soluzione di continuo a tutto spessore, la morfologia circolare, la presenza di bordo regolare degradante e non accompagnato da fenomeni trazionali vitreali e, infine, l'assenza di lembo o opercolo; per contro di norma il foro atrofico ha dimensioni più contenute, spesso non è isolato e si accompagna ad aree di degenerazione a palizzata.

Depongono per l'erosione retinica, che istologicamente rappresenta una rarefazione tissutale, la forma tondeggianti e le dimensioni ampie, con diametro maggiore parallelo all'equatore e, infine, il decorso dei vasi che appaiono normali per calibro e colore; per contro non sono presenti le tipiche alterazioni del vitreo che sovrasta le erosioni retiniche, né corpi mobili e/o ciuffi biancastri simili a quelli che corredano le lesioni a palizzata.

2) Modalità di esordio e sintomatologia associata.

Sia l'esordio che il comportamento, del tutto asintomatici, rafforzano la convinzione che un atteggiamento di tipo osservazionale è forse più adeguato e senz'altro più giustificabile e comprensibile, soprattutto se rapportato alle possibili complicità di ogni trattamento.

3) Evoluzione nel tempo.

In assenza di caratteri evolutivi ben documentati noi ci asteniamo dall'intervenire e, in accordo e con il consenso (informato) del paziente, attiviamo una particolare vigilanza con controlli clinici frequenti e ben calendarizzati.

4) Valutazione dei rischi e dei benefici di un eventuale trattamento.

Un eventuale trattamento profilattico del caso in esame comporta comunque dei rischi. A nostro avviso il trattamento fotocoagulativo, seppur effettuato correttamente e con impatti tali da non su-

perare sbiancamenti di Grado 2, può dare luogo ad un incremento delle dimensioni del foro retinico attraverso un meccanismo di trazione vitreale generato dalla fotocoagulazione Argon laser.

Anche l'apposizione di un cerchiaggio non ci convince e apparirebbe, al paziente asintomatico, non molto comprensibile. In conclusione, pur riconoscendo che il caso è di particolare complessità e per questo potrebbe suscitare molte perplessità e indurre comportamenti differenti fra gli Oftalmologi, a noi pare che presenti, per le caratteristiche del foro e per la storia clinica della paziente (occhio fahico senza chirurgia della cataratta imminente, emmetrope, con occhio adelfo sano ecc.), un rischio molto contenuto di evoluzione verso il distacco di retina.

Per tale motivo, per convinzione personale ma anche in linea con quanto riportato in letteratura, non effettuiamo alcun trattamento sulla lesione.

Un affettuoso abbraccio
Pierangelo e Pierpaolo

Giuseppe Querques, Milano

Caro Amedeo,

Sono d'accordo con il Prof Bandello sulla possibile inadeguatezza del trattamento laser stando alle guidelines dell'AAO ed alla EBM. Inoltre, dalle foto il foro sembrerebbe pigmentato (oltre ad atrofico) quindi a basso rischio di progressione. Non posso negare che, come sottolineato dagli altri colleghi da te interpellati, se fosse il mio occhio forse preferirei ricevere il trattamento laser (sicuramente non chirurgico che trovo assolutamente inadeguato per tale lesione) come sempre, in queste cose, al di là dell'EBM, c'è il buonsenso e il nostro background clinico e, probabilmente, dopo aver discusso rischi e benefici con il paziente, si dovrebbe raggiungere la giusta decisione clinica.

Grazie per averci coinvolto in questa stimolante discussione.

A presto
Giuseppe

Vincenzo Ramovecchi, Macerata

Caro Amedeo,

A mio modesto avviso il foro retinico, ancorché di grandi dimensioni, non andrebbe trattato per una serie di motivi che spiego di seguito. In primo luogo per la natura stessa del foro retinico che per definizione è privo di trazioni vitreoretiche, necessarie per generare un distacco di retina. In

secondo luogo per l'età del foro, non recente e con bordo pigmentato e quindi in pratica auto-sbarrato. In terzo luogo per l'assenza di sintomatologia soggettiva ed alla presenza di un gel vitreale compatto ed adeso al piano retinico. In quarto luogo per il rischio di indurre con il trattamento laser delle complicanze non trascurabili come il distacco vitreale con le sue sequele e lo sviluppo di membrane epiretiche che richiederebbero a loro volta una chirurgia vitreoretinica. Quindi seguendo il principio "primum non nocere" eviterei il trattamento laser e consiglierei solo una osservazione periodica, raccomandando alla paziente un controllo sollecito in caso di insorgenza di fotopsie o miodesopsie e consigliando di mantenere una buona idratazione del suo organismo nel periodo estivo. Grato della stima.

Cari saluti
Vincenzo

Antonello Rapisarda, Catania

Ciao Amedeo,

Concordo in linea generale con quanto da te detto e fatto. Monitorerei la paziente programmando però dei controlli più frequenti (trimestrali) ed alla prima avvisaglia di cambiamento (modifica del margine del foro) seguirei il consiglio di Paolo (trattamento laser su più file) ma a bassa intensità.

Cari saluti
Antonello

Marco Rispoli, Roma

Caro Amedeo,

Come suggerito da altri illustri colleghi, da un punto di vista medico legale non sarebbe possibile eseguire una fotocoagulazione laser (vedi linee guida AAO e legge Gelli), fermo restando che, se avessi io quel tipo di lesione, non ci penserei due volte a farmi trattare da un vitreo-chirurgo per una soluzione definitiva. Ritengo che un controllo trimestrale con documentazione iconografica possa essere il metodo più corretto per seguire il caso, con opzione di trattamento solo in caso di evolutività.

Un abbraccio
Marco

Stanislao Rizzo, Firenze

Siamo concordi nell'eseguire un trattamento fotocoagulativo laser circonferenzialmente al foro retinico, dopo adeguata informazione della pa-

ziente riguardo i rischi/benefici. Seppur asintomatico, il foro è di grandi dimensioni e localizzato superiormente, perciò riteniamo che la paziente vada adeguatamente informata che la possibilità di un distacco retinico, seppur rara, giustifica il trattamento laser.

S. Rizzo

Giovanni Scorgia, Catanzaro

Caro Amedeo,

Credo che essendo datato non vi siano trazioni vitreali. Tale situazione suggerirebbe un barrage da effettuare eventualmente in due tempi per ridurre al minimo reazioni da laser. Tenendo presente che la paziente conosce il problema nel caso avesse un distacco, potrebbe accusare il medico di noncuranza.

G. Scorgia

CHIUSURA CONSENSUS CONFERENCE, CONCLUSIONI E CONSIDERAZIONI

Il caso presentato e descritto con i relativi riferimenti che troverete nella trattazione non ha precedenti nella letteratura da me consultata.

La modalità della discussione messa in essere, su proposta del dottor Costantino Bianchi recentemente scomparso, che con dolore e immenso affetto tutta la Redazione di Oftalmologia Domani ricorda, Antonello Rapisarda e io in particolare, è anch'essa un unicum nel panorama dell'Oftalmologia Italiana. Dalla letteratura citata fori retinici periferici di queste dimensioni non sono stati descritti. I diametri trasversali del foro sono tanto rilevanti da caratterizzarlo come gigante, similmente alle rotture retiniche ($\geq$ di 90°).

Le sue dimensioni pongono il foro retinico descritto ai limiti e/o fuori dalle guidelines e EBM, Evidence based medicine, e confermano l'opportunità di questa Consensus Conference. Anche sulla patogenesi c'è incertezza come si evince dalle risposte ricevute. Tutto sembra quindi far appello al senso clinico, al nostro background culturale e all'esperienza maturata. L'aspetto prognostico mai come in questo caso influenza e non poco le nostre decisioni, così come le perfette condizioni della paziente, sempre al centro delle nostre preoccupazioni.

Per concludere, credo che la strada intrapresa del confronto tempestivo multimediale, che potrebbe interfacciarsi con aspetti di tele-oftalmo-

logia, possa offrire on line un utile servizio per tutti, e costituire un'efficace risposta in casi difficili e di raro riscontro, un confronto efficace a beneficio del paziente e per la nostra crescita culturale. La formula della Consensus Conference potrà rappresentare un nuovo mezzo anche in campo medico-legale, eventualmente da ratificare e gestire in sede delle Società Scientifiche accreditate, con positivi e non trascurabili benefici.

BACKGROUND SULLA PROFILASSI DEL DISTACCO DI RETINA

Incidenza e prevalenza

Il distacco di retina regmatogeno, Rhegmatogenous Retinal Detachment RRD, è il più comune tra i distacchi di retina. Si verifica, com'è noto, se il fluido vitreale trova un varco a tutto spessore nella retina neurosensoriale per accedere nello spazio subretinico con conseguente separazione dell'EPR [1]. Può avvenire in ogni età con un picco di prevalenza nella popolazione tra 60 e 70 anni, indifferentemente per sesso e razza [2-4]. Studi osservazionali negli USA, Europa e Nuova Zelanda hanno rivelato in soggetti fachici una frequenza per anno tra 6 a 18/10000, con una media di 1/10000 [5-8].

Eziologia e fattori di rischio

David Steel e Scott Fraser in una completa Review con riferimento a Medline, Embase, The Cochrane Library, e agli altri più importanti database, includendo 21 revisioni sistemiche presenti in letteratura che rientravano nei criteri fissati dal loro studio continuato fino al giugno 2010, hanno discusso lungamente sul distacco di retina regmatogeno RDD [9]. La maggior parte dei distacchi di retina (80-90%) sono associati ad una rottura retinica al momento del distacco posteriore del vitreo Posterior Vitreous Detachment PVD che, come il distacco di retina, è più frequente dopo i 60/70 anni, correlazioni ampiamente documentate anche da Wilkinson *et al.* [10,11]. Le interruzioni retiniche che si formano in concomitanza del PVD nel 70% sono rotture o fori con opercolo fluttuante nel vitreo. Le interruzioni retiniche possono intervenire su aree retiniche istologicamente anomale come la degenerazione lattice [10,11]. La sintomatologia e i segni clinici del PVD, come fosfeni e miodesopsie, diventano ad alto rischio

verso un RRD se associati a trazioni vitreo-retiniche, e/o in presenza di PVD incompleto, arrivando al oltre il 50% di possibilità di un distacco se le lesioni non sono individuate e tempestivamente trattate con argon laser [12]. Con PVD completo e senza trazioni il rischio verso un RRD diventa molto più basso.

Il 7% 8% degli adulti presentano aree di degenerazione retinica; solo una piccola percentuale di tali lesioni è tuttavia la causa di un RRD, come accertato dagli esami autoptici [13-17].

La dialisi retinica anche asintomatica dall'analisi di numerosi studi, si ritiene abbia un elevato rischio verso la progressione al RRD, specialmente in seguito ad un trauma [18,19].

Com'è noto dagli anni Settanta, in accordo ai molti studi pubblicati, tra tutti quelli di *CL. Scheepens*, il rischio di RRD è più elevato nei bulbi miopi, con un incremento di 10 volte in presenza di oltre tre diottrie [19-21].

Secondo gli studi di *Davis et al.* degli anni Settanta e più recentemente di *Mario Stirpe*, l'occhio adelfo di persone con un RRD ha un rischio più elevato rispetto ai soggetti senza distacco; il 2% - 10% dei RRD sono infatti bilaterali [22-25].

Dalla letteratura è anche evidente che la maggior parte dei RRD, tra 50% e 80-90%, si verifica su aree retiniche oftalmoscopicamente normali, e che la profilassi laser non riduce efficacemente il rischio e l'incidenza di RRD [26].

Si è ampiamente accertato che sono maggiormente a rischio per RRD le persone con storia familiare per distacco retinico o condizioni come la sindrome di Stickler.

Bhagwandien AC et al. su 4262 interventi di cataratta con facoemulsificazione hanno riscontrato una frequenza tra 0,5% e 0,6% di RRD, con aumento di 15-20 volte in presenza di rottura della capsula posteriore. Questi dati sono stati confermati e integrati anche da *Javitt JC et al.* [27,38].

Circa il 10% dei RRD è associato a traumi.

Esistono altre condizioni che possono far aumentare il rischio di RRD con frequenza variabile, come l'uveite, in particolare la retinite da citomegalovirus CMV, la retinoschisi, i fori maculari idiopatici in presenza di elevata miopia, ma raramente negli occhi emmetropici o ipermetropici [9].

Arnold Knapp oftalmologo di New York nel novembre 1943 pubblicò su *Arch Ophthalmol* 5 casi di fori retinici periferici in pazienti tra 40 e 61 anni, con margini grigiastri nei quadranti superiori nasali

e temporali, a volte con presenza di sintomatologia vitreale soggettiva. In questo suo lavoro, forse il primo in letteratura sui fori retinici atrofici periferici e sulla loro profilassi, discusse e intuì l'origine differente rispetto ai più noti e pericolosi fori maculari. Questi 5 pazienti nel follow-up non ebbero distacco di retina, nonostante alcuni di loro fossero afachici per pregresso intervento di cataratta intracapsulare. Tutti i fori avevano un diametro inferiore ad un disco papillare [28].

Haimann MH et al. condussero un sondaggio del 1976 sulla popolazione dell'IOWA, e trovarono che l'incidenza annuale per 100.000 abitanti era: nontraumatic phakic (6.1), traumatic phakic (1.0), nontraumatic aphakic (4.9), e traumatic aphakic (0.4) [29].

Norman E. Byer, facendo riferimento al fondamentale studio epidemiologico di Mark H Haimann et al. apparso nello stesso anno su *Arch Ophthalmol* [29], nel suo lavoro "*The natural history of asymptomatic retinal breaks*", di fondamentale importanza per la letteratura, pubblicato su *Ophthalmology* nel 1982, prese in considerazione 359 rotture retiniche asintomatiche in pazienti con occhi fachi, senza storia familiare e personale per distacco di retina, per un follow-up medio di 7.5 anni. Alla fine della sua osservazione non rilevò progressione verso RRD in nessuna delle rotture osservate [30,31].

Sasaki K et al. nel 1998 su *Jpn J Ophthalmol* hanno calcolato l'incidenza e l'associazione tra RRD e degenerazioni periferiche nella popolazione residente di Kumamoto (1.840.000 abitanti). Riscosstrarono 110 distacchi in pazienti con degenerazione retinica a lattice, 72 distacchi in pazienti con rotture retiniche trattive e 38 in pazienti con fori retinici atrofici. L'incidenza cumulativa di fori retinici atrofici e distacco di retina dopo i 40 anni era di 1,5%, mentre aumentava al 3.6% dopo gli 80 anni in presenza di rotture [32].

Neumann E. et al. riferiscono che nelle rotture a ferro di cavallo (horseshoe) sintomatiche, anche se danno luogo a RRD con percentuali molto variabili dal 25% al 90%, [23, 34] è consigliato il trattamento laser mentre, se prive di sintomi soggettivi, specie con DPV completo, la fotocoagulazione argon non è consigliata, ma è sufficiente un regolare controllo per il basso rischio [34].

Bloom SM e Brucker AJ asseriscono che le rotture opercolate sintomatiche evolvono verso un RRD nel 5-15% dei casi [33].

Anche per queste lesioni si esegue un trattamento laser se sono presenti sintomi soggettivi e/o l'esame oftalmoscopico eseguito con lente a contatto a tre specchi evidenzia un sollevamento dei bordi che può essere confermato all'indentazione indiretta. In assenza di queste caratteristiche non si esegue il trattamento. Tale condotta terapeutica è stata confermata in altri studi da *Byer et al.* [35].

Norman E Byer et al. riportano che la degenerazione a palizzata con o senza fori è presente nel 6-8% della popolazione. Spesso nel contesto della lesione (1 su 3; 1 su 5) sono presenti fori. Gli stessi autori su 276 pazienti con palizzata, con follow-up di 11 anni hanno rilevato un RRD in meno dell'1% dei casi. L'efficacia di un trattamento profilattico in occhi senza anamnesi per RRD è stato ritenuto di scarso valore. Gli autori suggeriscono solo uno stretto controllo periodico [35].

Ritornando a *Norman E Byer et al.* già citati, che molto hanno studiato e scritto sull'argomento, riferiscono che nei fori atrofici non è previsto il

trattamento neanche in presenza di sintomatologia soggettiva, mentre è sempre previsto nella dialisi con o senza sintomi soggettivi, com'è stato riferito precedentemente e raccomandato dall'American Academy of Ophthalmology AAO [30,35,37].

Javitt JC et al. pongono l'accento sull'importanza dell'integrità del vitreo e dei rapporti con la retina; trovarono che l'incidenza del rischio di RRD dopo capsulotomia Yag laser aumenta di 3.9 volte [36,38].

Ruwan A. Silva e Mark S. Blumenkranz, nel loro articolo del 2013 "*Prophylaxis for Retinal Detachments*" per AAO, riguardo i fori atrofici (asymptomatic breaks), oggetto di questa Consensus Conference, così scrivono:

Asymptomatic Breaks

"One large category of retinal breaks is termed "asymptomatic" and includes mainly operculated and atrophic round holes. Since there is no vitreoretinal traction at the edge of these breaks,



In aggiunta al caso presentato, oggetto della Consensus Conference, questo secondo caso di foro retinico gigante in area infero temporale, è fotografato con device Widefield (Clarus 500 Zeiss). Anche per questo caso si è deciso solo l'osservazione. Trovare in una personale casistica due casi di fori retinici giganti non è cosa frequente. La sola osservazione ha confermato per entrambi i pazienti una sostanziale stabilità del quadro retinico, con la conferma dell'assenza di sintomi soggettivi nel tempo intercorso tra le osservazioni.

retinal detachments are unlikely to occur secondarily to them. Clinical data from large observational case series demonstrate the minimal risk of retinal detachment from these lesions. Additionally, there are no prospective or randomized trials evaluating prophylactic treatment of these lesions, thus no evidence supports any benefit of prophylactic therapy” [39].

REFERENCES

- 1) Wilkinson CP, Rice TA. Michel's retinal detachment, 2nd ed. Mosby, St Louis, USA, 1997:29.
- 2) Rowe JA, Erie JC, Baratz KH, et al. Retinal detachment in Olmsted County, Minnesota, 1976 through 1995. *Ophthalmology* 1999; 106:154–159.
- 3) Laatikainen L, Tolppanen EM, Harju H. Epidemiology of rhegmatogenous retinal detachment in a Finnish population. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1985; 63:59–64.
- 4) Tornquist R, Stenkula S, Tornquist P. Retinal detachment. A study of a populationbased patient material in Sweden 1971–1981. I. Epidemiology. *Acta Ophthalmol(Copenh)* 1987; 65:213–222.
- 5) Haimann MH, Burton TC, Brown CK. Epidemiology of retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 1982; 100:289–292.
- 6) Haut J, Massin M. Frequency of incidence of retina detachment in the French population. Percentage of bilateral detachment. *Arch Ophthalmol Rev Gen Ophthalmol* 1975; 35:533–536.
- 7) Wilkes SR, Beard CM, Kurland LT, et al. The incidence of retinal detachment in Rochester, Minnesota, 1970–1978. *Am J Ophthalmol* 1982; 94:670–673.
- 8) Polkinghorne PJ, Craig JP. Northern New Zealand Rhegmatogenous Retinal Detachment Study: epidemiology and risk factors. *Clin Experiment Ophthalmol* 2004; 32:159–163.
- 9) David Steel and Scott Fraser. Retinal detachment. Search date June 2010. *Clinical Evidence* 2010; 11:710.
- 10) Wilkinson CP. Evidence-based analysis of prophylactic treatment of asymptomatic retinal breaks and lattice degeneration. *Ophthalmology* 2000; 107:12–16.
- 11) Wilkinson CP, Rice TA. Michel's retinal detachment, 2nd ed. Mosby, St Louis, USA, 1997: 93.
- 12) Shea M, Davis MD, Kamel I. Retinal breaks without detachment, treated and untreated. *Mod Probl Ophthalmol* 1974; 12:97–102.
- 13) Foos RY, Allen RA. Retinal tears and lesser lesions of the peripheral retina in autopsy eyes. *Am J Ophthalmol* 1967; 64:643–655.
- 14) Byer NE. What happens to untreated asymptomatic retinal breaks, and are they affected by posterior vitreous detachment? *Ophthalmology* 1998; 105:1045–1049.
- 15) Burton TC. The influence of refractive error and lattice degeneration on the incidence of retinal detachment. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1989; 87:143–155.
- 16) Byer NE. Lattice degeneration of the retina. *Surv Ophthalmol* 1979; 23:213–248.
- 17) Okun E. Gross and microscopic pathology in autopsy eyes. III. Retinal breaks without detachment. *Am J Ophthalmol* 1961; 51:369–391.
- 18) Vote BJ, Casswell AG. Retinal dialysis: are we missing diagnostic opportunities? *Eye* 2004; 18:709–713.
- 19) Ashrafzadeh MT, Schepens CL, Elzeneiny II, et al. Aphakic and phakic retinal detachment. I. Preoperative findings. *Arch Ophthalmol* 1973; 89:476–483.
- 20) Eye Disease Case Control Study Group. Risk factors for idiopathic rhegmatogenous retinal detachment. *Am J Epidemiol* 1993; 137:749–757.
- 21) Johnston PB. Traumatic retinal detachment. *Br J Ophthalmol* 1991; 75:18–21.
- 22) Byer NE. Rethinking prophylactic treatment of retinal detachment. In: Stirpe M, ed. *Advances in vitreoretinal surgery. Acta Third International Congress on Vitreoretinal Surgery. Rome, 12–14 September 1991. Ophthalmic Communications Society, New York, 1992: 399–411.*
- 23) Davis MD. The natural history of retinal breaks without detachment. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1973; 71:343–372.
- 24) Dralands L, Larminier F, Cornelis H, et al. Evolution of lesions of the retinal periphery in the fellow eye of a retinal detachment. *Bull Mem Soc Fr Ophtalmol* 1981; 92:73–77.
- 25) Hovland KR. Vitreous findings in fellow eyes of aphakic retinal detachment. *Am J Ophthalmol* 1978; 86:350–353.

- 26) Wilkinson CP. Evidence-based analysis of prophylactic treatment of asymptomatic retinal breaks and lattice degeneration. *Ophthalmology* 2000; 107:12–16.
- 27) Bhagwandien AC, Cheng YY, Wolfs RC, et al. Relationship between retinal detachment and biometry in 4262 cataractous eyes. *Ophthalmology* 2006; 113:643–649.
- 28) 2. Knapp A. Periferical retinal holes without detachment. *Arch Ophthalmol.* 1943;30(5): 585-590.
- 29) Mark H. Haimann, Thomas C. Burton, Carl K. Brown. Epidemiology of retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 1982; 100:289-292.
- 30) Byer NE. The natural history of asymptomatic retinal breaks. *Ophthalmology* 1982; 89:1033-1039.
- 31) Byer NE. Natural history of posterior vitreous detachment with early management as a premier line of defense against retinal detachment. *Ophthalmology* 1994; 101:1503-1514.
- 32) Sasaki K1, Ideta H, Yonemoto J, Tanaka S, Hirose A, Oka C. Risk of retinal detachment in patients with lattice degeneration. *Jpn J Ophthalmol.* 1998 Jul-Aug;42(4):308-13.
- 33) Bloom SM, Brucker AJ. Laser surgery of the posterior segment. 2nd ed. Lippincott-Raven Philadelphia 1997, pp340-361
- 34) Neumann E, Hyams S. Conservative management of retinal breaks. A follow-up study of subsequent retinal detachment. *Br J Ophthalmol* 1972; 56:482-486.
- 35) Byer NE. Long-term natural history of lattice degeneration of the retina. *Ophthalmology* 1989; 96:1396-1402.
- 36) Javitt JC, Tielsch JM, Canner JK et al. National outcomes of cataract extraction: increased risk of retinal complications associated with Nd-YAG laser capsulotomy. *Am J Ophthalmol* 1991; 112:373-380.
- 37) Preferred Practice Pattern. American Academy of Ophthalmology. Precursors of exogenous retinal detachment. 1994.
- 38) Javitt JC, Vital S, Canner JK et al.. National outcomes of cataract extraction: retinal detachment after inpatient surgery. *Ophthalmology* 1991; 98:895-902.
- 39) Ruwan A. Silva, Mark S. Blumenkranz. Prophylaxis for Retinal Detachments. American Academy of Ophthalmology. OCT 29, 2013 <https://www.aao.org/...laser.../prophylaxis-retinal-detachments>.



CAPITOLO 18

EVOLUZIONE DELLA FOTOGRAFIA RETINICA E IMAGING WIDEFIELD

INTRODUZIONE

La fotografia retinica ha oltre un secolo di vita. *Lucien Howe* (1848-1928) fisico americano, professore di Oftalmologia all'Università di Buffalo, presidente della American Ophthalmological Society e fondatore dell'Howe Laboratory of Ophthalmology presso l'Università di Harvard, molto ha contribuito al progresso di tale tecnica, ottenendo prestigiosi premi e numerose medaglie da molti organismi nazionali ed internazionali.

Howe, prima di ritornare definitivamente negli USA, insieme al suo assistente *Elmer Starr*, ha compiuto numerosi studi sulla fotografia retinica in Germania ad Heidelberg, collaborando con *Hermann von Helmholtz* (1821-1894), scienziato poliedrico, tra i più conosciuti e valorosi del suo tempo, tanto da meritare l'appellativo di "*Can-celliere della fisica*".

In occasione della riunione della Società Transamericana nel 1887, nell'articolo "*Photographs of the interior of the eye*", Howe descrisse dettagliatamente la tecnica fotografica del fondo oculare e pubblicò un'immagine della retina definendola "*first recognizable fundus photograph*".

I primi tentativi per ottenere l'immagine interna del bulbo furono attuati con un bruciatore Bunsen.

Come descrive lo stesso Lucien Howe, l'esame risultava così doloroso da ricorrere alla somministrazione di cocaina:

"*The heat was so intense that we had to use topical cocaine to keep the patient from twisting in pain*" [1].

S. Duke-Elder fa risalire ad Adrian C. Van Trigh, mezzo secolo prima, l'illustrazione a colori della retina:

"*The first coloured printed illustration of the fundus of the eye which appeared in the thesis of Adrian Christopher Van Trigh (1825-64), Dissertatio Ophthalmologica Inauguralis de Speculo Oculi in 1853...*" [2,3] (fig. 1).

La prima fotografia del fondo oculare dalla maggior parte della letteratura è tuttavia attribuita

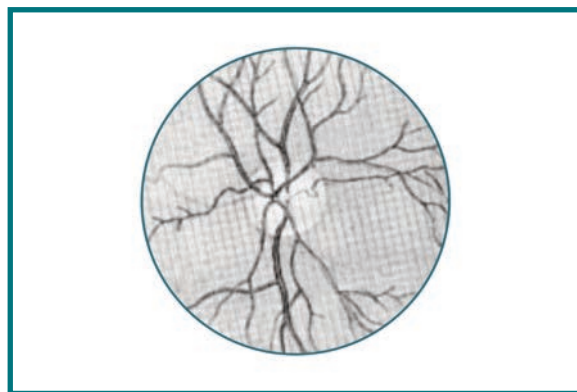


Fig. 1 - Illustrazione del fondo oculare in bianco e nero attribuita a Van Trigh e disegnata originalmente a colori nel 1853 (reproduced from Duke-Elder, 1967).

ai dottori *W.T. Jackman* e *J.D. Webster*, apparsa un anno prima (1886) della relazione di Howe sul "*Philadephya Photografer*" [4] (fig. 2).

Quest'immagine ottenuta dopo 2,5 minuti di esposizione con un bruciatore a carbonio (albo-carbon burner) e un rudimentale oftalmoscopio mostrava solo il nervo ottico.

La disputa su chi fu effettivamente il primo a fotografare e pubblicare l'immagine del fondo oculare è tuttora aperta e non definita.

All'inizio del Ventesimo Secolo, nel 1927, *Frederick Dimmer* ideò, dopo studi iniziati nel 1889 e completati nel 1904, un prototipo di fundus camera che permetteva una fotografia della retina ripetibile e di buona qualità; lo strumento molto ingombrante non venne però mai prodotto in serie [5-7].



Fig. 2 - Prima fotografia del fondo oculare e della rudimentale Fundus Camera attribuita dalla maggior parte della letteratura a W.T. Jackman e J.D. Webster, apparsa un anno prima (1886) della relazione di Howe sul "*Philadephya Photografer*".

IMAGING RETINICO MODERNO

La prima effettiva fundus camera basata sui principi dell'ottica geometrica dell'oculista svedese e premio Nobel per la Medicina (1911) *Allvar Gullstrand* (1862-1930), fu progettata nel 1925 da *J.W. Nordenson*, e un anno dopo realizzata dalla ditta Carl Zeiss (figg. 3a,3b).

Questo device era caratterizzato inizialmente da un'apertura angolare di 10 gradi, raddoppiata in breve tempo a 20 gradi e, dopo lunga elaborazione, portata a 30 gradi, standard nella retinografia fino all'ETDRS degli anni Ottanta [8] (*).

Utilizzava un'esposizione di 0,5 secondi e un color film come pellicola con indubbi benefici per la definizione, gli artefatti da movimento e i minori danni retinici da esposizione.

Il problema principale della fotografia del fondo oculare era l'illuminazione del polo posteriore, fino agli anni Trenta non ottenibile in modo soddisfacente.

Inizialmente la luce di ritorno era infatti solo il 10% rispetto a quell'inviata; la dilatazione pupillare fu perciò in quegli anni la regola.

Altri limiti non meno importanti erano il tempo d'esposizione, già migliorato da 2,5 a 0,5 secondi, e la qualità delle pellicole.

* L'ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) è stato uno studio clinico multicentrico sostenuto dal NEI (National Eye Institute) randomizzato, progettato per valutare l'efficacia della fotocoagulazione con argon laser verso il trattamento con aspirina, nella gestione di pazienti con retinopatia diabetica non proliferante NPDR (Non-Proliferative Diabetic Retinopathy) o precocemente proliferante HR-PDR (High-Risk Proliferative Diabetic Retinopathy). Iniziato nel dicembre 1979, completato nel giugno 1985 con follow-up nel 1988, e pubblicato nel 1991, l'ETDRS ha coinvolto 22 centri, 3.711 pazienti tra 18 e 70 anni di entrambi i sessi, seguiti per un tempo minimo di 4 anni, senza precedenti trattamenti laser con un visus uguale o superiore a 20/40. I criteri di eleggibilità includevano un ampio range di aspetti retinici della malattia, dall'edema maculare severo con visus di 20/200, agli essudati duri di piccole o grandi dimensioni. L'efficacia dell'aspirina si basava sull'osservazione che i diabetici in terapia con grandi dosi di tale molecola per concomitante artrite reumatoide, mostravano minore prevalenza di lesioni vascolari retiniche rispetto ai diabetici senza malattie reumatiche. Le considerazioni sull'aggregazione piastrinica e la chiusura dei capillari migliorata dall'aspirina in vitro sono state attentamente valutate, controllate e monitorate in questo studio. I pazienti sono stati assegnati casualmente alla terapia con aspirina (650 mg al giorno) o al placebo [9]. Un occhio di ciascun paziente è stato assegnato, in modo del tutto casuale, al trattamento fotocoagulativo argon laser focale in macula (focal macular laser) o esteso in periferia (peripheral scatter laser), mentre l'occhio adelfo veniva osservato con differimento della fotocoagulazione; entrambi gli occhi dovevano essere esaminati almeno ogni 4 mesi. La fotocoagulazione era effettuata negli occhi assegnati al differimento non appena si



Fig. 3a - Brochure della Reflex free Retinal Camera after Nordenson Zeiss, Price \$ 768 f.o.b. N.Y.



Fig. 3b - Fundus Camera Zeiss progettata da J.W. Nordenson.

rilevava retinopatia proliferativa ad alto rischio. L'uso di aspirina non ha influenzato la progressione della retinopatia nella fase proliferativa ad alto rischio negli occhi assegnati al differimento fotocoagulativo, non ha aumentato il rischio di emorragia vitreale, non ha influenzato il visus; si è invece constatata l'associazione tra l'assunzione dell'aspirina e un minor rischio di malattie cardiovascolari [9]. Lo studio ha concluso che per i pazienti con retinopatia diabetica non proliferativa o proliferativa da lieve a grave, era probabile che l'aspirina non avesse effetti benefici clinicamente importanti sulla progressione della retinopatia; non vi erano tuttavia controindicazioni oculari al suo uso se richiesto per malattie cardiovascolari o per altre indicazioni mediche. Inoltre ha dimostrato che il laser maculare focale riduce il rischio di una perdita moderata della vista fino al 50% negli occhi con "edema maculare clinicamente significativo", oltre l'utilità del trattamento argon laser con una minor perdita di visus statisticamente significativa per gli occhi trattati precocemente sulla retina periferica, più evidente per i non insulino-dipendenti. Tuttavia il trattamento laser poteva essere differito fino alla comparsa di una retinopatia intermedia/ moderata non proliferativa; la fotocoagulazione doveva essere invece eseguita senza indugio in quasi tutti gli occhi con retinopatia proliferativa ad alto rischio. Infine la vitrectomia precoce era presa in considerazione nella retinopatia diabetica proliferativa attiva avanzata; tutti i pazienti con retinopatia diabetica dovevano sempre e comunque ricevere un attento e stretto follow-up [10]. L'imaging retinico utilizzato da questo trials comprendeva una fotografia a 7 campi che oltrepassava le arcate vascolari. Tale metodica permise una migliore diagnosi e trattamento della retinopatia diabetica e venne utilizzata presto come standard in molte patologie corioretiniche.

L'ingegnere americano *Harold Edgerton* nel 1930, con l'invenzione del flash stroboscopico (στροβός vortice e scopio), permise il passaggio alla fotografia ad alta risoluzione, tanto da essere conosciuto come *"l'uomo che ferma il tempo"*.

Il time to market dall'ideazione alla commercializzazione per le fundus cameras serie FF Zeiss negli anni Trenta era ormai terminato.

Queste prime FF, in vendita al prezzo di \$ 768 f.o.b. N.Y. (free on board, New York), permettevano di fotografare nervo ottico e area maculare fino alle arcate vascolari, target definitivo dell'imaging per le patologie neuroretiniche.

Da allora le funzionalità delle fundus camera sono notevolmente migliorate con device non-mydratic, l'illuminazione elettronica, l'allineamento automatico degli occhi e l'acquisizione digitale ad alta risoluzione.

EVOLUZIONE DELL'IMAGING RETINICO

L'imaging del polo posteriore delle comuni fundus camera ha una copertura da 45 a 60 gradi. Gli anni Ottanta hanno visto lo sviluppo e il plateau della fotografia retinica, con commercializzazione di numerosi devices capaci di fotografare non molto oltre le arcate vascolari retiniche [11, 12].

Nel Settembre del 1980 *Robert H. Webb et al.* descrissero una nuova tecnica per fotografare la retina, la *"flying spot TV ophthalmoscope"*.

La fonte luminosa era costituita da luce laser che scannerizzava la retina (raster pattern), mentre l'immagine di ritorno era catturata da una videocamera: era nato il primo SLO Scanning Laser Ophthalmoscope.

Questa tecnologia ridusse l'intensità dell'illuminazione rispetto alle tradizionali fundus camera, visualizzando anche immagini in movimento.

Lo SLO, sviluppato da Carl Zeiss e Rodenstock nei primi anni Novanta, inizialmente non ha avuto grande diffusione per l'alto costo di produzione.

La Heidelberg Engineering introdusse poco dopo l'HRT che, al contrario, ha avuto largo successo commerciale per l'alto contrasto e l'ottima risoluzione, anche in presenza di opacità di media entità dei mezzi diottrici.

L'HRT è poco influenzato dalla dilatazione pupillare per il concorso dello SLO con le ottiche confocali, cSLO.

L'indagine fotografica retinica è ritenuta da più tempo indispensabile nella diagnosi e follow-up delle più frequenti e pericolose patologie neuroretiniche, tra tutte per frequenza glaucoma e maculopatie.

La retina periferica non compresa dalla fotografia standard è stata poco considerata dalla letteratura nelle patologie riguardanti il polo posteriore fino allo studio ETDRS.

Sempre più risultati emergenti dall'esperienza clinica e dalla ricerca in numerose patologie corioretiniche sostengono l'esigenza di un esame fotografico oltre le arcate vascolari, con riscontri che correlano patologie del polo posteriore alla retina periferica.

Quest'esigenza di documentare il più possibile tutta la neuroretina si rafforza oggi ancor di più per le crescenti esigenze medico-legali e assicurative.

L'apertura del campo retinico con il montaggio 7-Field da 30 gradi, standard fotografico ETDRS, copre un angolo di circa 75 gradi [9, 10].

Per fotografare bene i sette campi si effettuano tre scatti sull'asse orizzontale, papilla ottica, macula e area temporale alla macula, un quarto e quinto scatto sull'area supero-temporale ed infero-temporale e infine un sesto e settimo scatto sull'area supero-nasale e infero-nasale (fig. 4).

Il software monta le singole foto con un'imaging finale di 60/75 gradi circa, sovrapponendo automaticamente aree retiniche simili.

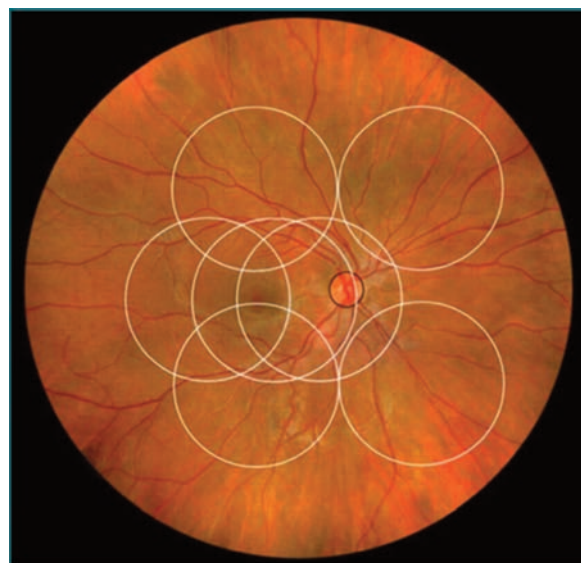


Fig. 4 - 7-Field ETDRS.

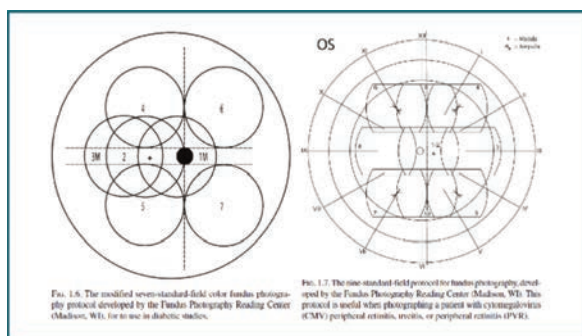


Fig. 5 - Aree retiniche 7-Field e 9-Field (by Arevalo JF).

In particolare i campi uno→tre coprono 60 gradi, mentre gli altri aggiungono 45 gradi in sovrapposizione; site to site si possono raggiungere 90 gradi.

Clark TM. nel 2008, nel primo capitolo del libro di Arevalo JF *“Retinal Angiography and Optical Coherence Tomography”*, illustra e discute sull’imaging fotografico a 9 campi, protocollo fotografico necessario per una corretta diagnosi e follow-up di molte retiniti periferiche, dall’infezione da citomegalovirus/AIDS (cytomegalovirus retinitis CMVR/AIDS) a molte uveiti [13]. Per i 9 campi sono necessarie fundus camera da 50/60 gradi.

Il Fundus Photography Reading Center FPRC dell’Università del Wisconsin è il centro di riferimento negli USA per le più importanti istituzioni accademiche, fondazioni, aziende farmaceutiche, biotecnologiche, il NEI National Eye Institute, il National Institute of Diabetes and Digestive Kidney Diseases, il Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, oltre che per il Dipartimento della Difesa.

Questo prestigioso centro d’imaging ha messo a punto i software per il 9-Field e il 7-Field modificato, ampiamente utilizzati ed accettati dalla letteratura scientifica internazionale (fig. 5).

WIDEFIELD & ULTRA-WIDEFIELD

La tradizionale oftalmoscopia utilizza la parte periferica più ampia dell’area pupillare come via d’entrata della luce; la parte centrale, più piccola, serve da ricezione con una qualità finale d’imaging non lusinghiera.

Lo SLO, inizialmente descritto nel 1980 da Robert H. Webb, G.W. Harghies e O. Pomerantzeff, utilizza un fascio laser (laser beam) di potenza < 100 mi-

croW al posto del flash, confocal pinhole lungo il percorso ottico e beam-splitters migliorando molto la risoluzione finale dell’imaging retinico [11].

La rimozione delle interferenze provenienti dai piani adiacenti alla focalizzazione impedisce alla luce riflessa dalle zone fuori fuoco di interferire sul fotomoltiplicatore, che trasforma l’intensità luminosa in segnale elettrico.

Nel sistema SLO, rispetto alla fotografia tradizionale, l’illuminazione e l’osservazione nel percorso dell’area pupillare sono invertite.

Il fascio laser utilizza circa 1/100 dell’area pupillare centrale (0.50 mm²); l’area periferica (50 mm²) è percorsa dalla luce riflessa dalla retina.

Il risultato è una migliore risoluzione delle immagini, minore intensità di luce utilizzata e aumentata sicurezza, grazie anche alla diminuzione della componente blue-light ad alta energia, tra 380 nm e 500 nm, HEV ligh (High Energy Visibile ligh) [11] [14].

W. Lotmar descrisse nel 1977 la possibilità di ottenere un’imaging retinico di 96 gradi con illuminazione mobile e montaggio di 19 frame [15]. Tale metodica, possibile solo con buona cooperazione del paziente, ampia dilatazione pupillare, lunghi tempi d’esecuzione e grande capacità dell’operatore, di fatto non è proponibile nella pratica clinica di tutti i giorni.

Negli ultimi anni sono stati proposti numerosi devices e studiate varie metodiche per ottenere un’imaging Widefield e Ultra-Widefield della retina.

I più importanti sistemi sono:

- Equator-plus camera di Pomerantzeff-148°→1975 [16]
- RetCam-130°→1977 [17-19]
- Panoret-1000-130°→2002 [20]
- Staurenghi lens-150°→2004 [21, 22]

Questi devices permettono una fotografia retinica con FoV Field of View tra 100 e 160 gradi circa.

Comunemente una fotografia retinica con FoV ≥ 50 gradi è definita Widefield WF imaging, con un FoV

≥ 100 gradi Ultra-Widefield UWF imaging.

Sono in commercio nuove fundus camera che con uno/due scatti e montaggio automatico coprono un FoV ~ 200 gradi (Optos e Zeiss), mentre con 6 scatti e montaggio manuale arrivano ad un FoV ~ 267 gradi nasale/temporale (Clarus Zeiss 500) [23] (fig. 6).

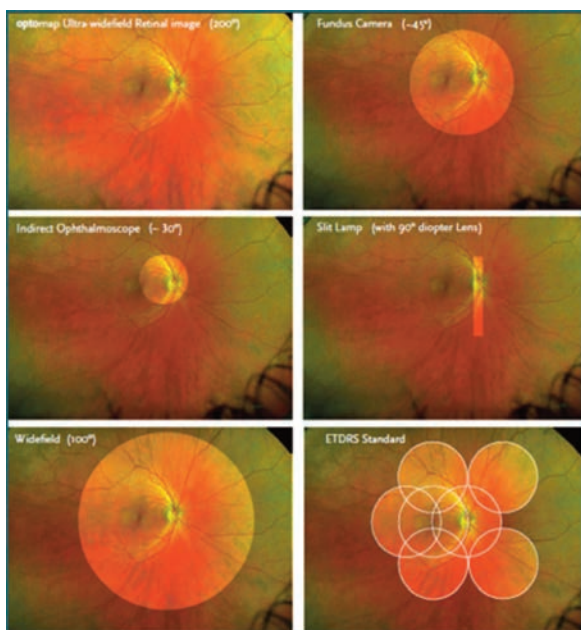


Fig. 6 - Confronto del FoV OPTOS con altri metodi e device (by Comparison of Fields of View An optomap retinal image compared to conventional devices in a single capture).

CONSIDERAZIONI SUL FOV

L'occhio umano lo possiamo approssimare ad una sfera con angolo giro di 360 gradi.

Per un'apertura di 180 gradi, fino all'equatore, l'area retinica è teoricamente fotografabile con dilatazione pupillare medio-ampia, anche se, fino all'avvento dell'UWF, non è stato facile raggiungere un tale FoV. Esistono due metodiche per misurare l'apertura angolare FoV: la prima ha il centro nell'area pupillare, la seconda pone il suo centro goniometrico all'interno del bulbo oculare, all'inserzione tra equatore e asse anatomico (asse ottico).

L'esistenza di questa doppia scala di misura angolare, poco nota, genera facile confusione.

Il centro nell'area pupillare è utilizzato dai sistemi ottici con lente a contatto, non può superare i 180 gradi ed è conforme alle norme ISO 10940 (International Organization for Standardization).

Tali norme riguardano gli strumenti oftalmici e ottici (ISO 10940 was prepared by Technical Committee ISO/TC 172, Optics and photonics, Subcommittee SC 7, Ophthalmic optics and instruments).

La seconda metodica ha come centro goniometrico il centro del bulbo oculare e permette di andare oltre l'equatore.

Con tale metodica l'apice dell'angolo goniometrico si avvicina alla retina e il FoV è inevitabilmente

maggiore. Per fare un esempio, con il Clarus 500 Zeiss che utilizzo da qualche mese, un solo scatto (one shot) copre un'area retinica di 90 gradi secondo ISO 10940, oppure 133 gradi considerando il centro goniometrico nel bulbo oculare (figg. 7a,7b) [24].

Naturalmente le due aree sono sovrapponibili per estensione retinica.

Le curiosità tecniche e i calcoli possibili utilizzando i devices UWF sono molteplici.

Un bulbo oculare emmetrope teorico ha un diametro antero-posteriore ~ 24 mm e una lunghezza della circonferenza $\sim 2 \pi r = 2 \times 3,14 \times 12 = 75,36$ mm (secondo molti autorevoli testi di anatomia, tra i quali Testut, Zaccheo, Bonnet, Orzalesi, le dimensioni del bulbo oculare umano sono: diametro trasverso 23,5 mm; diametro verticale 23 mm; diametro antero-posteriore o asse dell'occhio 25-26 mm; la sua forma ricalca un ellissoide triassiale).

Una fotografia con FoV di 180 gradi copre un'emisfero di lunghezza $\sim 37,68$ mm ($75,36/2$); l'area retinica della sfera con raggio 12 mm $= 4 \pi r^2 = 4 \times 3,14 \times 12^2 \sim 1808$ mm²; l'area dell'emisfera è di conseguenza $\frac{1}{2}$ di 1808 mm² ~ 904 mm².

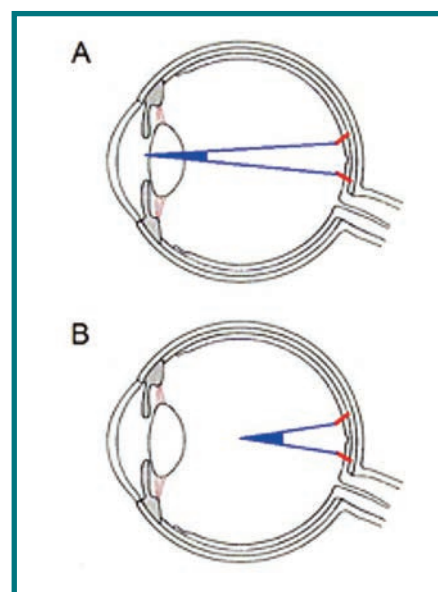


Fig. 7a - FoV secondo i due centri goniometrici.

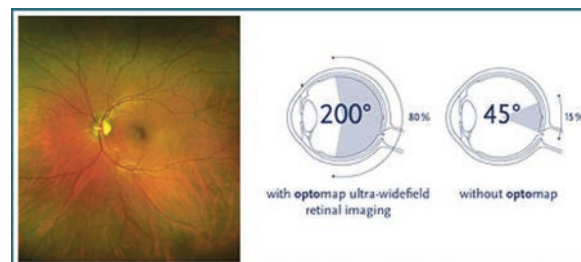


Fig. 7b - Optos Wide-Field Retinal Image e confronto FoV 45° / 200° (by Vision Source Signature eye care, Orland Park).

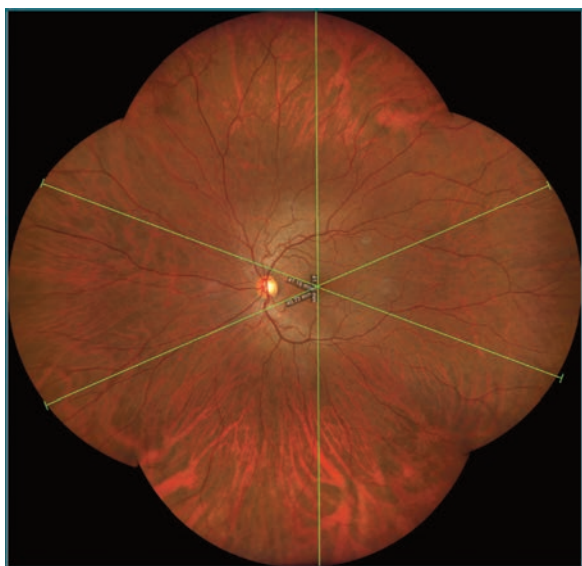


Fig. 8 - Montaggio automatico four shot (FoV 200° wide by 200° tall) con Clarus 500 Zeiss occhio emmetrope. La lunghezza misurabile è ~ 41 mm da estremo ad estremo.

Con il Clarus 500 Zeiss, da estremo nasale a temporale, due foto (two shots), montaggio automatico e FoV ~ 200 gradi, la distanza lineare riscontrabile è quasi sempre > di 40 mm.

I dati numerici quindi tornano: ~ 37,68 mm è la lunghezza dell'emicirconferenza teorica con FoV di 180 gradi; ~ 40 mm è la lunghezza da estremo nasale-temporale con FoV ~ 200 gradi, lunghezza riscontrabile anche tra ore 12 ed ore 6 dopo montaggio di 4 foto in automatico (fig. 8).

Altri intriganti quesiti che emergono utilizzando UWF sono la misura FoV da ora serrata ad ora serrata di un bulbo emmetrope e, di conseguenza, l'angolo non compreso dall'attuale imaging UWF, non fotografabile.

La Zeiss dichiara che il Clarus 500 può coprire un'area ~ 267 gradi con montaggio manuale di 6 scatti (six shots).

Partiamo da un bulbo oculare per semplicità simile ad una sfera teorica, con diametro ~ 24 mm, e consideriamo il centro angolare al centro del bulbo oculare (fuori dalle norme ISO).

La distanza bianco-bianco corneale è ~ 12 mm, l'arco corneale sotteso a tale corda è lungo 1/6 di tutta la circonferenza ($75,36 : 6 = \sim 12,56$ mm), i raggi della sfera considerata sono ~ 12 mm.

Se consideriamo inoltre che un corpo ciliare è lungo ~ 6 mm (Testut et al.), e sottraiamo dalla circonferenza ~ 75,36 mm l'arco corneale ~ 12,56 mm + i due corpi ciliari (~ 6 mm x 2), troviamo una lunghezza residua: $75,36 - [12,56 + (6 + 6)] = \sim 50,8$ mm,

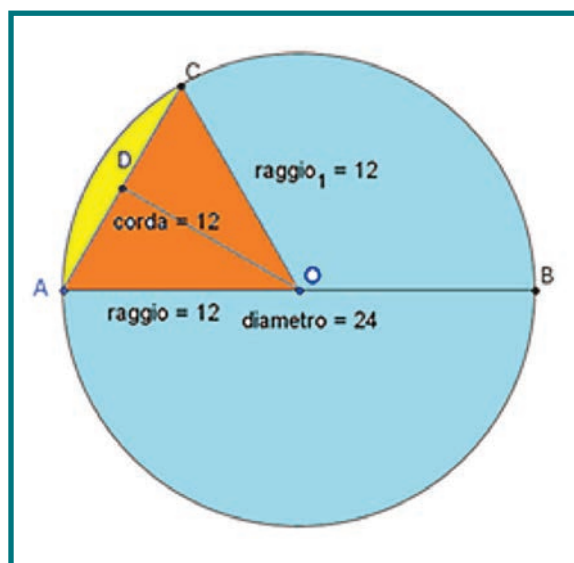


Fig. 9 - Cerchio considerato nel testo.

corrispondente alla lunghezza interna della emisfera residua da ora serrata ad ora serrata (~).

Inoltre, il triangolo equilatero con apice nel centro del bulbo, tre lati coincidenti ai raggi ~ 12 mm, di cui uno è il segmento bianco-bianco, ha gli angoli tutti ~ 60 gradi (equilatero/equiangolo; corda corneale 1/6 della circonferenza, angolo corrispondente 60°; $360^\circ : 6 \sim 60^\circ$) (fig. 9).

Se si aggiunge alla lunghezza lineare dei due corpi ciliari (~ 6 mm x 2) l'arco corneale (~ 12,56 mm) troviamo un arco complessivo di ~ 24,56 mm (da ora serrata ad ora serrata, passando per l'arco corneale), e un angolo sotteso a tale settore circolare ~ 117,32 gradi, facilmente ottenibile: $(75,36 : 360 = 24,56 : x; x = \sim 117,32^\circ)$.

Di conseguenza, le misure teoricamente fotografabili, pur se arrivassero fino all'ora serrata, sono inferiori da quelle riferite: $360^\circ - 117,32^\circ = \sim 242,68^\circ$, anche considerando le molte approssimazioni di questi calcoli (~). In una presentazione di Jean-François Korobelnik dell'Università di Bordeaux per Zeiss all'ora serrata è assegnato un FoV pari a 230 gradi [25].

Dalla mia esperienza e dall'imaging riscontrabile, anche con montaggio six shots, non si arriva a fotografare molto oltre le vene vorticosi, tranne che facendo forzare lo sguardo al paziente. Pertanto, l'esame accurato della periferia retinica resta fondamentale. La discussione è comunque tutta aperta al confronto, sicuramente proficua con la diffusione dei devices UWF.

DEVICES ULTRA-WIDEFIELD NO-CONTACT

In commercio sono disponibili pochi devices UWF. I primi in mercato dal Duemila sono stati gli Optos, disponibili in più versioni, Daytona, Daytona Plus e California af – fa – icg.

L'ultimo device disponibile sul mercato europeo dal 2018 è il Clarus 500 Zeiss, e da poco anche Clarus 700 con fluoroangiografia.

La Heidelberg (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) con il modulo UWF non a contatto, che si adatta alla testa degli HRA cSLO, ha reso possibile l'ampliamento del FoV fino a 55 gradi per FA, ICGA e FAF, con grande beneficio per i suoi devices, i più utilizzati nell'imaging retinico con colorante [26].

Altri sistemi WF sono Eidon (CenterVue, Padova, Italy), F-10 Nidek (Nidek, Gamagori, Japan), e il wide-angle Canon (Canon, USA). Questi devices permettono immagini ~ 60 gradi.

Gli Optos Fundus camera (Optos 200Tx, Dunfermline, UK) sono cSLO con ottiche migliorate da beam-splitters e aperture confocali.

Questi devices permettono FoV ~ 200 gradi e, da poco tempo, con software advance, FoV ~ 220 gradi; la Optos riferisce di coprire 82% circa della superficie retinica (82% di 360° ~ 295°) [27, 28].

I devices Optos utilizzano uno specchio ellissoidale, un galvanometro oscillante ad altissima sensibilità e varie sorgenti laser con lunghezza di 532 nm e 633 nm per immagini digitali two-color verde e rosso, 488 nm blue per autofluorescenza FAF, e un laser a 805 nm per infrarosso/indocianina.

Hanno 20 pixel di risoluzione per grado angolare, tempo di scatto 0,25 secondi e necessitano di 2 mm come apertura minima pupillare [29] (**fig. 10**).

Il Clarus 500 UWF Zeiss, sul mercato USA da Settembre 2017 e dai primi mesi di quest'anno in Europa, utilizza tre LED ad ampio spettro (RGB Channel) e un laser a diodi (IR laser diode) a 785nm. Il canale Red Channel 585–640nm è indicato particolarmente per evidenziare i vasi retinici,

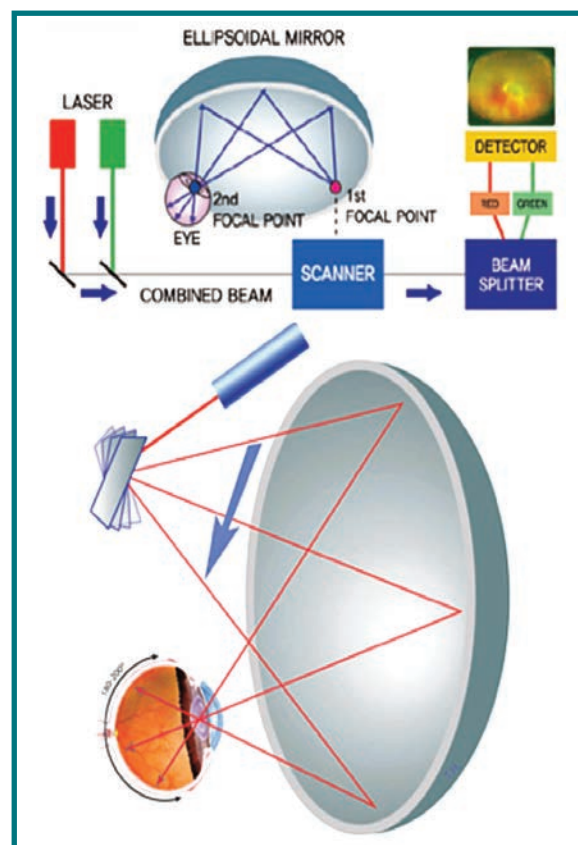


Fig. 10 - Schema di funzionamento di Optos.

coroideali e l'EPR; il canale Green Channel 500–585nm è utile per evidenziare le emorragie e i fori maculari; il canale Blue Channel 435–500nm è più idoneo per visualizzare le patologie epiretينية e i difetti delle fibre ottiche [30].

Una luce rettangolare spazza tutta la retina rapidamente, metodologia denominata Broad Line Fundus Imaging (BLFI; US Patent No 9.456,746 B2, date of Patent Oct. 4, 2016; Bulblitz et al.) e, con ottiche confocali modificate, ottiene una riduzione notevole dei riflessi dovuti ai mezzi diottrici attraversati e annulla l'effetto dello sbiancamento generato dalla papilla ottica, permettendo un'imaging in presenza di opacità di media entità, specie a carico del cristallino in meno di 0,2 secondi (**fig. 11**).

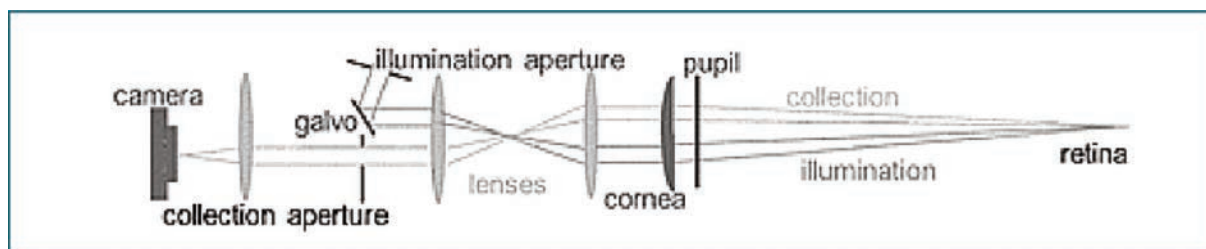


Fig. 11 - Broad Line Fundus Imaging utilizzato da Clarus 500 Zeiss.



Fig. 12 - FoV 133° x 133° occhio emmetrope one shot con Clarus 500 Zeiss. Lunghezza misurabile da estremo ad estremo S-I-N-T è ~ 27 mm.

Questo nuovo UWF capace di catturare FAF Green e Blue molto dettagliate, ha un sensore di 12 megapixel, 7 micron di risoluzione con apertura pupillare $\leq 2,5$ mm.

La FAF Green (FAF-G) è utile per lo studio delle maculopatie in genere, mentre la FAF Blue (FAF-B) aumenta le informazioni per la forma geografica.

L'illuminazione a laser infrarosso IR trova indicazione per l'indagine sulla coroide e per visualizzare le ghiandole di meibomio nella sindrome dry eye.

Il Clarus 500 Zeiss può scattare un'immagine singola con FoV di larghezza (wide) ed altezza (high) ~ 133 gradi (one shot), da preferire per le patologie del polo posteriore (fig. 12).

In automontaggio si può optare per due immagini (two shots), FoV ~ 200 x 133 gradi (200° wide by 133° high) (figg. 13a,13b), oppure per quattro immagini (four shots), FoV ~ 200 x 200 gradi (200° wide by 200° tall) (fig. 8); infine si può allargare ulteriormente ~ 267° con montaggio manuale (six shots), molto utile nelle patologie corioretiniche più estese [29] (fig. 14).

Clarus 500 è capace ancora di scattare fotografie stereo della papilla ottica ed esterne della regione orbitaria; Clarus 700 completo di FA/ICG è disponibile da fine 2019 [31].



Fig. 13a - FoV (200° wide by 133° high) con Clarus 500 Zeiss. Confronto d'imaging con altri FoV e con ETDRS.



Fig. 13b - FoV (200° wide by 133° high) con misure lineari ottenibili.



Fig. 14 - Six Shot con FoV fino a 267°. La lunghezza misurabile site to site è ~ 47/49 mm. Si può notare il confronto con l'area retinica ~ 45°.

PERFORMANCE DELL'IMAGING ULTRA-WIDEFIELD

Importanti osservazioni cliniche in molteplici patologie stanno testimoniando sempre più l'importanza dell'imaging UWF come un valore diagnostico e prognostico imprescindibile.

La retinopatia diabetica RD, le uveiti, le occlusioni vascolari, i tumori endoculari, la retinopatia del prematuro, le degenerazioni periferiche con o senza rotture retiniche e presenza di distacco di retina, oltre che le patologie del polo posteriore, testimoniano sempre più l'efficacia di tale modalità d'imaging [32].

Patel RD, Wessel MM et al. confermano insieme a molte altre ricerche pubblicate da tempo, che l'ischemia retinica può indurre e sostenere l'edema maculare diabetico.

In particolare si è dimostrata l'associazione tra la non perfusione retinica periferica, con o senza neovasi presenti, e l'entità e la persistenza del DME [33, 34].

L'avvento della UWFA Ultra-Widefield Fluorescein Angiography ha permesso una più attenta valutazione dei processi vascolari corioretinici, indicando nuove vie di trattamento per il DME [35].

La modalità di trattamento laser denominata TRP Targeted Retinal Photocoagulation potrebbe sostituire nella DR avanzata con DME la panfotocoagulazione retinica e le inevitabili sue sequele.

Un trattamento selettivo delle aree retiniche sorgenti di VEGF suggerisce la positiva combinazione tra laser maculare, TRP e anti-VEGF [36].

Wessel et al. già nel 2012 hanno affermato l'importanza dell'imaging UWF, nonostante in un loro lavoro di revisione della classificazione della DR affermino che non esiste relazione tra l'entità dell'ischemia e lo spessore maculare. Terminano ribadendo l'efficacia del trattamento TRP step-wise per la regressione dei neovasi retinici, e che l'utilizzo dell'UWFA aumenta del 10% l'area retinica interessata da alterazioni vasali nella DR, non evidenziabile con FA [37, 38].

Gupta V et al. suggeriscono che l'utilizzo di UWFA può allargare la possibilità di diagnosi nelle uveiti posteriori rispetto alla FA [39].

Numerosi altri autori individuano l'importanza dell'imaging UWF/UWFA per monitorare le aree di attività infiammatoria recenti o pregresse nelle uveiti, dimostrando la concordanza delle aree interessate con quelle scotomatose [40, 41].

Leder HA e Mesquida et al. hanno studiato e dimostrato l'utilità del UWF nelle vasculiti non infettive e nella Behçet.

I vasi retinici prequatoriali possono, dalle loro indagini e dalla letteratura, determinare spesso leakage, ischemia e NV, difficili da interpretare senza l'ausilio di una retinografia ad ampio campo [42, 43].

L'imaging UWF è stato molto apprezzato nelle occlusioni vascolari retiniche.

Prasad et al. già dal 2010 hanno studiato l'efficacia dell'UWFA nelle occlusioni di branca e emicentrali. Riferiscono che il UWF è essenziale per una migliore diagnosi, gestione e trattamento delle patologie vascolari, perché permette di individuare le aree non perfuse, delimitare in modo più accurato le aree target da fotocoagulare, aumentando la salvaguardia delle aree retiniche ancora perfuse [44].

Tsui et al. con l'imaging UWFA hanno cercato di stabilire un indice ischemico nelle occlusioni vascolari tra aree non perfuse e l'intera superficie retinica considerata, delimitando le aree ischemiche manualmente, con maggiore salvaguardia della retina sana [45].

Madhusudhan S. e Beare N., dissertando sulla patogenesi della AMD, hanno confermato l'importanza dell'ipossia e dell'ischemia tissutale della retina periferica come fattori patogenetici della AMD e di NV [46]. *Tan CS et al.* confermando queste ricerche, ribadiscono che forse l'indice più sensibile per l'AMD neovascolare è il riscontro di leakage retinico, più agevolmente evidenziabile in periferia con UWFA. Concludono però dicendo che l'associazione tra la non perfusione periferica e l'insorgenza di NV non è finora adeguatamente supportata da una significatività statisticamente rilevante [47].

La retinopatia del prematuro ROP ha beneficiato da tempo dell'imaging WF con l'utilizzo della RetCam, in uso nei Servizi di Neonatologia dagli anni Ottanta.

Patel CK et al. in una loro recente pubblicazione affermano che le Skip areas possono essere più agevolmente evidenziate con UWFA e trattate con laser e/o anti VEGF [48].

Le neoplasie oculari primarie o secondarie sono spesso reperibili nella retina periferica.

Reznicek L et al. hanno confermato e revisionato, alla luce dell'UWF e dell'autofluorescenza, gli studi di *Shields et al.* del 1995 [49, 50].

System	Fundus Illumination	Camera type	Field of view	Available to buy?	Pro's	Con's
'Equator Plus' Pomerantzeff camera	Transscleral	Contact	148°	No	■ First wide-field system	■ Not commercially available
Ret-Cam	Transpupillary	Contact	130°	Yes	■ Portable ■ Great on neonates and children	■ Poor imaging through lens opacities
Heidelberg HRA / Spectralis with Staurengli Lens	Transpupillary	Contact and non-contact options	150°	Yes	■ High resolution images ■ Patient comfort as imaging less bright ■ Video capabilities	■ Contact poses a risk of corneal insult ■ Limited to use by optometrist
Multi-Image montaging with traditional fundus camera	Transpupillary	Non-contact	Variable	Yes	■ Software modification of current system ■ Easy-to-learn technique ■ Auxiliary members of team capable of capturing images	■ Requires dilation due to multiple flashes ■ Artefacts ■ Time consuming
Eidon confocal scanner	Transpupillary	Non-contact	60° (H) x 55° (V) captured in a single exposure	Yes	■ Fully automated or manual modes	■ Lower field of view
Optos	Transpupillary	Non-contact	200° with once exposure	Yes	■ Single image capture to achieve 200° image ■ Easy to learn ■ Fast image capture	■ Pseudo-colour rendering ■ Requires cooperative patient ■ Artefacts (lids, lashes, lens and exposure)
Clarus 500	Transpupillary	Non-contact	133° (H) x 133° (V) in single exposure 200° (H) x 133° with two exposures	Yes	■ Easy-to-learn technique ■ Auxiliary members of team capable of capturing images ■ Fewer recaptures due to live IR view ■ True colour images ■ Anterior eye imaging including meibomian glands	■ Two image captures required to achieve 200°

Tabella 1 - Tabella riassuntiva con le caratteristiche di alcuni device WF e UWF.

Tali studi identificavano cinque criteri per la diagnosi differenziale tra melanoma maligno e nevo benigno della coroide: (1) la presenza di uno spessore > 2 mm, (2) fluido sottoretinico, (3) la presenza di sintomi clinici, (4) la colorazione orange sulla superficie della neoformazione, (5) la localizzazione ad una distanza di 3 mm dal nervo ottico [51].

Utilizzando UWF per individuare le lesioni periferiche corioretiniche e l'intensità dell'autofluorescenza, meno evidente nei melanomi rispetto ai nevi della coroide, gli autori hanno precisato che UWF facilita la diagnosi differenziale, ed esalta degli aspetti oftalmoscopici di Shields e collaboratori [50].

Le performances dell'UWF hanno trovato positiva applicazione inoltre nella malattia di Coats [52], di Von Hippel-Lindau [53] e nel distacco di retina, con maggiori tutele anche in campo medico-legale.

PROSPETTIVE FUTURE

L'imaging WF e UWF è ormai una realtà diagnostica, una rivoluzione nell'Oftalmologia mondiale, che ha contagiato anche degli angio-OCT.

Gli sviluppi futuri, sicuramente ancora più importanti e la diffusione sempre più capillare, determineranno una più pronta diagnosi ed efficace prevenzione in molte malattie corioretiniche.

L'utilizzo di WF e UWF come esami imprescindibili in ogni visita oculistica si affermerà in tempi brevi, con benefici inestimabili in tutto il mondo e positive ricadute socio-economiche facilmente prevedibili.

La possibilità di un rapido sviluppo della telemedicina e di devices portatili come smartphone-based retinal camera con la trasmissione veloce e sicura dei dati digitali wireless, sicuramente potrà aiutare la diagnosi precoce anche nelle popolazioni lontane dai presidi sanitari d'eccellenza [54].

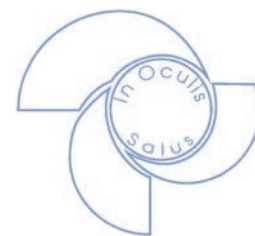
Lo sviluppo dell'UWF imaging, per ora non disponibile nei devices portatili, non potrà che aiutare il progresso nell'Oftalmologia, aumentando la sicurezza della diagnosi e favorendo le risposte terapeutiche più efficaci.

REFERENCES

- 1) Jans Fromow-Guerra-. The evolution of Confocal Scanning Laser ophthalmoscopy. *Retina Today*, sept 2012 63-4.
- 2) L. Howe. "Photographs of the interior of the eye". *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1887; 4:568-71.
- 3) Duke-Elder S. *System of Ophthalmology*; St. Louis: CV Mosby, 1961; Vol II:2-3.
- 4) Jackson W.T., Webster J.D. *On Photographing the Retina on the Living Human Eye.* Photographer, Philadelphia 1886; 23:265-76.
- 5) Dimmer F. *Ueber die Photographie des Augenhintergrundes.* Wiesbaden, Germany: Bergmann, 1907.
- 6) Dimmer F. *Der Augenspiegel und die Ophthalmoskopische Diagnostik.* Leipzig, Germany: F. Deuticke, 1921.
- 7) Dimmer F, Pillat A. *Atlas photographischer Bilder des Menschlichen Augenhintergrundes.* Leipzig, Germany: F. Deuticke, 1927.
- 8) Nordenson J.W. *Augenkamera zum stationärem Ophthalmoskop von Gulstrand Berl. Dtsch. Ophthalm* 1925; Ges. 45. 278.
- 9) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00000151>.
- 10) Diabetic retinopathy study. Report Number 6. Design, methods, and baseline results. Report Number 7. A modification of the Airlie House classification of diabetic retinopathy. Prepared by the Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981; 21(1 Pt 2):1-226.
- 11) RH Webb, GW Hughes, O Pomerantzeff. *Flying Spot TV Ophthalmoscope.* *Appl Opt* 1980 Sep; 19(17):2991-7.
- 12) <https://www.opticianonline.net/cet-archive/188>.
- 13) Clark TM. Retinal photography and angiography via film and digital imaging techniques. In: Arevalo JF, ed. *Retinal angiography and optical coherence tomography*, 1st ed. New York: Springer, 2008; chap. 1.
- 14) <https://www.aoa.org/Documents/CRG/Blue%20Light%20and%20Eye%20Damage.pdf>
- 15) Lotmar W. A fixation lamp for panoramic fundus pictures (author's transl) [in German]. *Klin Monbl Augenheilkd* 1977; 170:767-74.
- 16) Pomerantzeff O. Equator-plus camera. *Invest Ophthalmol* 1975; 14:401-06.
- 17) Schwartz SD, Harrison SA, Ferrone PJ, Trese MT. Telemedical evaluation and management of retinopathy of prematurity using a fiberoptic digital fundus camera. *Ophthalmology* 2000; 107:25-8.
- 18) Wu C, Petersen RA, VanderVeen DK. RetCam imaging for retinopathy of prematurity screening. *J AAPOS* 2006; 10: 107-11.
- 19) Azad R, Chandra P, Khan MA, Darswal A. Role of intravenous fluorescein angiography in early detection and regression of retinopathy of prematurity. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2008; 45:36-9.
- 20) Pe'er J, Sancho C, Cantu J, et al. Measurement of choroidal melanoma basal diameter by wide-angle digital fundus camera: a comparison with ultrasound measurement. *Ophthalmologica* 2006; 220:194-7.
- 21) Staurengi G, Viola F, Mainster MA, et al. Scanning laser ophthalmoscopy and angiography with a wide-field contact lens system. *Arch Ophthalmol* 2005; 123:244-52.
- 22) Spaide RF, Orlock DA, Herrmann-Delemazure B, et al. Wide-angle indocyanine green angiography. *Retina* 1998; 18:44-9.
- 23) ULTRA-WIDE IMAGING True colour ultra-widefield imaging is now a reality in practice, writes independent optometrist Craig McArthur. *PRODUCT FOCUS* 2018, 16 March opticianonline. net.
- 24) <https://www.opticianonline.net/cet-archive/188>.
- 25) <https://eyetube.net/collection/zeiss-clinical/a-comparative-look-zeiss-clarus-500-versus-legacy-ultra-widefield-systems>.
- 26) Witmer MT, Parlitsis G, Patel S, Kiss S. Comparison of ultrawidefield fluorescein angiography with the Heidelberg Spectralis non-contact ultra-widefield module versus the Optos optomap. *Clin Ophthalmol* 2013; 7:389-94.
- 27) Shouhy SS, Arevalo JF, Kozak I. Update on wideand ultra-widefield retinal imaging. *Indian J Ophthalmol.* 2015; 63:575-81.
- 28) Nagiel A, Lalane RA, Sadda SR, Schwartz SD. Ultra-widefield fundus imaging: a review of

- clinical applications and future trends. *Retina*. 2016; 36:660–78.
- 29) Seidensticker F, Neubauer AS, Wasfy T, et al. Wide-field fundus autofluorescence corresponds to visual fields in chorioretinitis patients. *Clin Ophthalmol*. 2011.
 - 30) https://www.zeiss.com/content/dam/Mediatec/us/products/clarus-500/brochures/zeiss_clarus_brochure_us-en_31_020_0005ii_web.pdf
 - 31) opticianonline.net; 1 OPTICIAN PRODUCT FOCUS 2018, 16 March.
 - 32) Samir S Shoughy, J Fernando Arevalo, Igor Kozak. Update on wide-and ultra-widefield retinal imaging. *Indian J of Ophthalmology* 2015.
 - 33) Patel RD, Messner LV, Teitelbaum B, Michel KA, Hariprasad SM. Characterization of ischemic index using ultra-widefield fluorescein angiography in patients with focal and diffuse recalcitrant diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2013; 155:1038-44.e2.
 - 34) Wessel MM, Nair N, Aaker GD, Ehrlich JR, D'Amico DJ, Kiss S. Peripheral retinal ischaemia, as evaluated by ultra-widefield fluorescein angiography, is associated with diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol* 2012; 96:694-8.
 - 35) Tan CS, Sadda SR, Hariprasad SM. Ultra-wide-field retinal imaging in the management of diabetic eye diseases. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2014; 45:363-6.
 - 36) Oliver SC, Schwartz SD. Ultra-widefield fluorescein angiography. In: Arevalo JF, editor. *Retinal Angiography and Optical Coherence Tomography*. New York: Springer Science and Business Media, LLC; 2009; 407-17.
 - 37) Wessel MM, Aaker GD, Parlitsis G, Cho M, D'Amico DJ, Kiss S. Ultra-wide-field angiography improves the detection and classification of diabetic retinopathy. *Retina* 2012; 32:785-91.
 - 38) Muqit MM, Marcellino GR, Henson DB, Young LB, Patton N, Charles SJ, et al. Optos-guided pattern scan laser (Pascal)-targeted retinal photocoagulation in proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* 2013; 91:251-8.
 - 39) Gupta V, Al-Dhibi HA, Arevalo JF. Retinal imaging in uveitis. *Saudi J Ophthalmol* 2014; 28:95-103.
 - 40) Campbell JP, Leder HA, Sepah YJ, Gan T, Dunn JP, Hatef E, et al. Wide-field retinal imaging in the management of noninfectious posterior uveitis. *Am J Ophthalmol* 2012; 154:908-11.e2.
 - 41) Seidensticker F, Neubauer AS, Wasfy T, Stumpf C, Thureau SR, Kampik A, et al. Wide-field fundus autofluorescence corresponds to visual fields in chorioretinitis patients. *Clin Ophthalmol* 2011; 5:1667-71.
 - 42) Leder HA, Campbell JP, Sepah YJ, Gan T, Dunn JP, Hatef E, et al. Ultra-wide-field retinal imaging in the management of non-infectious retinal vasculitis. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2013; 3:30.
 - 43) Mesquida M, Llorenç V, Fontenla JR, Navarro MJ, Adán A. Use of ultra-wide-field retinal imaging in the management of active Behçet retinal vasculitis. *Retina* 2014; 34:2121-7.
 - 44) Prasad PS, Oliver SC, Coffee RE, Hubschman JP, Schwartz SD. Ultra wide-field angiographic characteristics of branch retinal and hemicentral retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 2010; 117:780-4.
 - 45) Tsui I, Kaines A, Havunjian MA, Hubschman S, Heilweil G, Prasad PS, et al. Ischemic index and neovascularization in central retinal vein occlusion. *Retina* 2011; 31:105-10.
 - 46) Madhusudhan S, Beare N. Wide-field fluorescein angiography in wet age-related macular degeneration. *The Scientific World Journal Vol* 2014, Article ID 536161, 7 pages.
 - 47) Tan CS, Heussen F, Sadda SR. Peripheral autofluorescence and clinical findings in neovascular and non-neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2013; 120:1271-7.
 - 48) Patel CK, Fung TH, Muqit MM, Mordant DJ, Brett J, Smith L, et al. Non-contact ultra-widefield imaging of retinopathy of prematurity using the Optos dual wavelength scanning laser ophthalmoscope. *Eye (Lond)* 2013; 27:589-96.
 - 49) Reznicek L, Stumpf C, Seidensticker F, Kampik A, Neubauer AS, Kernt M. Role of wide-field autofluorescence imaging and scanning laser ophthalmoscopy in differentiation of choroidal pigmented lesions. *Int J Ophthalmol* 2014; 7:697-703.
 - 50) Shields CL, Shields JA, Kiratli H, De Potter P, Cater JR. Risk factors for growth and metastasis of small choroidal melanocytic lesions. *Ophthalmology* 1995; 102:1351-61.
 - 51) Kernt M, Schaller UC, Stumpf C, Ulbig MW, Kampik A, Neubauer AS. Choroidal pigmented lesions imaged by ultra-wide-field scanning

- laser ophthalmoscopy with two laser wavelengths (Optomap). Clin Ophthalmol 2010; 4:829-36.
- 52) Kang KB, Wessel MM, Tong J, D'Amico DJ, Chan RV. Ultra-widefield imaging for the management of pediatric retinal diseases. J Pediatr Ophthalmol Strabismus 2013; 50:282-8.
- 53) Haddad NM, Cavallerano JD, Silva PS. Von hippel-lindau disease: A genetic and clinical review. Semin Ophthalmol 2013; 28:377-86.
- 54) Maamari RN, Keenan JD, Fletcher DA, Margolis TP. A mobile phone-based retinal camera for portable wide field imaging. Br J Ophthalmol 2014; 98:438-41.



CAPITOLO 19

RETINOPATIA DIABETICA: OVERVIEW, NEW IMAGING E PROSPETTIVE FUTURE

INTRODUZIONE

Il diabete mellito è una patologia conosciuta fin dall'antichità, variamente denominata e descritta nelle sue specifiche caratteristiche semeiologiche.

Il termine diabete fu coniato da Areteo di Capadocia (81-133 d.C.) che si accorse della eccessiva produzione di urina in questi pazienti, deriva dal greco antico "*diabainein*" attraversare (dià = attraverso, baino = vado).

Galeno (129-200 d.C.) individuò il diabete come malattia che provocava gravi danni ai reni.

La differenziazione tra il tipo 1 e il tipo 2 è nozione altrettanto antica, dovuta ad Avicenna (980-1037), intorno all'anno 1000.

Nel Medioevo la parola fu "*latinizzata*" in *diabētēs*. L'aggettivo mellito (dal latino mel-mellis = miele, dolce) è stato aggiunto nel 1675 dal medico inglese Thomas Willis (1621-1675, che descrisse anche la miastenia gravis e l'asma bronchiale), a causa del sapore dolciastro che assumevano sangue e urine nei soggetti affetti, tanto che il diabete fu denominato per qualche tempo Malattia di Willis.

Queste caratteristiche erano risapute da tempo anche in India, Grecia, Cina e nell'antica Civiltà Egizia. La malattia dal XVIII secolo era nota anche in Giappone con il nome di Shoikachi, malattia della sete.

Nell'Ottocento in tutta Europa la diagnosi si faceva esclusivamente assaggiando le urine dei pazienti, pratica tra l'altro confermata in una grande varietà di opere d'arte del periodo Gotico (XIII-XIV secolo), molto antecedente ai tempi moderni [1-4].

DATI EPIDEMIOLOGICI

Il diabete mellito è una malattia molto diffusa e colpisce una larga parte della popolazione, con prospettive di ulteriore coinvolgimento negli anni avvenire.

La World Health Organization WHO, che nel 2018 compie 70 anni e riunisce 194 Stati, riferisce

nel 2014 422 milioni persone adulte affette da diabete. Questi grandi numeri sono ancora più preoccupanti se paragonati al 1980, dove la stima era di solo 108 milioni. Anche la prevalenza sopra i 18 anni è quasi raddoppiata, dal 4.7% del 1980 al 8.5% del 2014.

La diffusione del diabete sta aumentando più rapidamente nei paesi a medio e a basso reddito, con tasso di natalità maggiore, ed è una delle principali cause di cecità, insufficienza renale, attacchi cardiaci, ictus e amputazione degli arti inferiori nella popolazione di ogni età [5].

Nel 2012 si stimava che circa 1,5 milioni di morti erano causati direttamente dal diabete e altri 2,2 milioni di decessi erano riconducibili ad un elevato tasso di glucosio nel sangue.

Quasi la metà di tutte le morti per elevata glicemia interviene prima dei settanta anni. L'OMS prospetta che il diabete sarà la settima causa di morte nel 2030. La maggior parte delle persone affette da diabete è di tipo 2, non insulino-dipendente.

Questa caratteristica, prima quasi esclusiva dell'età adulta, si sta estendendo pericolosamente all'età pediatrica, per l'aumento dell'obesità in questa fascia d'età [6].

L'incapacità di utilizzare insulina da parte delle cellule induce il pancreas ad aumentarne la produzione; il risultato finale è il lento esaurimento delle cellule beta β , le più numerose (60%/80%) dei 5 tipi di cellule endocrine localizzate nelle isole pancreatiche del Langerhans (± 1 milione di unità endocrine; dimensioni $\pm 100 \mu\text{m}$).

Molti pazienti diabetici di tipo 2 diventano negli anni insulino-resistenti/dipendenti.

In Europa la diffusione del diabete è intorno a 8,4% con stime in crescita al 9,2% nel 2025 (Regno Unito 4%, Francia 8,4%, Italia 8,7%, Spagna 7,5%, Germania 11,8%).

Percentuali simili si riscontrano in Medio Oriente (7%) e Nord-America (7,9%); minore diffusione è presente in Africa (2,4%), Pacifico Occi-



Fig. 1 - Stima del numero dei diabetici nel mondo (20-79 anni) e per continenti nel 2015, con stima per il 2040.

dentale (3,1%), Sud Est Asiatico e America Centro-Meridionale (5,6%) (fig. 1).

Un diabetico ha la possibilità del 20/25 volte maggiore di diventare cieco rispetto ai soggetti normoglicemici. La retinopatia diabetica è, infatti, la causa più frequente di cecità tra i 30 e i 60 anni nelle società industrializzate.

Anche se l'invecchiamento della popolazione ha fatto aumentare a dismisura il loro numero, la causa principale di questa "epidemia" di pazienti iperglicemici è l'incremento dell'obesità.

Il numero totale degli obesi, con indice di massa corporea superiore a 30 ($IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$) si è, infatti, decuplicato (Boston Scientific) [7,8].

Dai dati del Royal College of Ophthalmologists i pazienti insulino-dipendenti più giovani hanno una prevalenza verso la retinopatia proliferante doppia rispetto ai più anziani e, dopo 10 anni, l'incidenza di edema maculare è in generale due volte maggiore nei soggetti insulino-dipendenti rispetto ai non insulino-dipendenti [9].

L'OMS riferisce che la retinopatia diabetica ha provocato globalmente 1,9% delle disabilità visive (moderata o grave) e, in particolare, nel 2010 il 2,6% della cecità; inoltre aggiunge che la prevalenza di ogni tipo di retinopatia in persone con diabete è del 35%, mentre la retinopatia proliferante è del 7%.

In Italia l'Istat riporta percentuali di diabetici del 5,5% circa, oltre tre milioni di persone colpite, il 20% dopo i 75 anni (fig. 2).

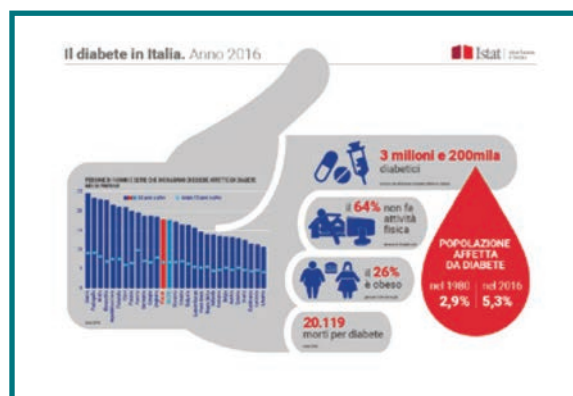


Fig. 2 - Diffusione del diabete in Italia 2016, dati ISTAT.

MACRO E MICROANGIOPATIA DIABETICA

Le lesioni vascolari riconducibili direttamente o indirettamente all'iperglicemia possono interessare grandi e piccoli vasi, determinando macro/microangiopatie. L'evoluzione funzionale di queste complicanze influenza non poco la qualità di vita dei pazienti.

Le complicanze macrovascolari più frequenti sono:

- la cardiopatia ischemica
- la vasculopatia cerebrale
- l'arteriopatia periferica specie degli arti inferiori

Le complicanze microvascolari possono coinvolgere, con diversa frequenza e contemporaneità, il tessuto renale, nervoso e retinico, provocando rispettivamente nefropatie, neuropatie e retinopatie di diversa gravità funzionale.

Mentre nelle lesioni dei piccoli vasi l'iperglicemia è ritenuta come il più importante e quasi esclusivo fattore di rischio (Thomas Royle Dawber; 1961), per le lesioni dei grandi vasi lo squilibrio glicemico viene considerato insieme a tutte le altre cause, fumo di sigaretta, ipertensione arteriosa, dislipidemie e predisposizione genetica.

La macroangiopatia diabetica è espressione della localizzazione di un processo aterosclerotico diabetico-modulato nei vasi arteriosi di medio e grosso calibro dei distretti coronarico, cerebrale e degli arti inferiori. La struttura della placca aterosclerotica ha, infatti, le stesse caratteristiche istologiche nel diabetico e nel non diabetico.

In presenza di prolungata iperglicemia, in molte ricerche, d'altra parte è stata riscontrata un'aterogenesi accelerata; il rischio di sviluppare lesioni

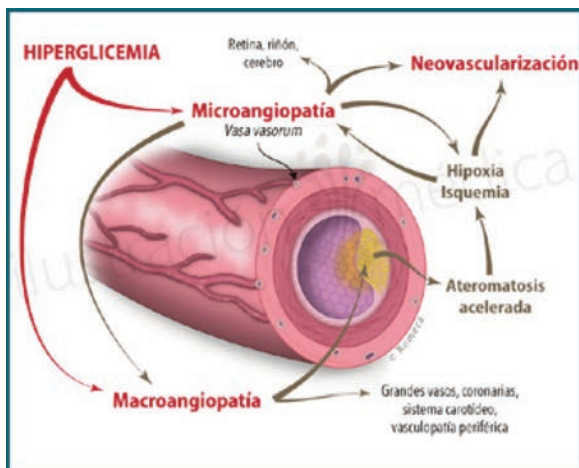


Fig. 3 - Relazione tra micro e macroangiopatia nel diabete (<https://www.behance.net/gallery>).

della parete vasale nei diabetici è triplo rispetto ai soggetti normoglicemici (fig. 3) [10].

Studi retrospettivi hanno sempre dimostrato che un buon controllo metabolico è utile nel contrastare la progressione delle lesioni macrovascolari e l'evoluzione di quelle dei piccoli vasi.

La presenza di alterazioni retiniche deve indurre perciò l'oftalmologo ad allargare il campo delle indagini verso patologie vascolari sistemiche concomitanti senza troppi indugi e inutili attese.

La malattia coronarica è, infatti, la principale causa di morbidità (numero casi malattia/numero persone in esame in un dato tempo) e di mortalità nei pazienti diabetici.

Il danno coronarico in particolare interessa il diabete di tipo 1 prevalentemente nella terza-quarta decade di vita, e il tipo 2 nella quinta-sesta decade di vita. Nei pazienti diabetici si ha una mortalità per cardiopatia più alta rispetto ai non diabetici; la patologia cardiaca evolve più rapidamente, coinvolge con maggior frequenza contemporaneamente le tre arterie coronariche, le placche ateromatose sono più estese e con aumentata possibilità di ulcerazione [11].

Tra le microangiopatie, la retinopatia diabetica è la più frequente e più importante complicanza del diabete mellito. Dopo 10 anni di malattia più del 95% dei diabetici di tipo 1 e il 60% dei diabetici di tipo 2 presentano segni più o meno manifesti di danno retinico. Il ruolo dell'oftalmologo è perciò necessario dal primo riscontro di un'iperglicemia, spesso misconosciuta e scoperta a volte per caso all'esame oftalmoscopico, specialmente se eseguito con ultra-widefield fundus imaging (fig. 4).

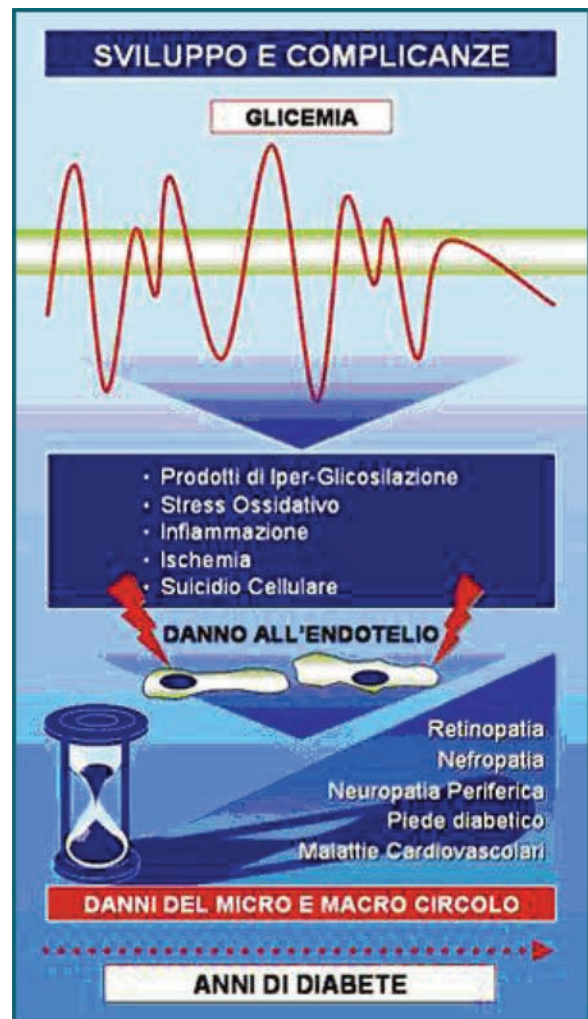


Fig. 4 - Meccanismo di insorgenza delle complicanze micro e macrovascolari nel diabete (<http://www.retecivica.milano.it>).

FISIOPATOLOGIA DEL MICROCIRCOLO RETINICO

Com'è noto il sangue dal letto arterioso è distribuito alle arteriole terminali con diametro di 30-100 μm e alle meta-arteriole con diametro di 20 μm e lunghezza di pochi millimetri. Dalle arteriole terminali e meta-arteriole originano i vasi capillari (da 10 a 100) con un diametro variabile fra 5 e 10 μm .

Il calibro dei vasi capillari varia da organo ad organo: quelli più esili (5-7 μm) si trovano nel polmone, nella retina, nei muscoli striati, nella sostanza grigia del sistema nervoso centrale; quelli di maggior diametro (12-20 μm) si trovano soprattutto nel sistema ghiandolare e nel midollo osseo.

La parete dei capillari è costituita da un unico strato di cellule poligonali appiattite, gli endote-

liociti, disposte con il loro asse maggiore nella direzione del flusso sanguigno, e poggiano su una sottile membrana basale di struttura glicoproteica.

La membrana basale al microscopio elettronico è composta di tre lamine: lamina rara interna, lamina densa e lamina rara esterna. È un insieme di collagene (tipo IV), alcune glicoproteine, laminina, fibronectina e proteoglicani.

Le glicoproteine sono prodotte dalle stesse cellule endoteliali e dai periciti. Quest'ultime unità cellulari sono appiattite, dotate di sottili prolungamenti orientati secondo la lunghezza, posizionate all'esterno dei vasi capillari. La membrana basale, grazie ad un continuo scorrimento delle sue lamine, partecipa con l'endotelio a regolare la permeabilità e il passaggio di sostanze e cellule dal compartimento circolante a quello interstiziale e viceversa [12].

Da un punto di vista morfologico possono distinguersi quattro tipi di endotelio:

- Endotelio Continuo (capillari di tipo muscolare);
- Endotelio Fenestrato (capillari di tipo viscerale);
- Endotelio Discontinuo (fegato, milza midollo osseo);
- Endotelio a giunzioni strette (sistema nervoso centrale, retina e timo).

Le cellule endoteliali retiniche mancano di fenestrature; sono unite le une alle altre per mezzo di giunzioni strette (tight junctions) che ne limitano fortemente la permeabilità (fig. 5).

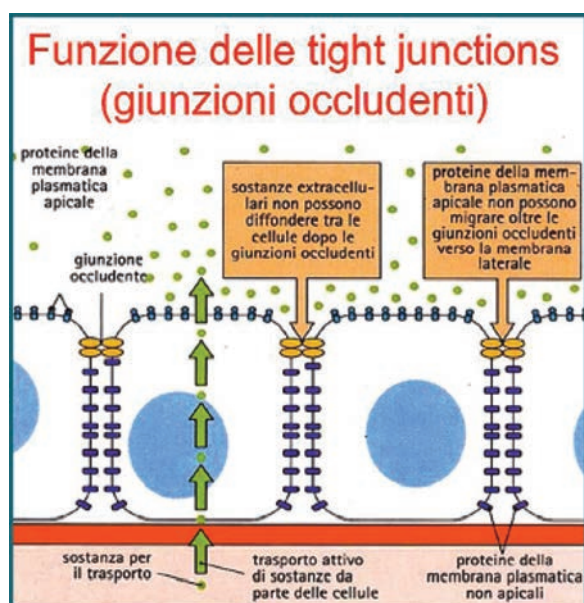


Fig. 5 - Funzione delle Tight Junctions (<http://www.retecivica.milano.it>).

Tale caratteristica si trova anche nell'endotelio dei vasi cerebrali, nella "barriera emato-encefalica" [13,14].

Gli scambi tra plasma e la parete capillare possono avvenire per diffusione e/o per filtrazione:

- a) per diffusione, il passaggio di sostanze avviene in virtù del gradiente di concentrazione (O_2 , CO_2 , H_2O ed elettroliti);
- b) nella filtrazione, il passaggio avviene invece per differenza di pressione idrostatica, come per acqua e soluti, caratteristica presente nei glomeruli renali.

Un altro modo di trasporto trans-capillare è legato a carriers specifici, come per l'insulina, che entra negli endotelociti attraverso un recettore insulinico specifico [15].

Secondo l'ipotesi di Starling (Ernest Henry Starling, Londra 1866/Giamaica 1927) i principali fattori che regolano il movimento di liquidi tra il compartimento vascolare e gli spazi interstiziali sono sottoposti a forze opposte, la pressione idrostatica all'interno del capillare e la pressione colloidale-osmotica del plasma extracellulare (forze opposte di Starling) [16].

La pressione idrostatica intravasale favorisce la fuoriuscita di liquido all'estremità arteriolare del microcircolo, mentre la pressione colloidale-osmotica plasmatica richiama liquidi nei vasi all'estremità venulare.

In condizioni normali, al capo arteriolare del capillare la pressione idrostatica supera di 2-12 mmHg quella colloidale-osmotica, per cui del liquido esce dai capillari nell'interstizio; dal lato venulare, al contrario, la pressione colloidale-osmotica supera di 5-15 mmHg quella idrostatica, perciò il liquido interstiziale rientra nei capillari (fig. 6).

Si evince che in condizioni fisiologiche la fuoriuscita di liquidi dall'estremità arteriolare dei capillari è pressoché controbilanciata dal riassorbimento all'estremità venulare; solo una piccola quantità di liquido è drenata dai vasi linfatici. Questo fine e delicato equilibrio di forze contrapposte impedisce la formazione di edema [17].

Quando la filtrazione supera l'assorbimento, il volume plasmatico si riduce, aumenta il liquido interstiziale e si forma edema; se invece l'assorbimento supera la filtrazione, si riduce il liquido interstiziale e si determina disidratazione.

L'endotelio può essere considerato un vero e proprio "organo endocrino diffuso", multifunzio-

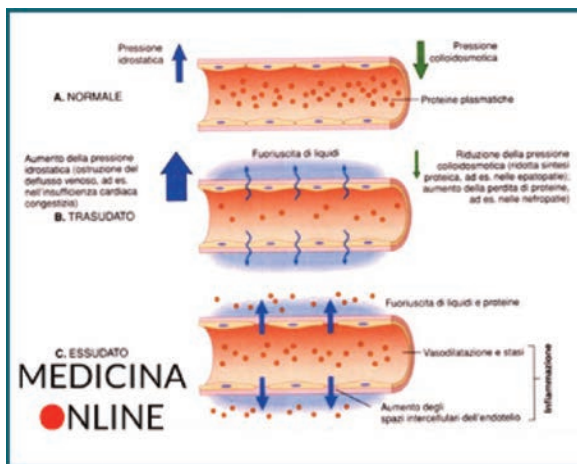


Fig. 6 - Formazione di edema nei tessuti.
(<https://medicinaonline.co/2017>)

nale, il più voluminoso del corpo umano (peso totale di 1,0 Kg - 1,8 Kg, superficie stimata tra 400 m² e 1000 m²). Il sistema endoteliale nel suo insieme ha attività autocrine (da greco auto = stesso e crino = che produce), per cui le sostanze prodotte modificano il comportamento della cellula stessa, e attività paracrine (dal greco para= vicinanza e crino=che produce), per cui i messaggeri chimici secreti modificano la fisiologia delle cellule vicine [18].

Le cellule endoteliali sono, infatti, attivamente coinvolte nella regolazione del tono vascolare, della permeabilità vasale, nel controllo dell'emeostasi, della fibrinolisi, nella modulazione dei processi flogistici, e nella neoangiogenesi fisiologica, come nel cuore degli atleti, e patologica, come nella retinopatia diabetica proliferante e nelle formazioni delle membrane neovascolari.

L'iperglicemia rappresenta la causa prima per la microangiopatia.

Tuttavia non è infrequente osservare pazienti con scadente controllo metabolico senza evidente microangiopatia, o solo con danni modesti nei differenti distretti microvascolari.

Oltre all'iperglicemia altri fattori evidentemente intervengono e sono decisivi nello sviluppo e progressione della microangiopatia diabetica, ancora da studiare e da valutare pienamente.

Sicuramente il patrimonio genetico è il più influente tra tutti i possibili fattori in causa, come chiaramente emerge da numerose ricerche e documentate sperimentazioni [19].

Esiste una "susceptibilità individuale" più o meno spiccata all'effetto dell'iperglicemia, me-

diata da condizioni genetiche diverse e variabili, con espressività differente. I geni responsabili di questa variabilità individuale sono molteplici, e una precisa correlazione non è stata ancora ben individuata.

I più studiati sono i geni per la nitrossido-sintetasi costitutiva (e-NOS), per l'endotelina-1 (ET-1), i geni che codificano per proteine coinvolte nella difesa dallo stress ossidativo, il recettore per le LDL ossidate, ORL1, NADH/NADPH ossidasi, isoforme della glutathionil-transferasi e molti altri ancora [20].

ALTERAZIONI VASCOLARI RETINICHE NEL DIABETE

I quadri oftalmoscopici della retinopatia diabetica sono ben noti all'iconografia oftalmoscopica. La retinopatia diabetica secondo le varie Scuole di pensiero è così classificata [17].

a) Non-Proliferativa, NPDR (Background/Preproliferative):

- *National Security Council-United Kingdom, NSCUK:*
 - Background (Level R1)
 - Preproliferative (Level R2)
- *American Academy of Ophthalmology, AAO:*
 - Mild (Lieve)
 - Moderate (Moderata)
 - Severe (Severa)
- *Scottish Diabetic Retinopathy Grading Scheme, SDRGS:*
 - Mild background (Level R1)
 - Moderate background (Level R2)
 - Severe background (Level R3)

b) Proliferativa, PDR:

- Location (Localizzata)
- Severity (Severa)

La maculopatia diabetica è a sua volta classificata:

- Focal oedema, edema focale
- Diffuse oedema, edema diffuso
- Ischaemic, forma ischemica
- Mixed, forma mista

I meccanismi fisiopatologici della retinopatia non proliferativa comprendono:

- *Ispezzimento della membrana basale*
- *Perdita dei periciti retinici*
- *Aumento della permeabilità dei vasi retinici*
- *Alterazioni del flusso ematico retinico*
- *Eventuale istaurarsi della neo-vascularizzazione*

I microaneurismi della retina, le emorragie puntiformi e gli essudati cotonosi sono le manifestazioni oftalmoscopicamente più evidenti.

I microaneurismi sono le più precoci alterazioni strutturali a livello retinico, dilatazioni sacculari della parete vasale che non comportano generalmente riduzione del visus.

La perdita dei periciti è una lesione cito-istologica critica per l'integrità dei capillari che consegue all'ispessimento della membrana basale.

Fisiologicamente preposti al mantenimento dell'integrità strutturale dell'endotelio dei capillari retinici, la loro perdita, diminuzione o assenza predispone la parete del capillare alla dilatazione sacculare e alla formazione di microaneurismi.

La dilatazione del capillare determina un aumento di permeabilità e la comparsa di essudati duri. La rottura dei vasi o dei microaneurismi può generare emorragie retiniche negli strati più profondi con aspetto puntiforme, e/o negli strati più superficiali con aspetto a fiamma, per la particolare disposizione delle fibre nervose assionali.

I microaneurismi col tempo possono andare incontro a processi di ialinizzazione determinando micro-infarti retinici e formazione di essudati cotonosi.

Un altro importante meccanismo biochimico innescato dall'iperglicemia è l'alterazione e/o diminuzione del glicocalice, stato di proteoglicani che riveste la superficie luminale dell'endotelio, ancora non pienamente valutato [21].

In un recente articolo del Cambridge Research Center, *"The glycocalyx bedside evaluation plays a central role in diagnosing type 2 diabetes mellitus and in its primary prevention"*, gli autori sottolineano come la disfunzione mitocondriale, l'alterazione della barriera emato-encefalica, la valutazione degli endoteli e dei glicocalici siano le nuove e più recenti acquisizioni nella patogenesi e nella diagnosi precoce del Diabete Mellito Tipo 2 [22].

I principali meccanismi biochimici con cui l'iperglicemia favorisce lo sviluppo del danno vasale sono [21]:

- a) Glucotossicità diretta
- b) Glicosilazione non enzimatica
- c) Glicosilazione enzimatica (l'attivazione della via metabolica dell'aldoso-reduttasi o via dei polioli)
- d) Via del diacilglicerolo-protein-chinasi C
- e) Auto-ossidazione del glucosio
- f) Potenziali redox
- g) Stress ossidativo

La microangiopatia diabetica retinica, caratterizzata da microaneurismi, aree di non perfusione capillare e/o di conclamata ischemia, determina complicazioni dannose per la funzione visiva più gravi se è coinvolta l'area maculare, per la comparsa di edema DME Diabetic Macular Edema e/o d'ischemia DMI Diabetic Macular Ischemia.

Ogni area retinica ischemica, periferica, maculare o papillare, rappresenta un potenziale stimolo per la sintesi di fattori di crescita ad azione angio-genetica (VEGF), formazione di nuovi vasi a livello retinico e/o pre-retinico o sulla superficie dell'iride, condizione che può evolvere verso la rubeosis iridis e glaucoma neo-vascolare.

SINGLE-FIELD VS ULTRA-WIDEFIELD

La fluorangiografia retinica si conferma ancora l'esame strumentale gold standard per le alterazioni vascolari della retina in genere e, in particolare, per la retinopatia diabetica.

Si deve a due studenti dell'Indiana University, Harold Novotny e David Alvis l'introduzione nel 1961 della fluorangiografia, dopo i primi esperimenti iniziati nel 1959. Fu lo stesso Alvis, dopo il lancio di una moneta, a sottoporsi nel novembre 1959 volontariamente all'infusione endovenosa di fluoresceina al 5% (fluorescite). Le sequenze raffigurate nella figura 7 sono le prime immagini fluorangiografiche dell'occhio destro di Alvis (fig. 7).

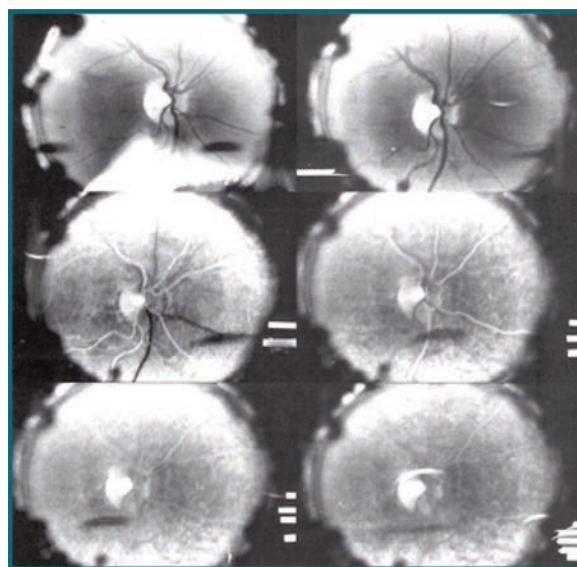


Fig. 7 - Immagine della prima fluoroangiografia dell'occhio destro di David Alvis eseguita nel 1959 (Michael F. Marmor et al.).

Il loro studio non fu accettato dalle più importanti riviste di oftalmologia; venne invece pubblicato nel 1961 da *Circulation* che, com'è noto, si interessa di problematiche cardiovascolari (Lippincott Williams & Wilkins for the American Heart Association; dal 1996 al 2004 ha ottenuto un impact factor pari a 10 e dal 2016 l'impact factor è salito al 19.309).

Da allora si sono aperte definitivamente le strade all'indagine vascolare in oftalmologia; la fluorangiografia è stata largamente utilizzata ed ha enormemente favorito la comprensione di molte malattie della neuro-corio-retina [23].

Lo sviluppo straordinario dell'imaging retinico, con la possibilità di visionare la retina ben oltre la regione equatoriale per mezzo di device ultra-widefield, in quest'ultimo tempo sta cambiando, e non poco, l'approccio diagnostico delle alterazioni retiniche.

L'imaging fotografico retinico è stato tradizionalmente limitato alla regione del polo posteriore, macula e nervo ottico, con copertura di 20/50 gradi.

Com'è noto l'area del polo posteriore con esame fotografico tradizionale comprende le più importanti e frequenti malattie della macula e del nervo ottico, con deficit significativi per visus e per campo visivo. L'esame fotografico tradizionale è rapido, a basso costo, comporta poca esposizione alla luce, eseguibile anche senza dilatazione pupillare facilmente da personale addestrato ma non necessariamente medico, ed è altamente riproducibile.

In modo progressivo da alcuni anni l'imaging single-field nella retinopatia diabetica si è evoluto verso un'imaging ultra-widefield (fig. 8).

Questo sviluppo d'imaging è stato di grande rilevanza diagnostica in molte patologie retiniche, specialmente vascolari, anticipato dalla pubblicazione del 2004 di Williams GA. et al. per l'American Academy of Ophthalmology, che comunque ancora attestava l'efficacia del single-field.

In questo lavoro gli autori riferirono infatti che i livelli d'evidenza restano a favore ancora per la fotografia retinica single-field nella valutazione, screening e gestione della retinopatia diabetica.

Gli studi riportati, a conforto di questa tesi dimostravano, infatti, che la singola fotografia, interpretata da personale esperto, aveva un range di sensibilità tra 61% e 90% e specificità tra 85% e 97% rispetto ai 7 campi standard dell'ETDRS [24].

L'imaging widefield del fundus oculi può essere ottenuta attraverso tre metodologie:

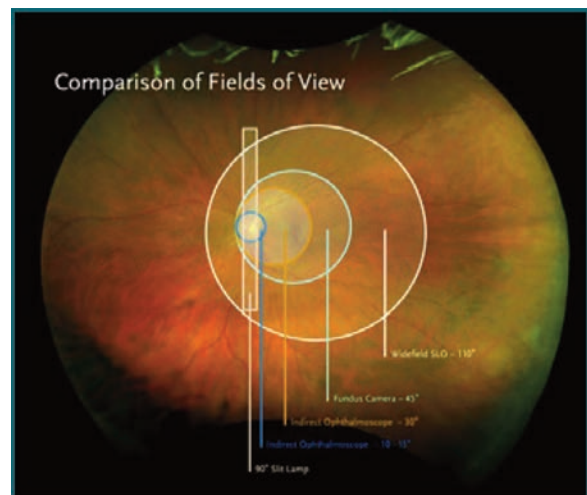


Fig. 8 - Paragone tra le ampiezze di campo nell'imaging retinico. <https://blog.optos.com/index.php/how-uwf-retinal-imaging-improves-optometric-care>

- A) Montaggio delle singole imaging
- B) Lenti addizionali alle fundus camera
- C) Wide-angle fundus camera

A) Il montaggio di singole immagini retiniche di 30° è stato introdotto, auspicato e utilizzato dal gruppo di oftalmologi dell'Early Treatment Diabetic Retinopathy Study ETDRS.

Tale studio multicentrico, sponsor il NEI National Eye Institute, iniziato nel settembre 1999 e proseguito fino allo stesso mese del 1986, ha coinvolto 3711 pazienti per un periodo minimo di 4 anni, con l'obiettivo di verificare l'efficacia del laser-trattamento verso l'utilizzo dell'aspirina nel management dei pazienti affetti da retinopatia diabetica non proliferante o inizialmente proliferante.

In particolare gli obiettivi dell'ETDRS erano:

- Determinare il tempo più idoneo per iniziare la fotocoagulazione laser
- Monitorare gli effetti del diabete mellito e della fotocoagulazione sulla funzione visiva
- Descrivere la storia naturale dei dati che possono aiutare a identificare i fattori di rischio e le ipotesi patogenetiche della retinopatia diabetica

La somma dei 7 campi retinici permette una visione stereoscopica della retina a 75°.

Tale metodica è stata utilizzata in questo studio ed è tuttora ritenuta gold standard per una corretta classificazione della retinopatia diabetica [25].

Il montaggio auspicato dall'ETDRS richiede però tempo, una certa abilità dell'operatore, preferibilmente oftalmologo, e la dilatazione pupillare.

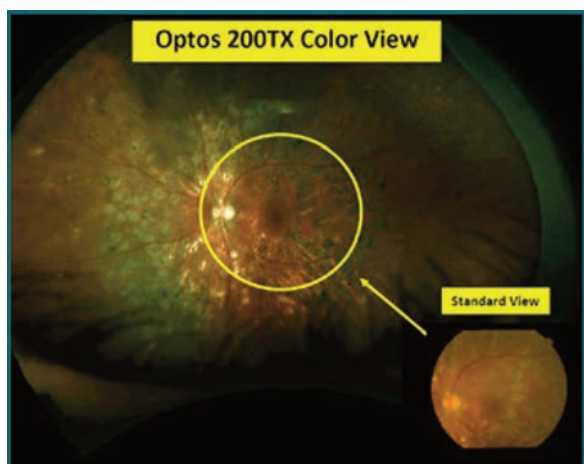


Fig. 9a - Fundus Color ottenuta con OptosTX 200 di una retinopatia diabetica apparentemente ben trattata con panfotocoagulazione retinica. (<http://www.strathfieldretina.com.au/optos-200tx-ultra-wide-field-retinal-imaging-system>)

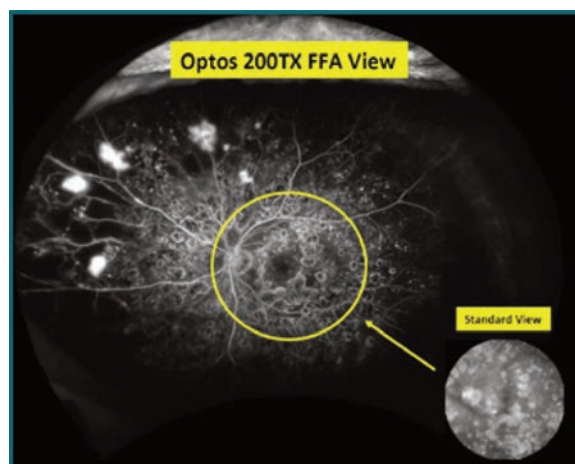


Fig. 9 bis - Immagine della stessa retina con fluoroangiografia con zone periferiche iperfluorescenti ancora da trattare. (<http://www.strathfieldretina.com.au/optos-200tx-ultra-wide-field-retinal-imaging-system>)

Una modalità fotografica alternativa più rapida, facile, veloce, frequentemente utilizzata e comunque valida, consiste nell'assemblaggio di 2 o 3 campi retinici a 45°, centrale nasale e temporale, anche senza midriasi [26].

B) Il primo a pensare allo sviluppo nel 1975 di una wide-angle camera fu Oleg Pomerantzeff, ingegnere biofisico che lavorava allo Schepens Eye Research Institute (Boston Massachusetts USA). La sua Equator-Plus Camera a illuminazione transclerale con fibra ottica utilizzava una lente a contatto corneale con immagini fino a 148°, limiti del tutto ragguardevoli per l'epoca [27].

Il sistema di lenti ideata da Giovanni Staurenghi nel 2005 permette, con molta efficacia e agevolmente, una copertura della retina di 150°, limite difficilmente superabile con le sole lenti aggiuntive [28].

La Clarity Medical Systems ha introdotto da qualche anno la Retcam, un sistema d'imaging a 130° con fibre ottiche, utilizzata soprattutto in oftalmologia neonatale [29].

La Heidelberg Spectralis, con il modulo non-contact ultra-widefield, permette una visione a 120° utilizzando uno scanning laser oftalmoscopio [30].

C) La Optos (Dunfermline United Kingdom), è stata la prima ditta ad introdurre un device non-contact scanning laser che permette immagini ultra-widefield fino a 200°, 82% dell'intera area retinica, di grande effetto, rispetto alla copertura del 15% con l'imaging a 45° (figg. 9a,9b).

Nonostante l'ampio campo, la limitazione intrinseca dell'apertura palpebrale e/o pupillare ostacola inevitabilmente l'ampiezza delle immagini, che risultano sfuocate lungo i meridiani verticali.

La Optos ha proposto di recente un nuovo software che monta, in modo automatico, immagini standard con quelle ottenute dal movimento volontario del bulbo oculare, con risultati del tutto lusinghieri [31].

La Zeiss ha immesso sul mercato un sistema Ultra-WideField (Clarus 500 foto/autofluorescenza e, in seguito Clarus 700 anche con fluoro/indocianina) ad alta definizione, con visione di campo fino a 130° di apertura con un solo scatto (one shot), di 200° con due scatti e fino a 267° con 6 scatti (fig. 10).



Fig. 10 - Imaging retinico a 200 gradi con Clarus 500 Zeiss. (<https://www.zeiss.com/meditec/us/products/ophthalmology-optometry/retina/diagnostics/fundusimaging/clarus-500.html>)

ULTRA-WIDEFIELD E RETINOPATIA DIABETICA

La strada verso un'imaging ultra-widefield in oftalmologia è ormai definitivamente tracciata e in pieno sviluppo. Presto entrerà nel management diagnostico in modo diffuso, capillare, offrendo maggiori e più complete possibilità diagnostiche.

Numerosi studi attestano l'assoluta utilità di tale metodica nella diagnostica delle vasculopatie retiniche e, con ancor più diritto, nello screening della retinopatia diabetica (fig. 11).

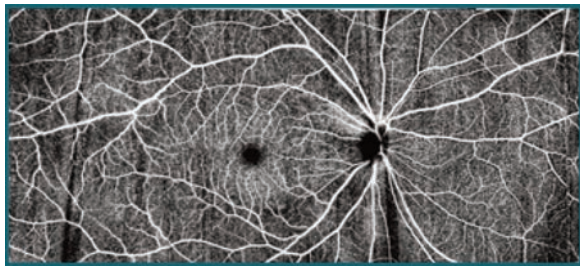


Fig. 11 - Ultra-widefield OCTA (~20-mm larghezza, 10-mm altezza, 7-mm profondità) con montaggio utilizzando un device 200-kHz swept-source OCT system (Simon S. Gao et al.).

Price et al. hanno confrontato nel 2015, per la valutarne la gravità (severity grading), l'affidabilità della mappa retinica di Optos rispetto ai 7 campi standard EDTRS effettuati con fundus camera tradizionale. La capacità di classificare la retinopatia diabetica utilizzando i 7 campi standard è stata confermata, con un valore percentuale di 85%; il 19% delle immagini retiniche è stato però possibile riclassificarle ad un livello superiore grazie all'implementazione diagnostica permessa dall'imaging ultra-widefield [32] (fig. 12).

Wessel et al. hanno dimostrato che l'imaging ultra-widefield permette migliori valutazioni oftalmoscopiche con valori di 3.9 nell'individuare aree

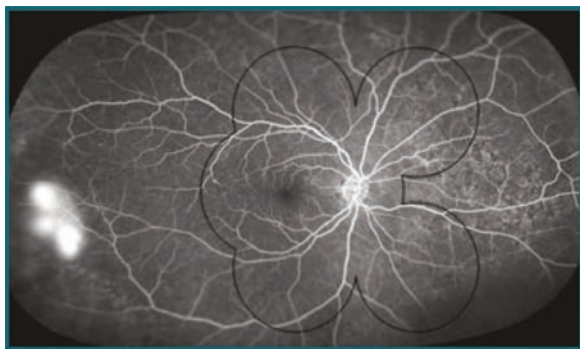


Fig. 12 - Wide-field fluoroangiografia dell'occhio destro di un paziente diabetico con Optos che evidenzia una neovascolarizzazione periferica temporale non compresa dall'apertura con i 7 campi standard EDTRS della retina (Matthew T. Witmer et al.).

non perfuse, di 1.9 nel riconoscere nuove aree di neovascolarizzazione, e di 3,8 nel distinguere cicatrici argon laser rispetto ai 7 campi standard EDTRS.

Gli autori hanno inoltre potuto rendere evidente, estendendo l'utilizzo dell'imaging ultra-widefield alla fluorangiografia FA, aree non perfuse e neovasi in più del 10% dei pazienti, non riconosciute ai 7 campi standard EDTRS [33].

Talks et al. hanno dimostrato che Optomap ultra-widefield permette di scoprire il 30% in più circa di aree retiniche interessate da neovascolarizzazione, specialmente oltre l'equatore nei confronti dell'oftalmoscopia standard a due campi, utilizzata comunemente nello screening dal servizio sanitario nazionale nel Regno Unito [34].

Silva et al., in un loro recente lavoro, riferiscono che il giudizio oftalmoscopico complessivo nella retinopatia diabetica diventa più severo nel 20% dei pazienti con ultra-wildfield rispetto ai 7 campi standard EDTRS, per la possibilità di evidenziare lesioni vascolari periferiche altrimenti misconosciute.

Gli autori concludono che l'imaging ultra-widefield permette una migliore valutazione complessiva nel 10% degli occhi e riesce ad identificare lesioni vascolari oltre l'area dei 7 campi standard.

La presenza, persistenza e l'incremento di lesioni periferiche sono state dagli autori inoltre strettamente associate, dopo 4 anni di controlli, alla progressione della retinopatia, indipendentemente dallo stato metabolico del paziente e all'alterazione vascolare di partenza [35].

ANGIO-OCT E RETINOPATIA DIABETICA

L'esame fluorangiografico resta la metodica standard per valutare in vivo il circolo neuro-corio-retinico specie nella retinopatia diabetica.

L'imaging fluorangiografico ha caratteristiche bidimensionali, sovrappone i plessi vascolari corio-retinici, non permette una corretta e distinta valutazione selettiva dei singoli network vascolari strato per strato in profondità (deep resolution), è una metodica invasiva.

A vantaggio della FA resta la vasta letteratura presente sulle singole patologie, gli innumerevoli studi multicentrici, la possibilità di valutare la diffusione (leakage), l'accumulo (pooling) e/o l'impregnazione/colorazione (staining) del colorante, caratteristiche dinamiche che offrono non poche,

importanti informazioni strutturali e funzionali sulla maggior parte delle patologie neuro-corio-retiniche.

L'Angio-OCT può supplire o sostituire definitivamente la fluoroangiografica? L'affiancamento semeiologico è già di fatto avvenuto; ritenere la fluoroangiografica non più utile è però, almeno allo stato attuale delle cose, imprudente o quanto meno superficiale.

Il numero di richieste per fluoro è di fatto comunque drasticamente diminuito, anche per la retinopatia diabetica; tuttavia è proprio per questa vasculopatia che si richiedono ed eseguono ancora il maggior numero di fluoro.

L'esame Angio-OCT mette in evidenza con grande qualità iconografica, con copiosi dati statistici di importanza clinica crescente, le variazioni dell'area avascolare foveale FAZ, le anomalie della struttura dei capillari intraretinici IRMA, i microaneurismi, le aree retiniche periferiche poco o non perfuse, i neovasi, offrendo dati numerici (Vessel Density e Perfusion Density) nei singoli settori indagati ancora da interpretare e pienamente valutare.

Di G et al. hanno condotto recentemente uno studio su 65 pazienti con diabete mellito DM (113 occhi) e 62 controlli (85 occhi) con Angio-OCT. Hanno calcolato in area foveale in entrambi i gruppi il raggio orizzontale HR, il raggio verticale VR e l'area FAZ. Le differenze di HR, VR e dell'area FAZ tra il gruppo di controllo e il gruppo DM erano statisticamente significative ($p = 0.01$, 0.00 and 0.00 , rispettivamente).

La misura della FAZ era più ampia nel gruppo DM rispetto al gruppo di controllo; nel gruppo con edema maculare clinicamente significativo CSME l'area FAZ era maggiore rispetto al gruppo non CSME ($p = 0.02$). Concludono affermando che l'Angio-OCT produrrà notevoli quantità di dati precedentemente non disponibili e di grande utilità nella ricerca [36].

Takase et al. hanno evidenziato con l'Angio-OCT il precoce allargamento della FAZ in presenza di costante iperglicemia. La FAZ area nell'inner vascular plexus era $0.25 \pm 0.06 \text{ mm}^2$ negli occhi sani ($n = 19$), $0.37 \pm 0.07 \text{ mm}^2$ negli occhi dei diabetici senza retinopatia in atto ($n = 24$) e $0.38 \pm 0.11 \text{ mm}^2$ negli occhi con retinopatia diabetica manifesta ($n = 20$). Gli occhi con retinopatia diabetica mostrano FAZ più ampia statisticamente rispetto ai soggetti sani ($P < 0.01$). L'area FAZ area nel deep vascular plexus era più ampia statisticamente rispetto agli occhi sani ($P < 0.01$) [37].

de Carlo et al. hanno più specificamente messo a confronto le variazioni microvascolari tra pazienti diabetici e non diabetici con indagine angio-OCT. La zona avascolare FAZ misurava 0.348 mm^2 (0.1085 0.671) negli occhi diabetici e 0.288 mm^2 (0.070 0.434) nei pazienti di controllo ($P = 0.04$). Il rimodellamento della vascolarizzazione della FAZ tra diabetici e sani (36% contro 11%; $P = 0.01$) e l'area di non perfusione capillare (21% contro 4%; $P = 0.03$) erano statisticamente più evidenti nei pazienti diabetici.

Infine i microaneurismi e le dilatazioni venose sono presenti in meno del 10% dei diabetici e sani complessivamente; la tortuosità venosa era presente però nel 21% dei sani contro il 25% degli occhi diabetici [38].

Ishibazawa et al. hanno posto la loro attenzione sull'imaging angio-OCT in presenza di retinopatia proliferante. Hanno dimostrato, con imaging en face, due tipi di neovasi: una forma attiva con neovasi di un calibro maggiore e fini proliferazioni irregolari di più piccole dimensioni definite Exuberant Vascular Proliferation (EVP +), e un secondo tipo con vasi tronchi senza neoproliferazione di fini capillari, definiti non esuberant (EVP -) [39].

Ploner SB, Fujimoto JG et al. su Retina nel dicembre del 2016 hanno pubblicato lo sviluppo dell'algoritmo VISTA Variable Interscan Time Analysis, che permette un assemblaggio di mappe tomografiche a colori per la misura della velocità del flusso vascolare.

L'Angio-OCT sperimentale utilizzato è uno swept source con lunghezza d'onda di 1,050 nm, 400 kHz A-scan rate, protocollo di ripetizione a 5 B-scan, e tempi di interscambi di 1.5 e 3.0 millisecondi. Gli autori hanno visionato con tale metodologia 2 occhi normali, 6 con retinopatia non proliferante, 3 con retinopatia proliferante, 4 con atrofia geografica e 2 con maculopatia essudativa. Tutti gli occhi con patologia in atto hanno evidenziato alterazioni della velocità di flusso (blood flow speed) rispetto ai controlli [40].

ULTIMATE GOAL, CONCLUSIONI E CONSIDERAZIONI

Presso il Massachusetts Institute of Technology MIT sono in via di sviluppo nuove tecnologie angiografiche tomografiche testate al New England Eye Center di Boston. Questo nuovo tomografo ultra high-speed è un device SS-OCT a 1060nm, a 400.000 A-scan al secondo, 500 x 500 A-scan in

3.8 secondi, con possibilità di angiogrammi ultra-widefield 12 x 12 mm, e di visualizzare la circolazione coroideale sotto all'EPR.

All'opposto di tanta tecnologia ancora in pieno sviluppo, molti paesi industrializzati, pur avendo oculisti sufficienti per esaminare efficacemente le loro popolazioni diabetiche, per la mancata osservanza delle linee guida di screening per motivi socioeconomici, culturali e geografici, presentano un elevato e crescente numero di diabetici ipovedenti [41].

L'epidemia globale del diabete minaccia di sovrappiù ogni possibile risorsa messa in campo dai singoli governi e, se non contrastata adeguatamente, provocherà un aumento rapido della cecità nel mondo.

Queste possibili prospettive richiedono necessariamente lo sviluppo di programmi innovativi per educare, diagnosticare e curare i pazienti in fase precoce.

Spesso i soggetti diabetici non sono consapevoli dei loro rischi visivi, e i modelli di assistenza primaria sono frequentemente inadeguati nel prevenire tutte le complicazioni.

I programmi d'istruzione rivolti sia ai medici che ai pazienti necessitano, inoltre, di miglioramenti difficili da definire per efficaci screening di massa, specie nei paesi in via di sviluppo, dove il numero di medici è insufficiente, e le lunghe distanze rendono problematiche le prestazioni specialistiche [42,43].

La telemedicina ha il potenziale per offrire assistenza a prezzi accessibili a molte di queste popolazioni.

I programmi di screening della telemedicina per la DR possono essere attuati con fotocamere non-midriatiche anche da personale paramedico, mantenendo un'alta qualità.

Gli adattatori telefonici per cellulari appena sviluppati possono essere una valida possibilità all'indagine oftalmoscopica su larga scala in queste popolazioni. Quasi tutti gli smartphone possono essere, infatti, trasformati in una fotocamera per un esame di base del fondo oculare [44].

Il basso costo degli adattatori e la diffusa disponibilità di telefoni cellulari permetterebbero un campionamento più diffuso, oltre la possibilità di valutazioni on line direttamente negli ambulatori dei medici di base. Gli ambulatori di medicina generale, a loro volta, potrebbero trasmettere a un oftalmologo di riferimento i casi ritenuti pato-

logici, per un rapido e tempestivo intervento laser o di altro genere.

La strada della prevenzione nei paesi in via di sviluppo, per essere a basso costo, dovrà per forza essere informatica.

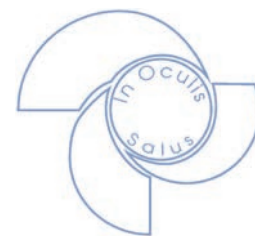
La possibilità di avere tecnologie sempre più evolute con database di confronto validato statisticamente, insieme ad una fruibilità più estesa permetterà, si spera, di affrontare le difficili sfide degli anni futuri con maggiore ottimismo. Anche se la retinopatia diabetica si prevede in grande e preoccupante aumento nei prossimi decenni, i progressi tecnologici descritti e in sviluppo potranno, se universalmente e adeguatamente sfruttati, essere da argine alle gravi alterazioni che tale patologia apporta alla funzione visiva.

REFERENCES

- 1) Ahmed AM., History of diabetes mellitus. Saudi Med J., vol. 23, aprile 2002, pp. 373-378.
- 2) Kosaka K., History of medicine and changes in concept of diabetes mellitus in Japan. Diabetes Res Clin Pract., s1-s5, 1994.
- 3) G. Restori. Il diabete mellito. Fisiopatologia, clinica e terapia. Pag 1, Piccin, 1991, ISBN 978-88-299-0915-5.
- 4) Eknoyan G, Nagy J.. A history of diabetes mellitus or how a disease of the kidneys evolved into a kidney disease., in Adv Chronic Kidney Dis., vol. 12, aprile 2005, pp. 223-229.
- 5) apps.who.int/iris/bitstream/10665/.../9789241565257_eng.pdf.
- 6) Varma R, Bressler NM, Doan QV, Gleeson M, Danese M, Bower JK, et al.. Prevalence of and risk factors for diabetic macular edema in the United States. JAMA Ophthalmol. 2014;132(11):1334-40.
- 7) British Heart Foundation. Estimated prevalence of diabetes by country, 2003 and 2005, Europe. 2.
- 8) Amedeo Lucente. Edema Maculare Diabetico. Oftalmologia domani N. 3 Anno 2013.
- 9) The Royal College of Ophthalmologists' clinical guidelines for diabetic retinopathy: a summary. Eye (2013) 27, 285-287; published online 11 January 2013.
- 10) http://www.ch.unich.it/med/papers/medicina%20interna/diabete/13_testo_macroangiopatia.pdf

- 11) www.slidetube.com.
- 12) Rosati P, Colombo R. Istologia Edi-Ermes, 2001.
- 13) Gerrit R.G.. Arterial endothelial structure and permeability as it relates to susceptibility to atherogenesis in: Glagov S, Newmann WP III, Shaffer SA (Eds): Pathobiology of the human atherosclerotic plaque. Springer Verlag, New York 1990 pag. 13-45.
- 14) Tanganelli P, Bianciardi G, Resi L, Simoes C, Weber G. La struttura dell'endotelio arterioso. *Giornale dell'Aterosclerosi*, Vol.20 pag 65-71, 1995.
- 15) Jialal I, King G.L., Buchwald S., Kahan C.R., Crettaz M.. Processing of insulin by bovine endothelial cells in culture: Internalization without degradation. *Diabetes* 33, 794-800, 1984. in *Giornale dell'aterosclerosi* Vol. 20 N°2, maggio 1995.
- 16) Robbins - Cotran - Kumar - Klatt – AAVV. Le basi patologiche delle malattie; IX edizione, 2017.
- 17) A. Lucente. Edema Maculare Diabetico. *Oftalmologia domani* N. 3 Anno 2013.
- 18) P Tanganelli, G Bianciardi, L Resi, C Simoes, G Weber. Aspetti anatomo-strutturali e adattamenti morfopatologici dell'endotelio *Giornale dell'Aterosclerosi* Vol. 20 N°2, pagg. 187-201, maggio 1995, Editrice UTET Periodici Milano.
- 19) Vigili de Kreutzenberg S., Trevisan R., Avogaro A., Tiengo A.. Complicanze acute e croniche del Diabete Mellito. *Trattato di Medicina Interna Crepaldi G., Baritussio A., vol. 2 Anno 2005.*
- 20) Casper G. Schalkwijk and Coen D. A. Stehouwer. Department of Internal Medicine, Academic Hospital Maastricht, Maastricht, The Netherlands, and Cardiovascular Research Institute Maastricht, University of Maastricht: "Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction", *Clinical Science* (2005) 109, 143–159 (Printed in Great Britain).
- 21) dspace.unict.it/.../RSCST76M52I754F-Tesi%20definitiva%20%20 Dott.ssa%20Cristin... di C Russo 2012. Tesi di dottorato di ricerca in fisiopatologia della senescenza XXIV ciclo. La microangiopatia diabetica nel paziente anziano.
- 22) Simone Caramel, Marco Marchionni and Sergio Stagnaro. The Glycocalyx Bedside Evaluation Plays A Central Role in Diagnosing Type 2 Diabetes Mellitus and in its Primary Prevention. *Treatment Strategies Diabetes Volume 6 Issue 1.*
- 23) Novotny HR, Alvis DL. A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation*. 1961; 24:82-86.
- 24) Williams GA, Scott IU, Haller JA, Maguire AM, Marcus D, McDonald HR. Single-field fundus photography for diabetic retinopathy screening: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*. 2004; 111:1055e1062.
- 25) Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs-an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report no 10. *Ophthalmology*. 1991; 98:786e806.
- 26) Schoenfeld ER, Greene JM, Wu SY, O'Leary E, Forte F, Leske MC. Recruiting participants for community-based research: the diabetic retinopathy awareness program. *Ann Epidemiol*. 2000; 10:432e440. Schoenfeld ER, Greene JM, Wu SY, O'Leary E, Forte F, Leske MC.
- 27) Pomerantzeff O. Equator-plus camera. *Invest Ophthalmol*. 1975; 14:401e406.
- 28) Giovanni Staurenghi, Francesco Viola, Martin A. Mainster, Raymond D. Graham, Peter G. Harrington. Scanning Laser Ophthalmoscopy and Angiography With a Wide-Field Contact Lens System. *Arch Ophthalmol/Vol 123*, Feb 2005. www.archophthalmol.com.
- 29) www.retcam.com.
- 30) <https://business-lounge.heidelbergengineering.com/it/en/products/spectralis/ultra-wide-field-angiography-module>.
- 31) <http://www.optos.com/no/About-us/Contact-us/United-Kingdom/>
- 32) Price LD, Au S, Chong NV. Optomap ultrawide field imaging identifies additional retinal abnormalities in patients with diabetic retinopathy. *Clin Ophthalmol*. 2015; 9:527e531.
- 33) Wessel MM, Aaker GD, Parlitsis G, Cho M, D'Amico DJ, Kiss S. Ultrawide-field angiography improves the detection and classification of diabetic retinopathy. *Retina*. 2012; 32:785e791.
- 34) Talks SJ, Manjunath V, Steel DH, Peto T, Taylor R. New vessels detected on wide-field imaging compared to two-field and seven-field imaging: implications for diabetic retinopathy screening image analysis. *Br J Ophthalmol*. 2015; 99:1606e1609.
- 35) Silva PS, Cavallerano JD, Haddad NM, et al.. Peripheral lesions identified on ultrawide field imaging predict increased risk of diabetic

- retinopathy progression over 4 years. *Ophthalmology*. 2015; 122:949e956.
- 36) Di G, Weihong Y, Xiao Z, Zhikun Y, Xuan Z, Yi Q, Fangtian D. A morphological study of the foveal avascular zone in patients with diabetes mellitus using optical coherence tomography angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016 May;254(5):873-9.
 - 37) Takase N, Nozaki M, Kato A, Ozeki H, Yoshida M, Ogura Y. Enlargement of Foveal Avascular Zone in Diabetic Eyes Evaluted by En Face Optical Coherence Tomography Angiography. *Retina*. 2015; 35:2377-83.
 - 38) De Carlo TE, Chin AT, Bonini Filho MA, Adhi M, Branchini L, Salz DA, et al.. Detection of Microvascular Changes in Eyes of Patients with Diabetes but not Clinical Diabetic Retinopathy using Optical Coherence Tomography Angiography. *Retina*. 2015; 35:2364-70.
 - 39) Ishibazawa A, Nagaoka T, Yokota H, Takahashi A, Omae T, Song YS, et al.. Charateristics of Retinal Neovascularization in Proliferative Diabetic Retinopatry Imaged by Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016; 57:6247-55.
 - 40) SB Ploner, EM Moulton, W Choi, NK Waheed, B Lee, EA Novais, ED Cole, B Potsaid, L Husvagt, J Schottenhamml, A Maier, PJ Rosenfeld, JS Duker, J Horneegger, JG Fujimoto. Toward Quantitative Optical Coherence Tomography Angiography: Visualizing Blood Flow Speeds in Ocular Pathology Using Variable Interscan Time Analysis. *Retina (Philadelphia, Pa.)* 2016 Sep 28.
 - 41) Moshfeghi DM, Singh K. Barriers to Follow-Up and Strategies to Improve Adherence to Appointments for Care of Chronic Eye Diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 4324-4331.
 - 42) Hipwell AE, Sturt J, Lindenmeyer A, Stratton I, Gadsby R, O'Hare P, Scanlon PH. Attitudes, access and anguish: a qualitative interview study of staff and patients' experiences of diabetic retinopathy screening. *BMJ Open* 2014; 4: e 005498.
 - 43) Palmer JJ, Chinanayi F, Gilbert A, Pillay D, Fox S, Jaggernath J, Naidoo K, Graham R, Patel D, Blanchet K. Trends and implications for achieving VISION 2020 human resources for eye health targets in 16 countries of sub-Saharan Africa by the year 2020. *Hum Resour Health* 2014; 12: 45.
 - 44) Rajalakshmi R, Arulmalar S, Usha M, Prathiba V, Kareemuddin KS, Anjana RM, Mohan V. Validation of Smartphone Based Retinal Photography for Diabetic Retinopathy Screening. *PLoS One* 2015; 10: e0138285.



CAPITOLO 20

WIDEFIELD IMAGING E INTELLIGENZA ARTIFICIALE

INTRODUZIONE

L'indagine fotografica retinica è ritenuta da più tempo indispensabile nella diagnosi e follow-up delle più frequenti e pericolose patologie neurocorio-retiniche, tra tutte la retinopatia diabetica, le maculopatie, il glaucoma.

La retina periferica non compresa pienamente dalla fotografia standard è stata poco considerata dalla letteratura nelle patologie riguardanti il polo posteriore fino allo studio ETDRS, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study [1].

Risultati sempre più rilevanti provenienti dall'esperienza clinica e dalla ricerca, fanno emergere l'esigenza di un esame fotografico più esteso, oltre le arcate vascolari in numerose patologie corio-retiniche, con l'intento di ricercare riscontri e possibili correlazioni fisiopatologiche tra le alterazioni al polo posteriore e quelle della retina periferica.

L'esigenza di documentare le patologie retiniche con un'imaging ad ampio campo si rafforza oggi ancor di più per le crescenti esigenze di prevenzione della funzione visiva, per le aumentate richieste in campo medico-legale, sempre più articolate, e per le garanzie assicurative e pensionistiche, molto onerose e con alti costi sociali.

Il termine AI, Artificial Intelligence, coniato per la prima volta negli anni Cinquanta, coinvolge tutte quelle macchine computazionali in grado di svolgere attività caratteristiche dell'intelligenza umana [2].

L'Institute for Business Value di IBM ha valutato che 82% delle imprese sta prendendo in considerazione la possibilità di utilizzare l'AI nella loro gestione, mentre il 60% ne frena l'adozione per i timori e le problematiche legate nell'attribuzione delle responsabilità decisionali; infine IBM riferisce che 63% di tutte le imprese non ha competenze interne in grado di gestire in modo sicuro i dati elaborati da AI [3].

Il connubio tra AI e mondo sanitario sta muovendo i primi passi, con un impatto crescente sul-

l'assistenza medica. In Oftalmologia l'AI è stata applicata con successo nell'interpretazione delle fotografie del fundus, nell'imaging tomografico a coerenza ottica, per la catalogazione dei campi visivi, con prestazioni "robuste" nel rilevamento di molte patologie, come la retinopatia diabetica e del prematuro, nel riconoscere le papille glaucomatose, l'edema maculare, la degenerazione maculare legata all'età [4].

L'utilizzo sempre più diffuso di Big Data o megadati, necessari per comprendere prima e meglio il follow-up delle malattie croniche e invalidanti, richiederà integrazioni digitali sempre più complesse.

L'imaging WF Widefield, UWF Ultra-Widefield, e AI saranno in futuro sempre più presenti nell'Oftalmologia del Terzo Millennio.

Lo scopo di quest'articolo è di approfondire queste due tematiche, delinearne più compiutamente le caratteristiche e le loro applicazioni, e indicare, per quanto possibile, i futuri sviluppi [5,6].

ETDRS E IMAGING WIDEFIELD

Un impulso decisivo all'imaging ad ampio campo in Oftalmologia è arrivato dalla pubblicazione dal trial ETDRS.

L'ETDRS è stato uno studio clinico multicentrico randomizzato sostenuto dal NEI, National Eye Institute, progettato per valutare l'efficacia della fotocoagulazione con argon laser verso il trattamento con aspirina nella gestione di pazienti con retinopatia diabetica non proliferante NPDR, Non-Proliferative Diabetic Retinopathy, o precocemente proliferante HR-PDR, High-Risk Proliferative Diabetic Retinopathy [7].

Iniziato nel dicembre 1979, completato nel giugno 1985, con follow-up nel 1988 e pubblicato nel 1991, l'ETDRS ha coinvolto 22 centri, 3.711 pazienti tra 18 e 70 anni, di entrambi i sessi, seguiti per un tempo non inferiore a 4 anni, senza precedenti trattamenti laser, e con un visus uguale o superiore a 20/40.



Fig. 1 - Reflex free Retinal Camera Zeiss progettata da J.W. Nordenson e venduta al prezzo di \$ 768 f.o.b. N.Y.

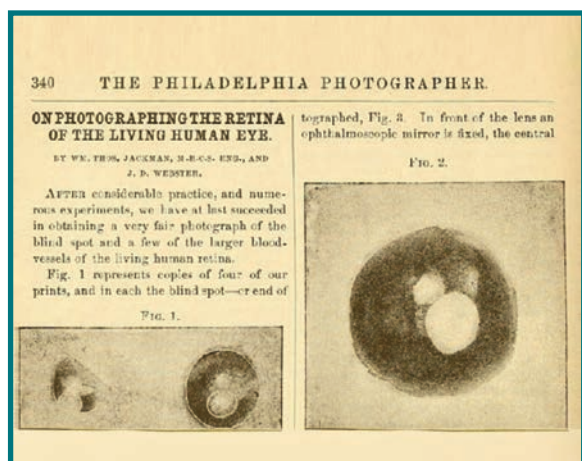


Fig. 2 - Pubblicazione sul "The Philadelphia Photographer" delle prime immagini della retina.

L'imaging retinico utilizzato da questo importante trial comprendeva una fotografia a 7 campi che oltrepassava le arcate vascolari.

Tale imaging permise una migliore diagnosi e trattamento della retinopatia diabetica, utilizzato presto come standard in molte patologie corioretiniche.

Le prime fundus camera Zeiss FF messe in vendita al prezzo di \$ 768 f.o.b. N.Y. (free on board, New York), permettevano di fotografare solo il nervo ottico e poca parte dell'area maculare, in pratica $10^\circ/20^\circ$, target dell'imaging per le patologie retiniche utilizzato fino agli anni Cinquanta/Sessanta [8] (figg. 1,2).

Da allora le funzionalità delle fundus camera sono notevolmente migliorate con device non-mydratic, l'illuminazione elettronica, l'allinea-

mento automatico dell'area pupillare e l'acquisizione digitale ad alta risoluzione.

L'area retinica fotografabile delle fundus camera in commercio permette una copertura di $45^\circ/60^\circ$.

Gli anni Ottanta hanno visto lo sviluppo e il plateau della fotografia retinica, con commercializzazione di numerosi devices capaci di fotografare, specie con un più frame, oltre le arcate vascolari retiniche [9-11].

L'apertura del campo retinico con 7-Field da 30° , standard fotografico ETDRS, copre un angolo di circa 75° [1,7] (fig. 3).

Per fotografare i sette campi si effettuano tre scatti sull'asse orizzontale, papilla ottica, macula e area temporale alla fovea, un quarto e quinto scatto

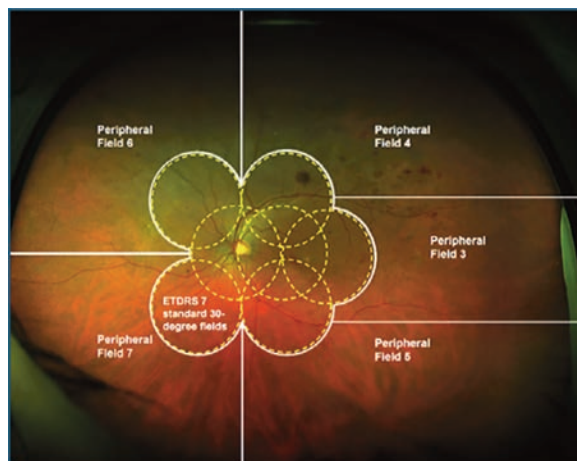


Fig. 3 - 7-Field ETDRS (Silva, et a.; Ophthalmology 2013).

per l'area supero-temporale ed infero-temporale, e infine un sesto e settimo scatto per l'area supero-nasale e infero-nasale. Il software monta le singole foto con un'imaging finale di circa $60^\circ/75^\circ$, sovrapponendo automaticamente aree retiniche simili.

In particolare i campi uno→tre coprono 60° , mentre gli altri aggiungono 45° in sovrapposizione; site to site si possono raggiungere 90° .

- TM. Clark nel 2007 illustrò e discusse sull'imaging fotografico a 9 campi, ritenendo tale protocollo fotografico necessario per una corretta diagnosi e follow-up in molte retinopatie periferiche, dall'infezione per citomegalovirus/AIDS alle uveiti posteriori, oltre che per la retinopatia diabetica [11].

Per i 9 campi sono necessarie fundus camera da $50^\circ/60^\circ$ (fig. 4).

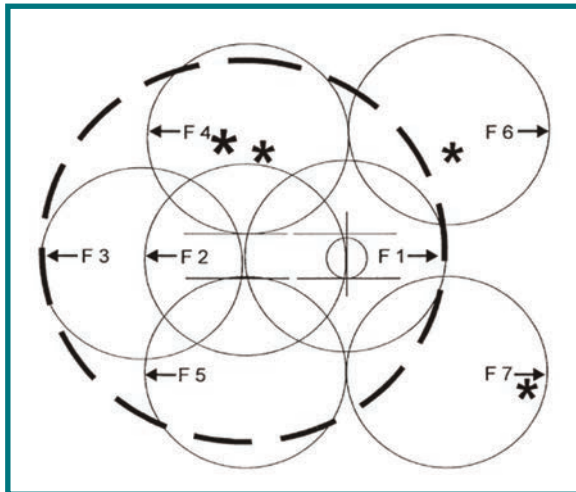


Fig. 4 - Sette campi standard (F1-F7) secondo protocollo ETDRS (occhio destro) con fundus camera 60°. [Flemming Møller et al. Diabetes Care 2001 Dec; 24(12): 2083-2085].

- W. Lotmar nel 1977 fu uno dei primi a descrivere la possibilità di ottenere un'imaging della retina con un'ampiezza angolare di 96° utilizzando illuminazione mobile e montaggio di 19 frame [12].

Tale imaging è tuttavia difficilmente attuabile senza una buona cooperazione del paziente, un'ampia dilatazione pupillare, lunghi tempi d'esecuzione, e un operatore esperto; di fatto non è proponibile nella pratica clinica di tutti i giorni. Negli ultimi anni sono stati proposti numerosi devices e messe a punto varie metodiche per ottenere un'imaging WF e UWF della retina. I più importanti e diffusi sistemi fotografici ad ampio campo in ordine di tempo sono:

- Equator-plus camera di Pomerantzeff- $148^\circ \rightarrow 1975$ [13]
- RetCam- $130^\circ \rightarrow 1977$ [14-16]
- Panoret- $1000-130^\circ \rightarrow 2002$ [17]
- Staurenghi lens- $150^\circ \rightarrow 2004$ [18,19]

Comunemente per WF s'intende un'imaging con $\text{FoV} \geq 50^\circ$ (FoV Field of View), mentre con UWF un'imaging con $\text{FoV} \geq 100^\circ$. Sono disponibili da qualche tempo nuove fundus camera capaci di coprire con più scatti, montaggio automatico, semiautomatico o manuale, un FoV di 200° (Optos e Zeiss) (fig. 5), spingendosi anche oltre, fino ad arrivare ad un Fov dichiarato di 267° (Clarus Zeiss 500/700) (fig. 6) [20].

Il FoV può essere misurato con due sistemi che prevedono due centri d'apertura goniometrica:

- 1) Centro goniometrico nell'area pupillare, sulla cristalloide anteriore;

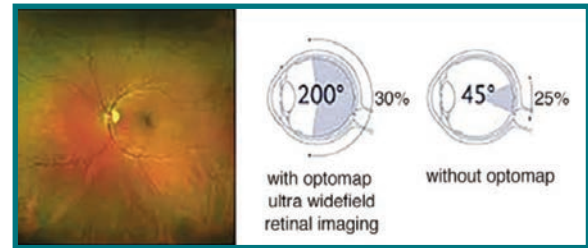


Fig. 5 - Optos Wide-Field Retinal Image e confronto FoV $45^\circ / 200^\circ$ (by Vision Source Signature eye care, Orland Park).



Fig. 6 - Sei catture fotografiche eseguite con Clarus 500 Zeiss (six shot) che permettono di raggiungere un FoV di 267° . La lunghezza misurabile site to site è 47/49 mm. Notare il confronto con l'area retinica a 45° .

- 2) Centro goniometrico all'inserzione tra l'asse equatoriale e l'asse anatomico (asse ottico) in camera vitrea.

L'area pupillare è utilizzata dai sistemi ottici con lente a contatto, non supera i 180° ed è conforme alle norme ISO 10940 (International Organization for Standardization).

La seconda metodica permette di coprire aree retiniche retro-equatoriali e l'area fotografabile può oltrepassare i 180° .

Utilizzando Clarus 500/700 Zeiss, per fare un esempio, con un solo scatto (one shot) si copre un'area retinica di 90° secondo le norme ISO 10940 e di 133° se trascuriamo le norme ISO (fig. 7) [5].

Naturalmente le due aree retiniche sono sovrapponibili e hanno identica estensione in mm^2 ; cambia solo la nomenclatura goniometrica.

Per ulteriori approfondimenti sui calcoli del FoV nell'imaging WF e UWF si rimanda alla all'articolo "Evoluzione della fotografia retinica e Imaging Widefield" pubblicato su questa stessa Rivista (Oftalmologia domani Anno IX – 2018) [5].

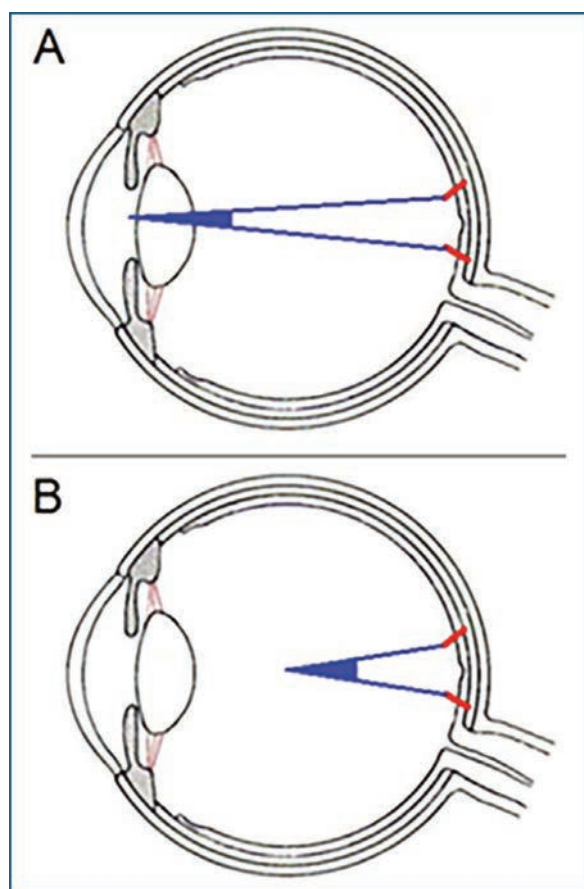


Fig. 7 - Apertura angolare FoV secondo le norme ISO (Riquadro A) e non ISO (Riquadro B) e i due centri goniometrici corrispondenti.

IMAGING WF/UWF: PERFORMANCE DIAGNOSTICHE

Importanti osservazioni cliniche in molteplici patologie testimoniano sempre con maggior forza l'importanza dell'imaging WF e UWF, tracciando ed esaltando il valore diagnostico e prognostico dell'ampio campo.

- *Samir S Shoughy et al.*, in un loro studio, confermano l'efficacia dell'imaging WF/UWF nella diagnosi e follow-up della DR Diabetic Retinopathy, nelle uveiti, occlusioni vascolari, tumori endoculari, nella ROP Retinopathy of Prematurity, nelle degenerazioni periferiche con o senza rotture retiniche e di distacco retinico, oltre che nelle maggior parte delle patologie che interessano il polo posteriore [21].

- *Patel RD et al.* confermano le ricerche di altri studiosi nel ritenere che l'ischemia retinica può indurre e sostenere il DME Diabetic Macular Edema.

Nel loro studio l'associazione tra aree retiniche periferiche non perfuse, con o senza neovasi, e persistenza di DME è stata ben documentata e descritta [22].

- *Tan CS et al.* affermano che l'avvento della UWFA Ultra-Widefield Fluorescein Angiography ha permesso una più attenta valutazione dei processi vascolari corioretinici, indicando nuove vie di trattamento in caso di DME [23].

- *Brown DM et al.* dimostrano che la modalità di trattamento laser TRP Targeted Retinal Photocoagulation potrebbe sostituire, specialmente nella DR avanzata con DME, la panfotocoagulazione retinica, riducendone le inevitabili sequele visive.

Un trattamento selettivo delle aree retiniche sorgenti di VEGF suggerisce inoltre la positiva combinazione tra laser maculare, TRP e anti-VEGF, incoraggiandone la modalità d'utilizzo [24].

- *Leder HA et al.* hanno studiato e dimostrato l'utilità del UWF nelle vasculiti non infettive e nella Behçet.

Dalle loro indagini e dalla letteratura emerge che i vasi retinici prequatoriali possono determinare spesso leakage, ischemia, e generare neovasi difficili da individuare senza l'ausilio di una retinografia ad ampio campo [25,26].

- *Prasad et al.* già dal 2010 hanno studiato l'efficacia dell'UWFA nelle occlusioni di branca e emicentrali.

Nel loro lavoro riferiscono che UWF è essenziale per una migliore diagnosi, gestione e trattamento delle patologie vascolari.

Un'imaging esteso permette infatti d'individuare prima e con maggior precisione le aree non perfuse, di delimitare in modo accurato le aree target da fotocoagulare, di tutelare le aree retiniche ancora perfuse [27].

- *Madhusudhan S. e Beare N.*, dissertando sulla patogenesi dell'AMD Age Macular Degeneration, hanno confermato l'importanza dell'ipossia e dell'ischemia tissutale della retina periferica come fattori patogenetici di neovasi in corso di AMD [28].

- *Tan CS et al.*, confermando queste ricerche, ribadiscono che, con buona probabilità, l'indice più sensibile per l'AMD neovascolare è il riscontro di leakage retinico, più agevolmente evidenziabile in periferia se si utilizza UWFA. Concludono tuttavia dicendo che l'associazione tra aree non perfuse in periferia e insorgenza di neovasi in area maculare in caso di AMD non è finora adeguatamente supportata da significatività rilevanti dal punto di vista statistico [29].

- *Patel CK et al.*, in una loro recente pubblicazione, affermano che le Skip areas nella ROP possono essere più agevolmente evidenziate ed effi-

cacemente trattate con laser e/o anti-VEGF se si utilizza un'imaging fluorangiografico UWFA [30].

- *Reznicek L et al.* hanno revisionato alla luce dell'UWF e dell'autofluorescenza gli studi di Shields et al. del 1995 per la diagnosi di melanoma maligno [31,32].

Gli studi di Shields identificavano cinque criteri da seguire nella diagnosi differenziale tra melanoma maligno e nevo benigno della coroide:

- 1) *presenza di uno spessore >2 mm;*
- 2) *fluido sottoretinico;*
- 3) *presenza di sintomi clinici;*
- 4) *colorazione orange sulla superficie della neoformazione;*
- 5) *localizzazione ad una distanza di 3 mm dal nervo ottico [33].*

Gli autori affermano che l'utilizzo dell'UWF migliora e rende più agevole la diagnosi differenziale per melanoma rispetto al tradizionale imaging.

Le performances dell'UWF hanno trovato inoltre positiva applicazione nella malattia di Coats [34], di Von Hippel-Lindau [35], nel distacco di retina, permettendo oltretutto maggiori tutele in campo medico-legale.

INTELLIGENZA ARTIFICIALE

L'AI ha avuto inizio nel 1956 dopo un seminario tenutosi presso il Dartmouth College di Hanover, nella Contea di Grafton, nella Stato di New Hampshire, US [36].

Al quel workshop gli interventi di John McCarthy e Marvin Minsky del MIT Massachusetts Institute of Technology, di Allen Newell e Herbert Simon della CMU Carnegie Mellon University, e di Arthur Samuel della IBM International Business Machines Corporation, dimostrarono inconfutabilmente i risultati promettenti dell'AI applicata ai computer per quanto riguardo il gioco a scacchi, la risoluzione di problemi algebrici e dei teoremi logici [36].

L'AI globalmente considerata comprende: Machine Learning ML e Deep Learning DL (fig. 8).

Il termine ML è stato adoperato inizialmente nel 1959 da Arthur Samuel; in merito scriveva: "il computer dovrebbe avere la capacità di apprendere usando varie tecniche statistiche, senza essere programmato esplicitamente" [37-40].

La ML è in sostanza la capacità di una macchina ad apprendere sequenze e processi logico-infor-

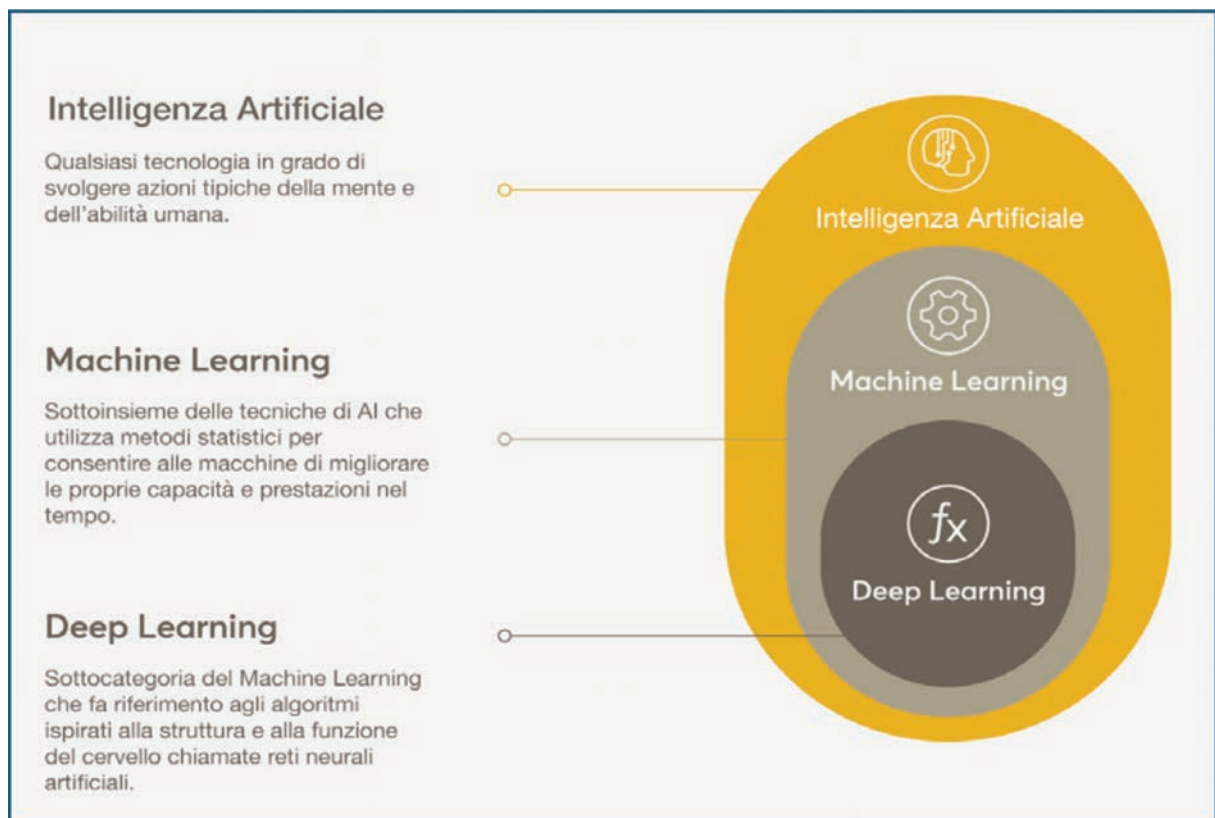


Fig. 8 - Intelligenza artificiale: Machine Learning e Deep Learning (<https://userbot.ai/blog/cose-l'intelligenza-artificiale/>).

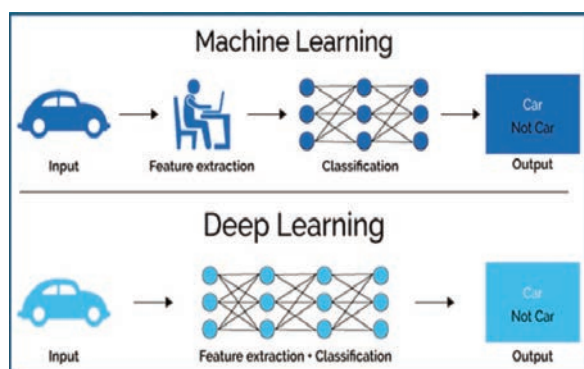


Fig. 9 - Struttura dell'organizzazione di Machine Learning e Deep Learning.
(<https://vitolvechia.altervista.org/caratteristiche-edifferenza-tra-machine-learning-e-deep-learning/>)

matici senza uno specifico programma di base. Esempi di ML sono i sistemi di visione artificiale o la capacità di un sistema computazionale nel riconoscere oggetti acquisiti digitalmente da sensori d'immagine [37].

L'apprendimento approfondito DL è invece uno dei possibili approcci all'apprendimento automatico.

La DL è anche denominata apprendimento strutturato, profondo, gerarchico; in sostanza è una sottocategoria della ML e indica la branca dell'AI che utilizza gli algoritmi ispirati alla struttura e alla funzione del cervello umano, alle reti neurali, artificial neural network, organizzate a due o più strati, hidden layers, per elaborare informazioni in modo lineare (fig. 9).

In altre parole DL è un livello più alto d'intervento dell'AI [37] (fig. 10).

La rete neurale della DL è, infatti, organizzata come un insieme di neuroni artificiali connessi tra loro; sono progettati per essere "allenati" nel risolvere un particolare problema (fig. 11).

Nel campo dell'apprendimento automatico, una rete neurale artificiale ANN, artificial neural network, è infatti un modello computazionale composto da più "neuroni" artificiali che si ispirano alla rete neurale biologica.

L'insieme dei neuronali nella DL, come già riferito, sono suddivisi a loro volta in gruppi, in layers (strato, livello), connessi tra loro a formare una rete complessa, come nel cervello umano.

Quando il numero di layers aumenta, la rete neurale è definita profonda, da cui il termine DL [37,38].

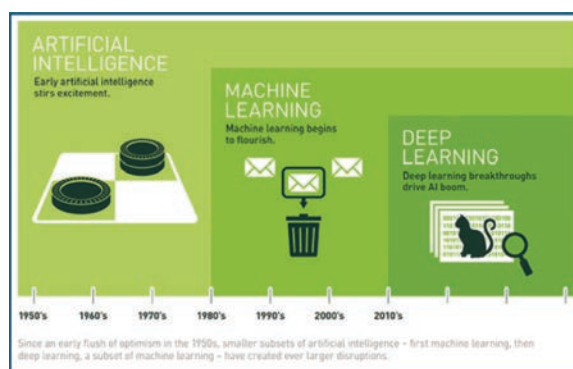


Fig. 10 - Evoluzione dell'Intelligenza Artificiale.
(<https://tech.everyeye.it/articoli/speciale-deep-learningneural-network-ai-qual-differenza-41269.html>).

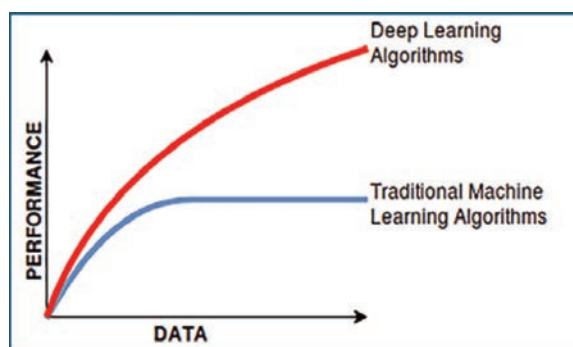


Fig. 11 - Grafi ci delle performance di Machine Learning e Deep Learning. Plot of Amount of Data (x-axis) vs. Performance (y-axis).
(<https://www.datacamp.com/community/tutorials/machine-deep-learning>).

L'AI, basata sull'apprendimento approfondito DL, ha suscitato un enorme interesse, un'attenzione globale negli ultimi anni.

Si può affermare che la strada per lo sviluppo della scienza intercetterà sempre più AI, ne comprenderà le caratteristiche, utilizzando le sue performance.

La DL è stata ampiamente adottata nel riconoscimento d'immagini, in quello vocale, e nell'elaborazione del linguaggio. Un esempio sono i comandi vocali disponibili nelle automobili di ultima generazione per la gestione del telefono, del navigatore satellitare, e per molte altre funzioni, come gli ADAS Advanced Driver Assistance Systems, avanzati sistemi di guida assistita. L'avvento della AI è ritenuta a ragione da più parti la sesta rivoluzione industriale dopo la prima industria aperta a Cromford (England) nel 1771, l'età del vapore e delle rotaie con la prima locomotiva "Rocket" sulla ferrovia Liverpool-Manchester(England) nel 1829, gli anni dell'acciaio e dell'elettri-

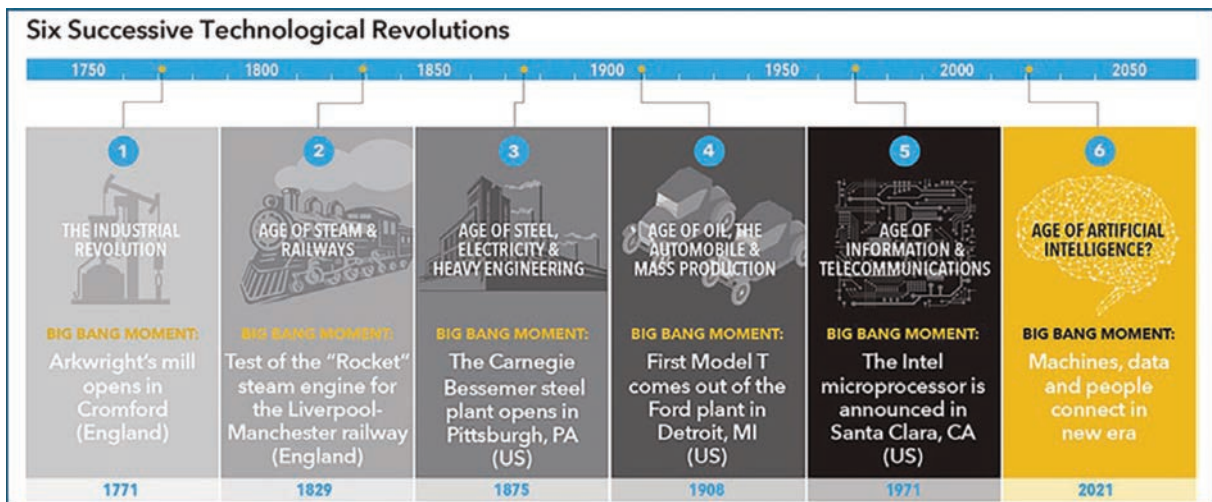


Fig. 12 - La successione delle sei rivoluzioni tecnologiche (<https://www.capitalgroup.com>).

cità, con l'apertura dell'acciaieria Carnegie Bessemer a Pittsburgh (US) nel 1875, gli anni dell'automobile con la vendita del modello Ford T a Detroit (US) nel 1908, gli anni dell'informatica con il primo microprocessore Intel costruito a Santa Clara in California (US) nel 1971 (fig. 12).

Il connubio tra AI e mondo sanitario sta muovendo i primi passi, con un impatto crescente sull'assistenza medica. La DL nell'imaging oculare ha trovato iniziale utilizzo e successo nella telemedicina, offrendo un grande aiuto a monitorare le principali patologie e indirizzare le cure primarie. Le potenziali opportunità di AI nel mondo sanitario stanno tuttavia aprendo notevoli problematiche medico-legali e non poche perplessità da parte di medici e pazienti. Queste perplessità muovono dal fatto che DL utilizza algoritmi black-box, largamente diffusi, trovando inevitabili ostacoli e, in parte, condivisibili perplessità. Il modello black box è una scatola nera, leggibile solo in uscita (output) dopo una determinata sollecitazione in ingresso (input); il suo funzionamento interno è invisibile, rimane ignoto. La black box si contrappone al modello white box, dove il sistema è invece una scatola trasparente, sono note le componenti interne ed è chiaro il loro funzionamento.

Esiste un terzo modello, il grey box, in cui il sistema utilizza un approccio intermedio, misto, white box e black box (fig. 13) [38].

Utilizzando l'apprendimento automatico, l'algoritmo può fare previsioni basate sui dati inseriti in fase di addestramento con due modalità, supervisionato o non supervisionato. L'apprendi-

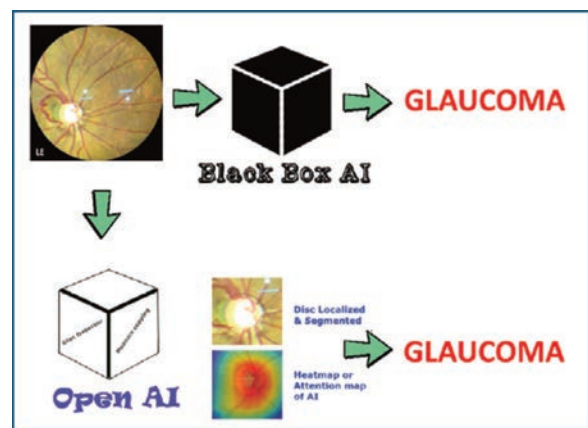


Fig. 13 - Black Box e White Box (Akkara JD, Kuriakose A. Role of artificial intelligence and machine learning in ophthalmology. Kerala J Ophthalmol 2019;31:150-60).

mento supervisionato consiste nel formare un modello da dati già etichettati, ottimizzando gli input per migliorare l'accuratezza delle sue previsioni, e accelerare così il processo di classificazione, utile per discriminare i risultati clinici.

L'apprendimento senza supervisione elabora dati senza etichetta, senza intervento dell'uomo. Finora, i metodi adottati nella maggior parte degli studi di ricerca sono in forma controllata; l'accuratezza e l'efficacia sono più affidabili in condizioni supervisionate [40].

- LeCun Y et al. riferiscono che l'avvento delle unità di elaborazione GPU Graphics Processing Unit utilizzate da DL, permettono una maggiore potenza di elaborazione. DL è la tecnica di ML maggiormente diffusa, con più livelli di elaborazione e migliore rappresentazione dei dati a diversi livelli di astrazione anche grazie alle unità GPU [39-42].

L'elaborazione GPU, nota anche come VPU Visual Processing Unit, unità di elaborazione visiva, utilizza una tipologia di coprocessore specializzato nel rendering delle immagini grafiche.

A sua volta, nella computer grafica il rendering (restituzione grafica) si identifica nella "resa", cioè la capacità di generare un'immagine a partire da una descrizione matematica tridimensionale [43].

Il rendering entra in gioco nel montaggio video, giochi per computer, simulatori, effetti visuali per film e serie TV. L'AI in altre parole trova utilizzo crescente in tutti i campi dell'industria e del business (fig. 14).

L'AI sta entrando anche nell'imaging in Oftalmologia migliorando i software degli OCTA Optical Coherence Tomography Angiography.

Un esempio è l'integrazione di AI nel controllo dei dati normativi per le misurazioni della densità capillare e del flusso. Le analisi statistiche integrate con AI potranno mostrare cambiamenti morfologici in conformità a immagini ad alta risoluzione OCTA, misurabili e confrontabili con i database nella gestione di patologie largamente

diffuse come maculopatie, glaucoma, migliorando il trattamento e il tempismo nelle terapie intravitreali, specie in corso di membrane neovascolari [39,40].

I metodi di AI sono stati infatti applicati per facilitare il rilevamento precoce e automatico dei cambiamenti vascolari, oltre che nella previsione della progressione di molte lesioni patologiche [39].

Le black box sono un importante limite da superare per aumentare la fiducia del mondo sanitario verso l'utilizzo della AI in modo più diffuso.

In un prossimo futuro l'applicazione su larga scala della DL potrebbe rivoluzionare tutta la diagnostica in medicina e condizionare le scelte terapeutiche, con inevitabili ripercussioni sul business dei farmaci. L'AI, oltre a comprendere ML e DL, si manifesta in molte realtà informatiche:

- Il *Cognitive Computing* è una sottocategoria dell'AI che consente all'uomo di interagire con le macchine e parlare con esse. L'obiettivo è consentire a una macchina di simulare i processi umani, interpretare le immagini e le conversazioni, per poi intervenire in modo coerente nella risposta.

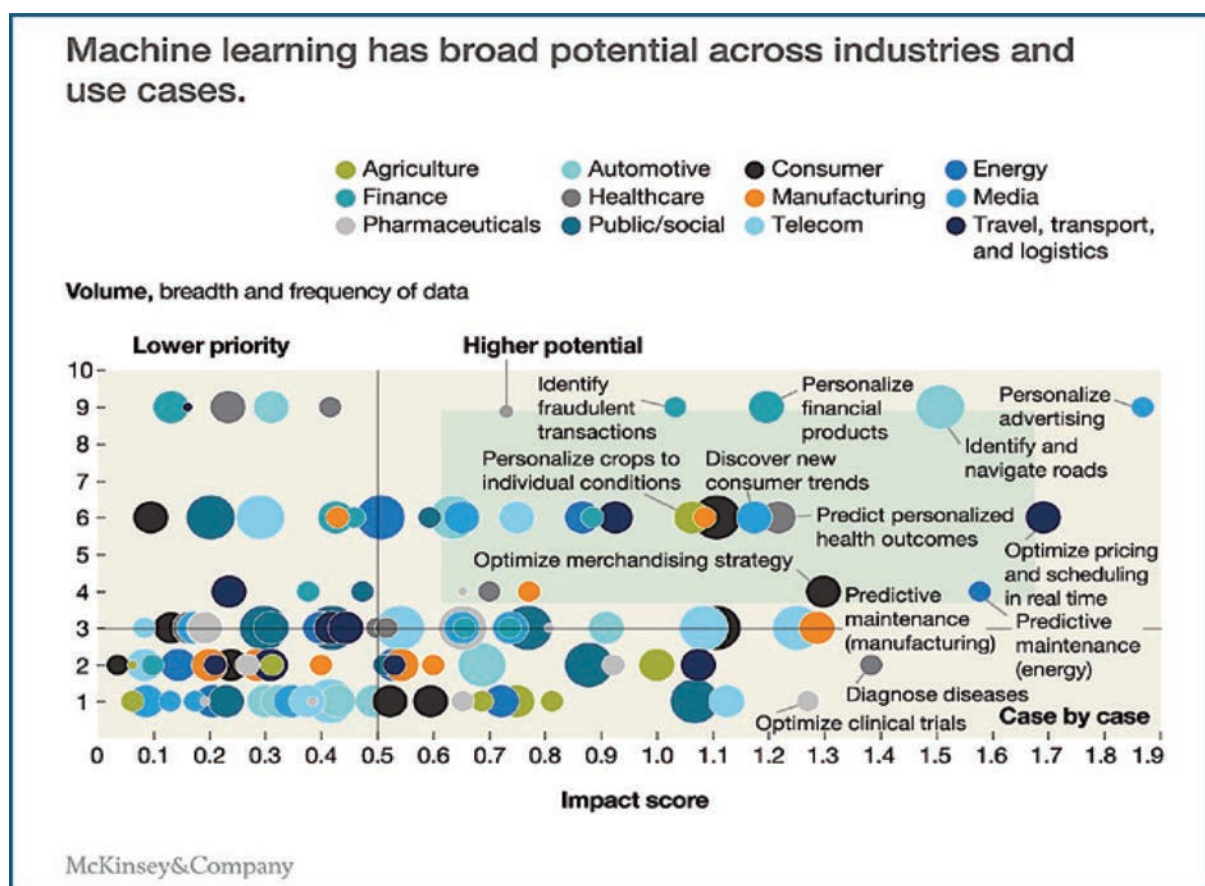


Fig. 14 - Campi di applicazione dell'Intelligenza Artificiale (<https://www.pinterest.it/pin/42925002684900031/>).

- La *Computer Vision* o visione artificiale si basa sul riconoscimento di pattern e sull'apprendimento profondo al fine di riconoscere oggetti e/o persone presenti in una foto o in un video. È l'insieme dei processi che mirano a creare un modello approssimato del mondo reale (3D) partendo da immagini bidimensionali (2D); lo scopo principale della visione artificiale è quello di riprodurre la vista umana;

- Il *Natural Language Processing (NLP)* è la capacità dei computer di analizzare, comprendere e generare il linguaggio umano, la lingua parlata; in altri termini consente di comunicare con i computer utilizzando il normale linguaggio parlato per eseguire le più disparate attività.

BIG DATA E AI

Il vero carburante dell'AI sono i dati immessi da analizzare. Maggiori sono i dati migliore sarà l'elaborazione finale. La massa dei dati quando diventa di grandi entità è etichettata come Big Data (fig. 15).

Il termine Big Data fu adoperato nel 1998 per la prima volta da John Mashey, al tempo Chief Scientist di SGI, Silicon Graphics Inc, produttore americano di computer ad alte prestazioni [45].

In statistica e informatica il termine Big Data (grandi masse di dati o megadati) [46], indica un'ampia raccolta di informazioni per volume, velocità e varietà da richiedere tecnologie complesse e l'ausilio di metodi analitici per riuscire a trarne utilità [47].

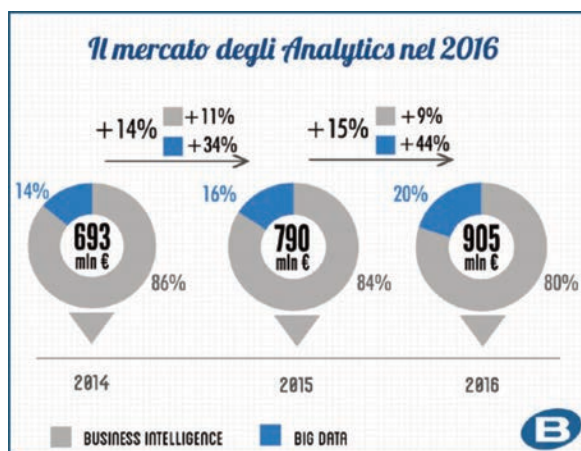


Fig. 15 - Risultati della ricerca dell'Osservatorio dei Big data Analytics e Business Intelligence della School of Management del Politecnico di Milano presentati al convegno Big data: guidare il cambiamento, liberare il valore (<https://blog.bhuman.it/evoluzione-dei-big-data-in-italia-574bf09ae020>).

Nel mondo dei Big Data si è passati velocemente dal modello 3 V, Volume, Velocità e Varietà, elaborato nel 2001 da Doug Laney, analista del Gartner Blog Network, al modello 5 V, con l'aggiunta di altre due caratteristiche, Veridicità e Valore.

Brevemente vediamo le caratteristiche:

- *Il Volume è la quantità dei dati;*
- *La Velocità è la rapidità d'acquisizione;*
- *La Varietà rappresenta la coesistenza dei dati eterogeni provenienti da differenti fonti, human o machine, più o meno strutturati e organizzati in maniera e in formati differenti;*
- *La Veridicità coincide con le esigenze della qualità del dato; impedisce che i risultati siano privi di significato. Il sistema fa entrare con un "si" i dati idonei allo scopo dell'analisi, ed esclude con un "no" i dati corrotti, che richiedono ulteriori elaborazioni;*
- *Il Valore si riferisce alla capacità di trasformare i dati nel valore effettivo, che migliora il business in senso lato (figg. 16a,16b).*

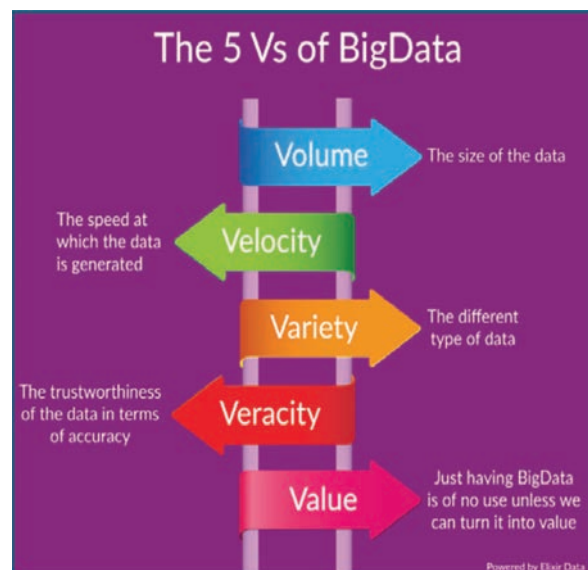


Fig. 16a - La 5 V dei Big Data (<https://www.xenonstack.com/blog/streaming-integration-solution-platform/>).



Fig. 16b - Caratteristiche aggiuntive dei Big Data (<https://www.xenonstack.com/blog/streaming-integration-solution-platform/>).

Con il passare del tempo, nuove caratteristiche si sono aggiunte al modello 5V, ad esempio:

- *La Variabilità si riferisce alla possibilità di inconsistenza dei dati;*
- *La Complessità è la dimensione del dataset.*

Per la complessità dei Big Data è nata “la scienza dei dati” che mette in relazione informazioni eterogenee, strutturate e non strutturate, per estrarre correlazioni e fare previsioni.

La disciplina può essere vista come un’evoluzione dei tradizionali metodi di business intelligence, allargata al trattamento di quantità di dati ancor più variegati e, soprattutto, più voluminose [47].

Il termine “Scienza dei dati” è stato introdotto nel 1974, dall’informatico danese Peter Naur, (25 ottobre 1928 – 3 gennaio 2016), vincitore del Premio Turing, pioniere dell’informatica, nel suo libro “*Concise Survey of Computer Methods*” [48,49].

Il volume della ricerca biomedica sta aumentando rapidamente; solo una piccola parte dei dati raccolti dalla ricerca si traduce però in cure di routine.

Un’analisi del National Academy of Medicine ha rilevato che sono necessari 17 anni affinché il 14% dei risultati della ricerca passi alla pratica clinica [50].

I dati, sebbene necessari, non sono sufficienti da soli per trasformarsi in pratica medica.

Framework è un termine della lingua inglese che può essere tradotto come intelaiatura o struttura; in informatica e nello sviluppo software, è un’architettura logica di supporto su cui un software può essere progettato e realizzato.

Un framework comunemente usato da AI è la gerarchia DIKW “data, information, knowledge, and wisdom”, dati, informazioni, conoscenze e saggezza. Tali concetti risalgono agli anni Ottanta [51,52].

Damman O. recentemente ha proposto di modificare DIKW in DIEK “data, information, evidence, and knowledge” dati, informazioni, prove e conoscenze, per accentuare l’importanza da attribuire alle prove.

In questo quadro, per portare una qualche conoscenza, i dati devono essere pertinenti, solidi, ripetibili e riproducibili [53].

In questo processo di cernita e analisi dei dati l’AI gioca un ruolo fondamentale; i Big data sono l’elemento fondamentale e necessario di ogni applicazione e ricerca basata su AI.

AI e Big data sono in altri termini il soggetto e il predicato necessari per dare inizio a qualunque processo informatico basato su grandi numeri con l’elaborazione di una mediazione intelligente non dovuta all’uomo.

CONCLUSIONI E CONSIDERAZIONI

L’intelligenza artificiale ha notevolmente rivoluzionato il nostro stile di vita. AI ha modificato molti aspetti della società moderna, come il riconoscimento degli oggetti nelle immagini, la traduzione delle lingue in tempo reale, la manipolazione dei dispositivi tramite la voce. Un esempio sono Siri di Apple, Amazon Alexa e Microsoft Cortana.

Studi recenti indicano che AI ha un potenziale sorprendente nell’eseguire molto meglio degli esseri umani alcuni compiti, in particolare nel campo del riconoscimento delle immagini.

Le Nazioni Unite hanno recentemente riferito che metà dell’umanità è connessa a Internet, con una forte crescita in Africa e nei paesi in via di sviluppo economico [54].

Un così vasto aumento di dati e connettività offre grandi opportunità.

La quantità di dati nell’imaging in Oftalmologia cresce in modo esponenziale; l’analisi e l’elaborazione di questi dati richiede grande dispendio di energie.

L’invecchiamento della popolazione è un dato demografico presente in tutto il mondo, e le malattie invalidanti la vista sono destinate ad aumentare rapidamente. I metodi di diagnosi convenzionali dipendono enormemente dall’esperienza e dalle conoscenze professionali dei medici; è tuttavia un dato statistico confermato che la possibilità di errore possa essere maggiormente elevata utilizzando solo il capitale umano.

L’integrazione tra AI e Oftalmologia offre la possibilità di aumentare la certezza diagnostica e allargare la platea dei pazienti, con un impatto clinicamente significativo. Numerosi studi hanno dimostrato che gli algoritmi DL sono molto attendibili se applicati all’analisi istopatologica della mammella [55], per la classificazione del cancro della pelle [56], la previsione del rischio di malattie cardiovascolari [57] e nel rilevare il cancro del polmone [58].

In Oftalmologia le ricerche a favore dell’integrazione di AI sono numerose.

Gulshan V et al. hanno sperimentato con successo la validazione degli algoritmi DL nella diagnosi retinica della DR [59].

Quelleg G et al. si sono cimentati nel convalidare la possibilità di eseguire uno screening efficace utilizzando DL per la DR [60].

Caixinha M et al. hanno studiato la possibilità, l'efficacia e i vantaggi dell'utilizzo di DL nella visione artificiale [61].

E. Rahimy ha infine tracciato le linee guida dell'utilizzo della AI in Oftalmologia [62].

La lista delle pubblicazioni potrebbe ancora continuare. Se si esegue una ricerca su PubMed, fino a settembre 2018, si trovano ben 243 lavori inerenti AI e patologie oftalmologiche [63].

Le patologie maggiormente studiate sono DR, glaucoma, AMD e cataratta.

Molti sono i progressi ancora da compiere e le implementazioni che AI potrà avere in futuro.

Le applicazioni di DL si sono avvicinate al problema della classificazione delle patologie utilizzando un sistema binario che prevede due risposte, Sì oppure No, presente o assente.

Le patologie retiniche in concreto sono spesso non isolate, coesistendo danni retinici multipli.

Un modello DL addestrato per rilevare l'AMD non considererà per esempio il glaucoma, perché ha solo la capacità di discriminare macule on-AMD da macule off-AMD.

Choi J.Y. et al. hanno applicato DL per rilevare con fotografie del fondo diverse malattie della retina in modo automatico. Quando il modello di AI proposto era di fronte a solo immagini di retine normali o DR, l'accuratezza della classificazione era 87,4%; scendeva drasticamente al 30,5% se venivano proposte più patologie contemporaneamente [64].

Per migliorare ulteriormente l'applicabilità dell'IA nella pratica clinica si dovranno compiere maggiori sforzi, costruire sistemi intelligenti in grado di rilevare diverse malattie della retina, senza diminuire l'accuratezza diagnostica [63].

La necessità di enormi quantità di dati rimane il problema fondamentale. Ancora non esistono archivi di Big data sufficienti per tutte le patologie. Le immagini che rappresentano le varie progressioni delle patologie retiniche, o malattie rare, sono ancora insufficienti.

Tutte le caratteristiche della popolazione, l'esistenza di varie malattie sistemiche, e i diversi fenotipi della stessa patologia non sono ancora ade-

guatamente considerati. Per tale limitazione i dati in entrata, input, possono essere non pienamente identificati.

Queste considerazioni non devono far pensare che siamo agli albori di AI in medicina [63].

I progressi nel campo di AI sono tumultuosi, procedono inarrestabili e con andamento logaritmico.

Il passaggio verso una cultura sempre più online e interamente digitale potrebbe comportare la rinuncia della ricerca tradizionale, perdendo la personalizzazione nei risultati.

AI deve essere considerata un'opportunità e non un ostacolo.

Per essere i protagonisti di questo cambiamento culturale già in atto e comunque inarrestabile, sono necessarie una sapiente gestione e un'attenta ottimizzazione dei risultati che AI può fornire, avendo presente, come obiettivo primario il bene del malato, a cui deve tendere sempre ogni azione del medico.

REFERENCES

- 1) Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. ETDRS report number 7. Ophthalmology. 1991 May;98 (5 Suppl):741-56.
- 2) Marcus Hutter, Universal Artificial Intelligence. Berlin, Springer, 2005, ISBN 978-3-540-22139-5.
- 3) <https://www.ibm.com/it>.
- 4) Sciuto D. Introduzione ai sistemi informatici. Milano, McGraw-Hill, 2002.
- 5) Lucente A. Evoluzione della fotografia retinica e Imaging Widefield. Oftalmologia domani Anno IX – 2018.
- 6) Lucente A. Anatomia vascolare retinica Angio-OCT, Slabs di decorrelazione & Intelligenza artificiale. Oftalmologia domani Anno X – 2019.
- 7) Diabetic retinopathy study. Report Number 6. Design, methods, and baseline results. Report Number 7. A modification of the Airlie House classification of diabetic retinopathy. Prepared by the Diabetic Retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 1981;21(1 Pt 2):1-226.
- 8) Nordenson J.W. Augenkamera zum stationarem Ophthalmoskop von Gulstrand Berl. Dtsch.Ophthalm 1925; Ges. 45. 278.
- 9) Webb RH, Hughes GW, Pomerantzeff O. Flying

- Spot TV Ophthalmoscope. *Appl Opt* 1980 Sep;19(17):2991-7.
- 10) <https://www.opticianonline.net/cet-archive/188>.
 - 11) Clark TM. Retinal photography and angiography via film and digital imaging techniques. In: Arevalo JF, ed. *Retinal angiography and optical coherence tomography*, 1st ed. New York: Springer, 2008; chap. 1.
 - 12) Lotmar W. A fixation lamp for panoramic fundus pictures (author's transl) [in German]. *Klin Monbl Augenheilkd* 1977; 170:767-74.
 - 13) Pomerantzeff O. Equator-plus camera. *Invest Ophthalmol* 1975; 14:401-06.
 - 14) Schwartz SD, Harrison SA, Ferrone PJ, Trese MT. Telemedical evaluation and management of retinopathy of prematurity using a fiber-optic digital fundus camera. *Ophthalmology* 2000; 107:25-8.
 - 15) Wu C, Petersen RA, VanderVeen DK. RetCam imaging for retinopathy of prematurity screening. *J AAPOS* 2006;10: 107-11.
 - 16) Azad R, Chandra P, Khan MA, Darswal A. Role of intravenous fluorescein angiography in early detection and regression of retinopathy of prematurity. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2008; 45:36-9.
 - 17) PÉer J, Sancho C, Cantu J, et al. Measurement of choroidal melanoma basal diameter by wide-angle digital fundus camera: a comparison with ultrasound measurement. *Ophthalmologica* 2006; 220:194-7.
 - 18) Staurengi G, Viola F, Mainster MA, et al. Scanning laser ophthalmoscopy and angiography with a wide-field contact lens system. *Arch Ophthalmol* 2005; 123:244-52.
 - 19) Spaide RF, Orlock DA, Herrmann-Delemazure B, et al. Wide-angle indocyanine green angiography. *Retina* 1998; 18:44-9.
 - 20) Ultra-Wide Imaging True colour ultra-wide-field imaging is now a reality in practice, writes independent optometrist Craig McArthur. *Product Focus* 2018, 16 March opticianonline.net.
 - 21) Samir S Shoughy, J Fernando Arevalo, Igor Kozak. Update on wide-and ultra-widefield retinal imaging. *Indian J of Ophthalmology* 2015.
 - 22) Wessel MM, Nair N, Aaker GD, Ehrlich JR, D'Amico DJ, Kiss S. Peripheral retinal ischaemia, as evaluated by ultra-widefield fluorescein angiography, is associated with diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol*. 2012 May; 96(5):694-8.
 - 23) Tan CS, Sadda SR, Hariprasad SM. Ultra-wide-field retinal imaging in the management of diabetic eye diseases. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2014; 45:363-6.
 - 24) Brown DM, Ou WC, Wong TP, Kim RY, Croft DE, Wyckoff CC; DAVE Study Group. Targeted Retina Photocoagulation for Diabetic Macular Edema with Peripheral Retinal Nonperfusion: Three-Year Randomized DAVE Trial. *Ophthalmology*. 2018 May; 125(5):683-690.
 - 25) Leder HA, Campbell JP, Sepah YJ, Gan T, Dunn JP, Hatef E, et al. Ultrawide-field retinal imaging in the management of non-infectious retinal vasculitis. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2013; 3:30.
 - 26) Mesquida M, Llorenç V, Fontenla JR, Navarro MJ, Adán A. Use of ultra-wide-field retinal imaging in the management of active Behçet retinal vasculitis. *Retina* 2014; 34:2121-7.
 - 27) Prasad PS, Oliver SC, Coffee RE, Hubschman JP, Schwartz SD. Ultra wide-field angiographic characteristics of branch retinal and hemicentral retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 2010; 117:780-4.
 - 28) Madhusudhan S, Beare N. Wide-field fluorescein angiography in wet age-related macular degeneration. *The Scientific World Journal Vol* 2014, Article ID 536161, 7 pages.
 - 29) Tan CS, Heussen F, Sadda SR. Peripheral autofluorescence and clinical findings in neovascular and non-neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2013; 120:1271-7.
 - 30) Patel CK, Fung TH, Muqit MM, Mordant DJ, Brett J, Smith L, et al. Non-contact ultra-wide-field imaging of retinopathy of prematurity using the Optos dual wavelength scanning laser ophthalmoscope. *Eye (Lond)* 2013; 27:589-96.
 - 31) Reznicek L, Stumpf C, Seidensticker F, Kampik A, Neubauer AS, Kernt M. Role of wide-field autofluorescence imaging and scanning laser ophthalmoscopy in differentiation of choroidal pigmented lesions. *Int J Ophthalmol* 2014; 7:697-703.
 - 32) Shields CL, Shields JA, Kiratli H, De Potter P, Cater JR. Risk factors for growth and metastasis of small choroidal melanocytic lesions. *Ophthalmology* 1995; 102:1351-61.

- 33) Kernt M, Schaller UC, Stumpf C, Ulbig MW, Kampik A, Neubauer AS. Choroidal pigmented lesions imaged by ultra-wide-field scanning laser ophthalmoscopy with two laser wavelengths (Optomap). *Clin Ophthalmol* 2010; 4:829-36.
- 34) Kang KB, Wessel MM, Tong J, D'Amico DJ, Chan RV. Ultra-widefield imaging for the management of pediatric retinal diseases. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2013; 50:282-8.
- 35) Haddad NM, Cavallerano JD, Silva PS. Von hippel-lindau disease: A genetic and clinical review. *Semin Ophthalmol* 2013; 28:377-86.
- 36) Marcus Hutter. *Universal Artificial Intelligence*. Berlin, Springer, 2005, ISBN 978-3-540-22139-5.
- 37) Gardner A. *An Artificial Intelligence Approach to Legal Reasoning*, 0262071045, 9780262071048 MIT 1987.
- 38) D. Sciuto. *Introduzione ai sistemi informatici*. Milano, McGraw-Hill, 2002.
- 39) Hutchinson A, McIntosh A, Peters J, et al. Effectiveness of screening and monitoring tests for diabetic retinopathy: a systematic review. *Diabet Med*. 2000;17(7):495-506.
- 40) LeCun Y, Bengio Y, Hinton G. Deep learning. *Nature*. 2015; 521(7553): 436-444.
- 41) Andrew S. Glassner. *Principles of Digital Image Synthesis*. <http://books.google.com>.
- 43) Cecilia S. Lee, Ariel J. Tying, Yue Wu, sa Xiao, Ariel S. Rokem, Nicolaas P. DeRuyter, Qinqin Zhang, Adnan Tufail, Ruikang K. Wang, & Aaron Y. Lee. Generating retinal flow maps from structural optical coherence tomography with artificial intelligence. *Scientific Reports* (2019) 9:5694.
- 44) Big Data ... and the Next Wave of InfraStress. John Mashey per SGI, http://static.usenix.org/event/usenix99/invited_talks/mashey.pdf.
- 45) Andrea De Mauro, Marco Greco e Michele Grimaldi. A Formal definition of Big Data based on its essential features, in *Library Review*, vol. 65, n° 3, 2016, pp. 122-135.
- 46) Jacobs, A. *The Pathologies of Big Data*. ACMQueue, 6 luglio 2009.
- 47) Gianluca Ferrari. Il vero significato dei "Big data". searchcio.techtarget.it, 14 giugno 2011.
- 48) Peter Naur. The science of datalogy, in *Communications of the ACM*, vol. 9, n° 7, 1966.
- 49) Peter Naur. *Concise Survey of Computer Methods*, Student litteratur, 1974.
- 50) Westfall JM, Mold J, Fagnan L. Practice-based research: 'blue highways' on the NIH road-map. *JAMA*. 2007;297(4):403-6.
- 51) Zeleny M. Management support systems: towards integrated knowledge management. *Hum Syst Manage*. 1987;7(1):59-70.
- 52) Ackoff RL. From data to wisdom. *J Appl Syst Anal*. 1989;16(1989):3-9.
- 53) Dammann O. Data, information, evidence, and knowledge: a proposal for health informatics and data science. *Online J Public Health Inform*. 2019; 10(3): e224.
- 54) More than half of global population now online: UN. *Globe post*; 2017. <https://theglobe-post.com/2018/12/07/half-of-population-online/>. Accessed 27 June 2019.
- 55) B. E. Bejnordi, G. Zuidhof, M. Balkenhol et al.. Contextaware stacked convolutional neural networks for classification of breast carcinomas in whole-slide histopathology images. *Journal of Medical Imaging*, vol. 4, no. 4, article 44504, 2017.
- 56) A. Esteva, B. Kuprel, R.A. Novoa et al.. Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks. *Nature*, vol. 542, no. 7639, pp. 115-118, 2017.
- 57) S. F. Weng, J. Reys, J. Kai, J. M. Garibaldi, and N. Qureshi. Can machine-learning improve cardiovascular risk prediction using routine clinical data? *PLoS One*, vol.12, no.4, Article ID e 174944, 2017.
- 58) B. van Ginneken. Fifty years of computer analysis in chest imaging: rule-based, machine learning, deep learning. *Radiological Physics and Technology*, vol. 10, no. 1, pp. 23-32, 2017.
- 59) V. Gulshan, L. Peng, M. Coram et al.. Development and validation of a deep learning algorithm for detection of diabetic retinopathy in retinal fundus photographs. *JAMA*, vol. 316, no. 22, p. 2402, 2016.
- 60) G. Quellec, K. Charrière, Y. Boudi, B. Cochener, and M. Lamard. Deep image mining for diabetic retinopathy screening. *Medical Image Analysis*, vol.39, pp.178-193,2017.
- 61) M.Caixinha and S.Nunes. Machine learning techniques in clinical vision sciences. *Current Eye Research*, vol.42, no.1, pp. 1-15, 2017.
- 62) E. Rahimy. Deep learning applications in ophthalmology. *Current Opinion in Ophthalmology*, vol. 29, no. 3, pp. 254- 260, 2018.

- 63) Wei Lu, YanTong, Yue Yu, Yiqiao Xing, Changzheng Chen, and Yin Shen. Applications of Artificial Intelligence in Ophthalmology: General Overview. *Hindawi Journal of Ophthalmology* Volume 2018, Article ID 5278196, 15 pages.
- 64) J. Y. Choi, T. K. Yoo, J. G. Seo, J. Kwak, T. T. Um, and T. H. Rim. Multicategorical deep learning neural network to classify retinal images: a pilot study employing small database. *PLoS One*, vol. 12, no. 11, Article ID e187336, 2017.

CAPITOLO 21

LA LUCE E GLI EFFETTI DANNOSI SULLA RETINA

LA LUCE E LA VISIONE UNITARIA DELLA FISICA MODERNA

La luce è una parte dello spettro elettromagnetico. Il dibattito sulla sua natura corpuscolare o ondulatoria nasce nel XVII Secolo.

La natura composta della luce fu dimostrata per la prima volta nel 1666 dal matematico e fisico inglese *Isaac Newton* (1642-1727).

Newton pensava alla luce come piccoli corpuscoli che si propagavano in linea retta, e formulò la teoria corpuscolare.

L'astronomo e fisico olandese *Christiaan Huygens* (1629-1695) paragonò invece la luce al suono, alle onde marine, discutendone compiutamente nel suo "*Traité de la lumière*" qualche anno dopo, nel 1690 [1]. La teoria ondulatoria fu confermata un secolo dopo, nel 1801, da *Thomas Young* (1773-1829), scienziato e medico britannico poliglotta (all'età di quattordici anni parla sette lingue).

L'esperimento che lo rese celebre è molto noto: quando un raggio di luce fuoriesce da un foro di uno schermo opaco in una stanza buia e colpisce una parete con due feritoie a una certa distanza, da questi due spazi lineari si proiettano sulla superficie di una terza parete zone alterne di luce e ombre.

Si produce un'interferenza costruttiva (sommatrice) o distruttiva (di sottrazione), la formazione di bande o frange chiare e scure (figg. 1a,1b).

Tale modalità di trasmissione della luce conferma il modello ondulatorio sostenuto inizialmente da Huygens [2].

Quanto osservato non accadrebbe infatti se la luce si propagasse in linea retta; ogni fenditura agisce come nuova sorgente, diramando luce in tutte le direzioni.

Young inoltre scoprì che la lunghezza di un'onda sinusoidale, cioè la distanza fra due creste o valli successive, determina il colore della luce (figg. 2a,2b,2c), e nel campo dell'ottica, contribuì in modo determinante alla comprensione dell'astigmatismo.

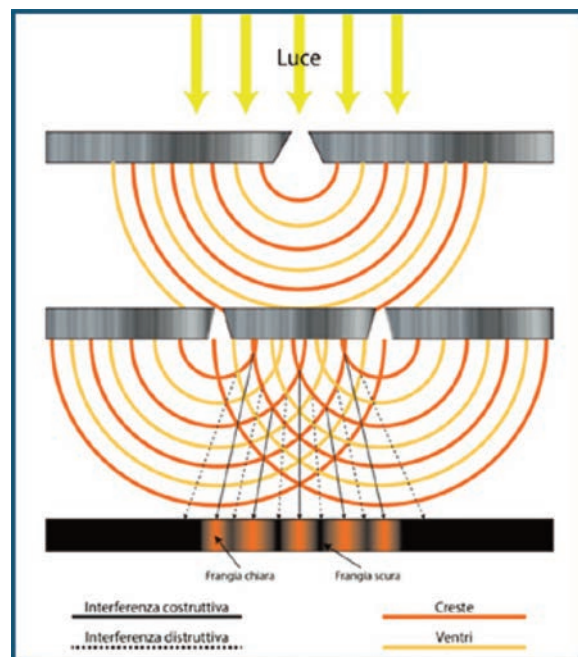


Fig. 1a - Esperimento di Young che evidenzia la natura ondulatoria della luce.

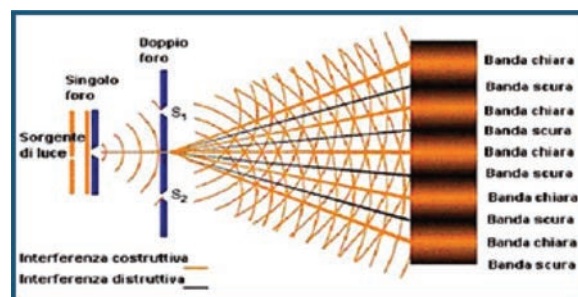


Fig. 1b - Esperimento di Young con in evidenza le bande d'interferenza chiare e scure.

Le due teorie sulla natura della luce furono per lunghi anni fonte di grande dibattito e scontro culturale fino ai primi decenni del XVIII Secolo.

Questo dibattito implicava, infatti, numerosi sviluppi teorici.

Considerata come un'onda, la luce non può trasportare materia, possibile nella teoria corpuscolare; inoltre la velocità della luce nei mezzi trasparenti è minore che nel vuoto.

Tali considerazioni indussero il fisico scozzese *James Clerk Maxwell* (1831-1879), tra i più grandi scienziati dell'era moderna morto a soli 48 anni,

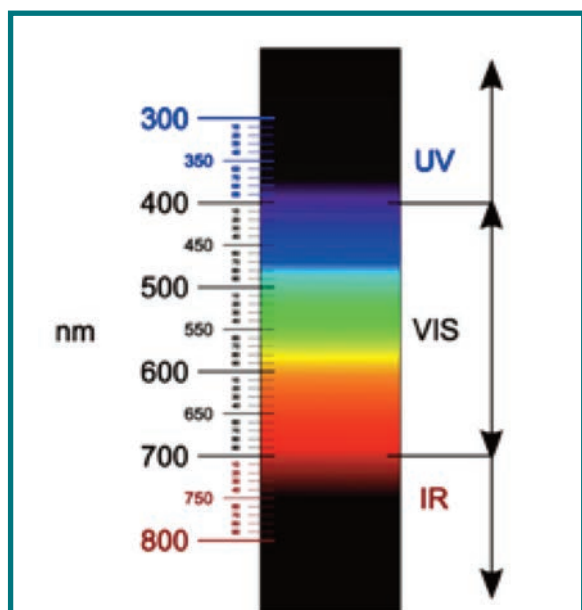


Fig. 2a - Spettro elettromagnetico tra 300nm e 800nm suddiviso in UV ultravioletto, VIS Visibile, IR infrarosso e relativi colori nello spettro visibile.

Colore	Lunghezza d'onda	Frequenza
rosso	~ 700-630 nm	~ 430-480 THz
arancione	~ 630-590 nm	~ 480-510 THz
giallo	~ 590-560 nm	~ 510-540 THz
verde	~ 560-490 nm	~ 540-610 THz
blu	~ 490-450 nm	~ 610-670 THz
viola	~ 450-400 nm	~ 670-750 THz

Fig. 2b - Rapporto tra colore, frequenza e lunghezza d'onda nello spettro visibile.

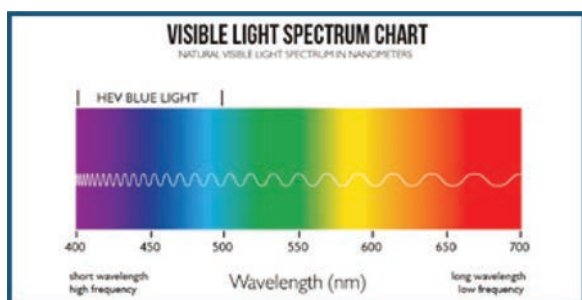


Fig. 2c - Lunghezza d'onda, frequenza e colore corrispondente nello spettro visibile.

a pensare alla luce come onda elettromagnetica, una perturbazione di campi elettrici e magnetici.

Le personali convinzioni filosofiche e religiose influenzarono non poco la sua attività scientifica.

Da molti studiosi la teoria di Maxwell è considerata come il passo più significativo nel progresso della fisica da Newton ad Einstein.

Le sue equazioni differenziali dimostrano che l'elettricità, il magnetismo e la luce sono manifestazioni del medesimo fenomeno: il campo elettromagnetico.

Il lavoro di Maxwell è stato definito da più parti «la seconda grande unificazione della fisica».

Nel suo lavoro *"On physical lines of force"* rielaborò le intuizioni di Newton formulando compiutamente la teoria dell'elettromagnetismo [3].

Newton, nei suoi *Principia* del 1687, tentò la prima unificazione della Fisica, correlando gli esperimenti di Galileo sulla gravità terrestre, le leggi del movimento planetario di Keplero e il fenomeno delle maree nella legge della gravitazione universale [4].

Maxwell riteneva che le sue 4 equazioni differenziali, formulate nel 1866, dalle quali si possono ottenere le proprietà dei campi elettrici e magnetici, da molti matematici definite simmetriche ed eleganti, dovessero riflettere tutta la bellezza della natura (fig. 3) [5,6].

$$\begin{aligned} \int_s \vec{E} \cdot d\vec{s} &= \frac{\sum Q_i}{\epsilon_0} \\ \oint_\gamma \vec{E} \cdot d\vec{l} &= -\frac{\Delta\Phi(\vec{B})}{\Delta t} \\ \int_s \vec{B} \cdot d\vec{s} &= 0 \\ \oint_\gamma \vec{B} \cdot d\vec{l} &= \mu_0 \left(i + \epsilon_0 \frac{\Delta\Phi(\vec{E})}{\Delta t} \right) \end{aligned}$$

Fig. 3 - Le quattro equazioni di Maxwell.

Nel 1900 il fisico tedesco *Max Planck* (1858–1947), iniziatore della fisica quantistica, rese noto che gli scambi di energia nei fenomeni di emissione e di assorbimento delle radiazioni elettromagnetiche avvenivano in forma discreta, proporzionale alla frequenza di oscillazione.

Nel 1901 Planck sostenne che gli atomi assorbono ed emettono radiazioni in modo discontinuo, per quanti di energia, cioè quantità finite di energia.

Questa sua teoria gli valse il premio Nobel per la fisica nel 1918 [7].

Nel 1905 *Albert Einstein* (1879-1955), Nobel per la Fisica nel 1921, per spiegare l'effetto fotoelettrico, riprese il concetto dei quanti d'energia di Planck [8].

Riaffermò che l'effetto fotoelettrico presuppone l'esistenza di quanti di luce, pacchetti indivisibili e discreti di energia.

Vent'anni dopo, nel 1926, il chimico statunitense *Gilbert N. Lewis* (1875-1946) chiamò i quanti d'energia fotoni (dal greco $\phi\acute{o}\tau\acute{o}\varsigma$ gen. $\phi\omega\tau\acute{o}\varsigma$ "phòs, photòs", luce). Il fotone ha massa nulla, non trasporta alcuna carica elettrica, e il suo momento angolare intrinseco, lo spin, può assumere solo i due valori, ± 1 , che corrispondono ai diversi stati classici di polarizzazione.

Nel vuoto i fotoni si propagano sempre alla velocità della luce, e il loro raggio d'azione è illimitato.

Questo significa che un fotone può continuare a viaggiare nello spazio-tempo indefinitamente, senza alcun limite, finché non è assorbito da un'altra particella.

Per questo motivo è possibile rilevare i fotoni emessi nelle prime fasi di vita dell'universo, che costituiscono la radiazione cosmica di fondo, la CMBR (Cosmic Microwave Background Radiation), radiazione elettromagnetica che permea l'universo, considerata la prova del Big Bang (fig. 4) [8].

La CMBR fu scoperta nel 1964 dagli astronomi statunitensi *Arno Penzias* e *Robert Woodrow Wilson* al termine di uno studio avviato nel 1940, che li portò a conseguire il Premio Nobel per la fisica nel 1978.

Un fotone ha una frequenza di vibrazione ν e una lunghezza d'onda λ ; il loro prodotto è pari alla velocità di propagazione dell'onda C , in questo caso della luce:

$$\lambda \nu = C$$

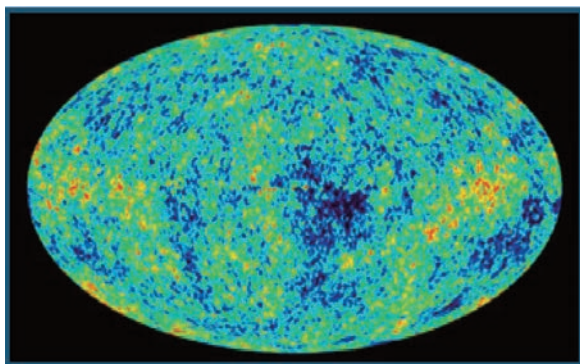


Fig. 4 - Mappa della radiazione cosmica di fondo.

All'aumentare della frequenza diminuisce la lunghezza d'onda e viceversa.

I fotoni inoltre trasportano un'energia E proporzionale alla frequenza:

$$E = h \nu \text{ (} h = \text{costante di Planck).}$$

L'energia perciò è direttamente proporzionale alla frequenza; maggiore è la frequenza, maggiore è l'energia. Da questo si comprende come le alte frequenze possono essere maggiormente dannose per la retina. Usando le unità del Sistema Internazionale (SI) si conviene che:

- l'energia E si misura in Joule
- la frequenza ν si misura in Hertz
- la costante di Planck h si misura in joule/secondi

Ad alte frequenze, come i raggi gamma, i fotoni trasportano grandi quantità di energia, e sono pericolosi alla struttura molecolare del DNA [9].

A basse frequenze invece, le energie trasportate si riducono considerevolmente, i fotoni si propagano senza essere ostacolati da oggetti di piccole dimensioni, e di conseguenza questo tipo di onde, come quelle radio, possono essere trasmesse a grandi distanze.

Quando una superficie metallica è colpita da un fascio di luce emette degli elettroni che si distaccano dalla sua superficie (fig. 5).

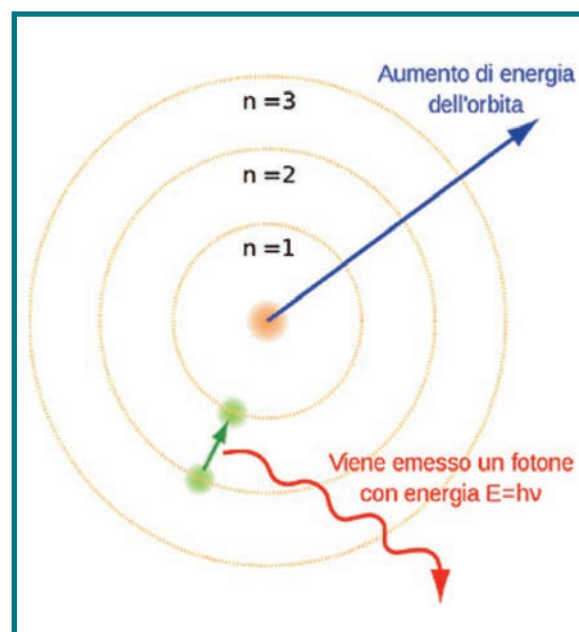


Fig. 5 - La collisione tra fotoni ed elettroni; l'elettrone eccitato si sposta su un livello energetico più esterno dell'atomo (by: <http://www.andreaminini.org/fisica/>).

La luce si comporta perciò come un'onda e un insieme di corpuscoli, con riabilitazione della teoria corpuscolare di Newton. Einstein non esclude nessuna delle due teorie, sostenendo la natura dualistica della luce.

Nei suoi ultimi anni Albert Einstein fu intensamente occupato ad elaborare una teoria unificatrice nella Fisica, come i suoi predecessori, Newton e Maxwell.

L'aspirazione di un Universo governato da un principio unificatore non si limita al solo campo religioso, ma coinvolge le aspirazioni dell'Uomo in ogni settore, dallo spirito alla materia.

Tutto questo enorme lavoro scientifico conferma che la matematica è la chiave di lettura dell'Universo, e che la fisica permette di metterne in evidenza le sue intrinseche caratteristiche.

LUCE E SALUTE

La luce non ci aiuta solo a vedere. È anche un importante mezzo per regolare i nostri ritmi biologici, influenzando il benessere generale di tutti noi.

Studi scientifici hanno confermato l'effetto biologico della luce sul nostro corpo.

La luce ultravioletta influisce sulla produzione di vitamine; la luce blu in particolare contribuisce al nostro equilibrio ormonale, regolando l'umore e il ciclo sonno-veglia [10,11].

La privazione di sonno è una condizione che predispone a obesità, diabete e malattie cardiovascolari. La diffusione delle luci LED (Light Emitting Diode) può aggravare ulteriormente questi effetti negativi.

La Fondazione Nobel così commentò la scoperta dei LED: *“Come le lampade a bulbo hanno illuminato il Ventesimo Secolo, i Led saranno le luci del Ventunesimo Secolo”*.

Ai suoi scopritori *Isamu Akasaki, Hiroshi Amano e Shuji Nakamura* verrà assegnato il Nobel per la Fisica nel 2014.

Una ricerca pubblicata sui Proceedings of the National Academy of Sciences da *Carla S. Möller-Levet et al.* dell'Università del Surrey a Guildford nel Regno Unito, chiarisce i meccanismi molecolari della correlazione tra luce e sonno.

Un periodo di sonno insufficiente influenza i meccanismi di regolazione genica, il genoma (o trascrittoma) del sangue umano, disturbando la regolazione dei ritmi circadiani [12].

In condizioni di forte illuminazione esterna il corpo secerne serotonina (5-idrossitriptamina, 5-

HT), molecola scoperta nel 1935 a Pavia dal farmacologo *Vittorio Erspamer* (1909–1999); sui suoi testi molti di noi hanno studiato nel corso degli studi universitari.

Anche se gli entusiasmi degli anni Sessanta intorno a questa molecola si sono in seguito affievoliti, bisogna ricordare le tante funzioni modulate dalla sua concentrazione, come l'umore, il sonno, la temperatura corporea, la sessualità, l'empatia, le funzioni cognitive, la creatività e l'appetito, tanto da meritare l'appellativo di *“ormone della felicità”* [13].

Il cortisolo, ormone dello stress, contribuisce anch'esso al ritmo circadiano. Entrambi queste sostanze collaborano a farci sentire svegli e attivi.

La melatonina è invece considerata l'ormone del sonno, ci fa sentire stanchi e agevola il riposo quando è buio.

Talvolta s'instaura una *“meteoropatia”* che diventa condizione patologica; si parla in questo caso di SAD (Seasonal affective disorder), o di disturbi stagionali dell'umore.

Norman E. Rosenthal diede per primo il nome a tale disordine, correlandolo alla luce [14].

Di SAD ne soffrono più le donne e le persone che vivono lontano dall'equatore, dove d'inverno c'è meno luminosità.

Si è visto infatti come in inverno aumentino i livelli di SERT (Serotonin transporter), proteina di trasporto della serotonina [15].

La SERT si lega alla serotonina nelle sinapsi riportandola nel neurone presinaptico, impedendole di interagire con i propri recettori. Più alti sono i livelli di SERT, maggiore è la tendenza alla depressione.

Diversi farmaci antidepressivi agiscono su questa proteina per aumentare i livelli di serotonina.

Un'altra spiegazione biochimica della SAD è l'aumentata secrezione di melatonina come risposta alla scarsa luminosità.

Tale fenomeno potrebbe spiegare la maggiore sonnolenza e la minore attività che molte persone lamentano nei mesi invernali [16].

CARATTERISTICHE DELLE ONDE ELETTROMAGNETICHE

I fenomeni luminosi sono studiati utilizzando due modelli ottici alternativi: l'ottica geometrica e l'ottica ondulatoria. Nell'ottica geometrica il raggio luminoso è considerato una linea retta che si sposta in modo lineare sulla scia dei lavori di Newton.

Nell'ottica ondulatoria la luce è, più propriamente, un'onda che si propaga dal punto di origine in più direzioni, sulla scia dei lavori di Huygens.

Le onde elettromagnetiche hanno le seguenti caratteristiche:

- *Lunghezza d'onda (λ):* distanza tra due creste o ventri dell'onda periodica; si misura in metri (m)
- *Velocità (v):* nel vuoto le onde elettromagnetiche si spostano alla velocità della luce (300.000 m/s)
- *Frequenza (f):* numero delle oscillazioni complete (o cicli) nell'unità di tempo (secondi s); si misura in hertz (Hz) o cicli al secondo
- *Periodo (T):* tempo necessario affinché un'onda completa passi per un dato punto; corrisponde a λ considerando il tempo

Tra λ , v e f esiste la relazione:

$$\lambda = v/f = \text{velocità/frequenza}$$

La lunghezza d'onda e la frequenza sono perciò inversamente proporzionali; la velocità resta sempre costante al variare di questi due parametri.

Se la lunghezza d'onda è piccola, le creste sono ravvicinate, più numerose sono le oscillazioni complete che passano per un dato punto nell'unità di tempo, e la frequenza aumenta; se la lunghezza è lunga, per lo stesso punto passano minori oscillazioni complete, le creste dell'onda sono più distanti tra loro, e la frequenza diminuisce (fig. 6).

Inoltre è utile ricordare che:

- *Potenza si misura in watt (W)*
- *Intensità luminosa si misura in candele(cd)*
- *Intensità d'illuminazione si misura in lux (lx)*

Tra W e J esiste la relazione:

$$1W = 1 J / 1 \text{ sec}$$

Pertanto la potenza W è proporzionale all'energia J erogata nell'unità di tempo t; minore è il tempo d'erogazione più aumenta la potenza.

Questo dato temporale è molto importante nella comprensione del danno retinico da foto stress.

COMPONENTI DELLA LUCE E DANNO RETINICO

Il danno retinico dovuto alla luce era noto già nella civiltà greca. Ne parla Platone nel Fedone (386-385 a.C.), opera in cui Socrate esorta il popolo ateniese a proteggersi gli occhi durante le eclissi di sole.

In tempo più recente Galileo correlò i suoi problemi visivi con l'osservazione delle macchie solari per mezzo del cannocchiale da lui inventato, mentre Newton descrive lo scotoma che persisteva per giorni osservando il sole attraverso un telescopio [17-19].

Noell *et al.*, in uno studio del 1966, riferirono che il danno retinico era possibile anche con basse intensità di luce [20].

Gli studi istologici di Green e Robertson del 1991 su occhi enucleati per melanoma esposti ad intensità luminose variabili, confermarono la potenziale tossicità degli effetti della luce sulla retina neurosensoriale e sull'epitelio pigmentato [21].

L'aumento degli interventi di cataratta, l'uso sempre più universale del microscopio operatorio

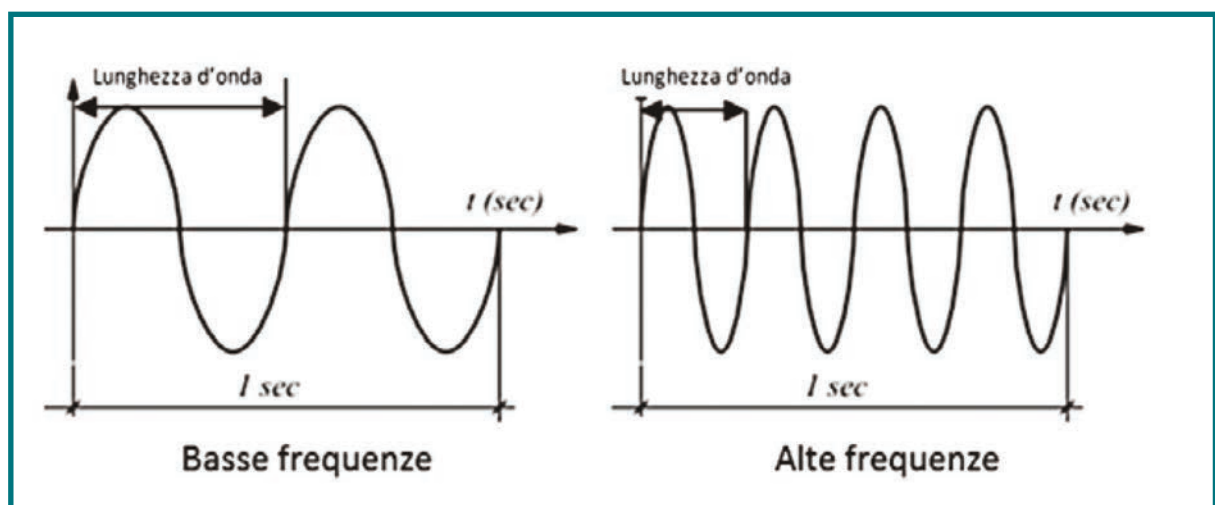


Fig. 6 - Rappresentazione grafica delle basse e alte frequenze dell'onda elettromagnetica.

[22,23] e l'illuminazione con fibre ottiche endobulbari nelle vitrectomie, specie nella chirurgia al polo posteriore [24-27], hanno rilevato e confermato la fototossicità della luce sulla retina fin dagli anni Settanta.

Com'è noto le radiazioni ottiche sono formate da lunghezze che vanno dall'ultravioletto (100nm/400nm), alla luce visibile (400nm/760nm), all'infrarosso (760nm/10000nm) (fig. 7).

La CIE, Commissione internazionale per l'illuminazione (Commission Internationale de l'Éclairage), autorità internazionale sulla luce nata nel 1913 con sede a Vienna, ha suddiviso, in base all'energia, la luce ultravioletta UV e infrarossa IR in tre sottogruppi:

- UVA (315–400nm)
- UVB (260–315nm)
- UVC (100–260nm)

- IRA (700–1400nm)
- IRB (1400–3000nm)
- IRC (3000–10000+nm)

La luce visibile è composta a sua volta da lunghezze d'onda brevi (blue), medie (green), e lunghe (red), che corrispondono ai picchi dei pigmenti d'assorbimento dei coni retinici (fig. 8) [28-30].

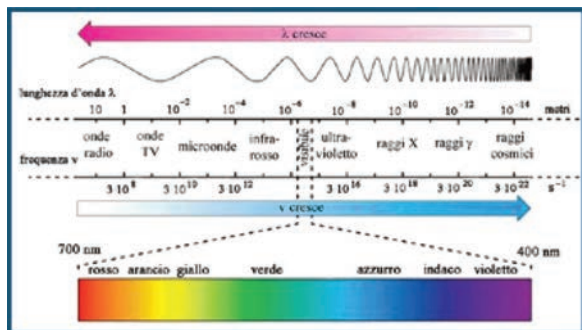


Fig. 7 - Grafico complessivo che mette in rapporto lunghezza e frequenza delle onde elettromagnetiche con evidenza dello spettro visibile.

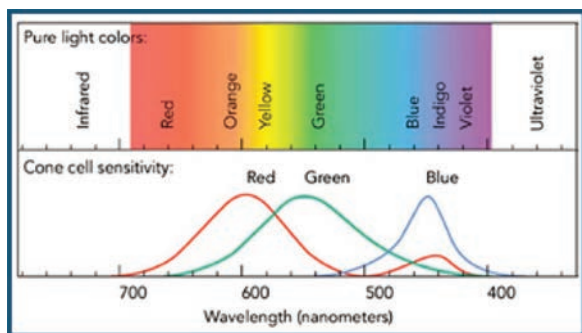


Fig. 8 - Lunghezze d'onda e sensibilità dei coni retinici.

FISIOPATOLOGIA DEL DANNO CELLULARE DA STRESS LUMINOSO

La cornea e il cristallino sono strutture che tagliano lunghezze d'onda selettive. La cornea assorbe quasi completamente le radiazioni ultraviolette inferiori a 295 nm, in pratica tutti i raggi UVC e la maggior parte dei raggi UVB, mentre il cristallino trasparente assorbe gran parte degli UVB e tutti gli UVA.

In presenza di cataratta le lunghezze corte tra 300 nm e 400 nm sono ancora più filtrate [31].

Il corpo vitreo, composto dal 98% di acqua, assorbe le lunghezze d'onda nello spettro visivo (400-700nm), le bande dell'IRA (700-1400nm), e quasi totalmente IRB e IRC.

Le lunghezze d'onda dello spettro elettromagnetico comunque comprese tra 400 e 1400 nm, se non tagliate nel percorso verso la retina da cornea, cristallino e vitreo, possono causare danno alle cellule bersaglio neuroretiniche [32,33].

L'istochimica del tessuto retinico permette un'ulteriore non trascurabile, aggiuntiva e intrinseca protezione attraverso i tre pigmenti maculari MP (Macular Pigment), zeaxantina, luteina e meso-zeaxantina.

In particolare la luteina, con un picco di assorbimento a 446 nm, è in grado di diminuire in maniera importante l'intensità della dannosa luce blu che raggiunge la retina.

Di recente la luteina è infatti utilizzata anche come colorante vitale in chirurgia vitreoretinica grazie alla sua comprovata azione schermo alla luce blu, e di protezione delle cellule neuronali durante il peeling della ILM. [34].

La densità di questi pigmenti varia per razza, individuo, età, ed è influenzata dallo stile di vita e dalla dieta. La densità dei pigmenti maculari MPOD (macular pigment optical density) sembra essere un fattore di rischio per AMD (age related macular degeneration). Bassi livelli di pigmento sembrano essere associati a più alto rischio per AMD e viceversa [35] (fig. 9).

- Yoko Ozawa *et al.* hanno eseguito un'indagine con MPSII, un device in commercio (MPSII®, Elektron Technology, Switzerland) che misura la densità dei pigmenti maculari in soggetti sani e con AMD [36]. Su un gruppo di soggetti limitati (17 giovani sani tra 20 e 29 aa, 26 adulti sani >50 aa, 18 adulti con iniziale AMD, e 16 con occhi con AMD evidente), i risultati pur promettenti, hanno

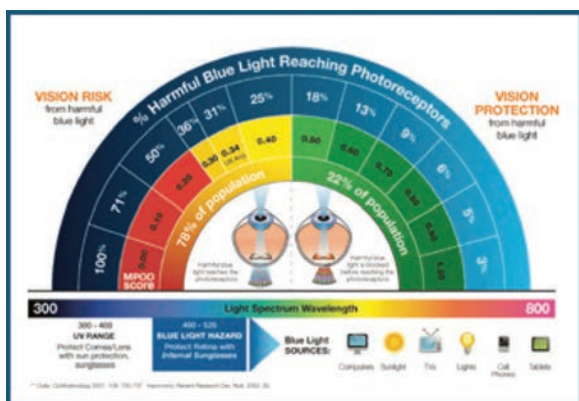


Fig. 9 - Nel diagramma MPOD score 0.00 con poca densità di pigmento maculare è in rapporto con il passaggio del 100% della radiazione dannosa blu (lato sinistro). MPOD da 0.50 a 1.00 consente invece di bloccare le radiazioni blu dannose (lato destro) (by: <https://glarminy.com/low-blue-filters-eye-strain-blurred-vision/>).

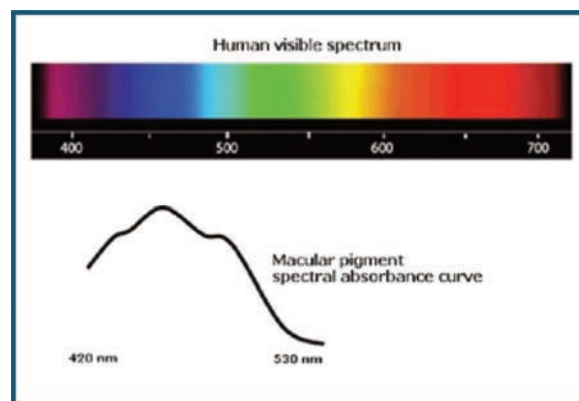


Fig. 10 - Curva dell'assorbimento del pigmento maculare alle varie lunghezze d'onda.

suggerito agli autori che erano necessari studi più estesi per la comprensione dell'effettivo ruolo di questi pigmenti nella patogenesi della AMD [36].

- *Loane E et al.* ritengono che i pigmenti maculari possano conferire alla retina una protezione suppletiva di circa il 40%, specialmente nello spettro della componente blu, con massimo picco d'assorbimento intorno a 460 nm (fig. 10) [37].

La natura dualistica fotone/onda della luce riesce a spiegare la fisiopatologia del danno retinico.

La tossicità della luce può agire attraverso tre meccanismi: *fototermico*, *fotomeccanico* e *fotochimico*, che possono intervenire singolarmente o insieme.

Il *danno fototermico* si verifica se l'energia dello spettro incidente è capace di portare le molecole del tessuto colpito ad uno stato di eccitazione per assorbimento di fotoni.

La capacità della luce nel provocare un aumento dell'energia cinetica media è inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda della luce, e direttamente alla frequenza, secondo la già descritta equazione: $E = h \nu$.

Lunghezze d'onda brevi determinano maggiori energie cinetiche nel tessuto colpito e più elevate temperature, a parità di tempi d'esposizione.

Il danno termico è irreversibile nella retina se l'aumento tissutale è $\geq$ di 10°C. Le cellule possono subire solitamente apoptosi per livelli di temperatura inferiori a 55-58°C, apoptosi e necrosi per valori di 60-68 °C, immediata morte intorno a 72° C o per valori superiori [38,39].

- *Henriques FC et al.* intuirono queste potenziali relazioni già negli anni Quaranta [40].

I danni tissutali consistono in una denaturazione delle proteine, perdita della struttura terziaria molecolare e fluidizzazione delle membrane citoplasmatiche [38-41].

L'assorbimento dell'energia fototermica avviene soprattutto a carico della melanina dei melanosomi di RPE e dei melanociti della coroide, della xantofilla nelle cellule di Muller e nella retina neurosensoriale, e dell'emoglobina nei vasi sanguigni della retina neurosensoriale e della coroide.

Tra tutti i pigmenti, la melanina di RPE più di tutti assorbe energia luminosa.

Dopo trattamento laser il danno termico è, infatti, riscontrabile inizialmente a livello di RPE e dei fotorecettori, come dimostrato da molti studi, tra i quali quelli di Brancato et al. [41,42].

L'applicazione clinica più comune del *danno fotomeccanico* in oftalmologia è l'uso di radiazioni laser Nd: Yag. L'energia luminosa di grande intensità può produrre forze espansive e compressive sul tessuto (megawatts/ terawatts) se applicata su piccole superfici, producendo espansione termoelastica, formazione di microcavitazioni e bolle nelle cellule, particolarmente in RPE, secondo studi di *Hillenkamp, Jacques et al.* [43,44].

Il *danno retinico fotochimico* si può instaurare indipendentemente dal termico e dal meccanico [45-47].

Secondo molti studi, tra i quali quelli di *Dong, Lu et al*, quando i meccanismi intrinseci di protezione retinica dovuti essenzialmente ai cromofori [48] non sono più sufficienti ad arginare i danni dello spettro ad alta energia, si generano radicali liberi, e gli elettroni esterni delle molecole dallo

stato fondamentale passano a quello eccitato [49].

Questo nuovo stato energetico è instabile; gli elettroni eccitati possono ritornare allo stato fondamentale senza danno, o generare a loro volta radicali liberi.

L'assorbimento di energia radiante inoltre può portare al trasferimento di energia dal cromoforo eccitato all'ossigeno, generando ossigeno singoletto, con sicuro danno alle molecole.

Le membrane cellulari sono particolarmente vulnerabili ai radicali liberi; i loro acidi grassi polinsaturi possono subire una perossidazione con innesco di una reazione a catena, con conseguenti maggiori danni all'intera cellula [50,51].

LUCE & AMD

Gli studi di *Anderson KV et al.* nel 1972 [52], di *Ham WT et al.* nel 1979 [53] e, in seguito di *Wu J et al.* [54] e di *Williams TP et al.* [55], hanno confermato le ipotesi che il danno retinico alla luce era in gran parte funzione della sua lunghezza d'onda, che il danno fotochimico era causato dalla parte inferiore del suo spettro visibile, e che la retina era più sensibile alla sua componente blu.

Come riferito, cornea e cristallino assorbono le lunghezze d'onda UV e IR. Alcune frange dello spettro elettromagnetico, di origine naturale o prodotte dai display elettronici, possono tuttavia arrivare alla retina [56].

Il meccanismo con cui la luce visibile possa causare danni retinici resta tuttavia in parte controverso.

I numerosi studi in letteratura hanno stabilito una mediazione della rodopsina o di altro pigmento.

Grimm et al. hanno dimostrato che i topi geneticamente modificati senza rodopsina, per assenza nelle cellule RPE della proteina chiave RPE65, non presentano apoptosi dei fotorecettori dopo esposizione alla luce fluorescente bianca intensa.

La rodopsina in questi studi si è confermata mediatore primario del danno da luce per le cellule dei fotorecettori [57].

Rózanowska M et al. e *Boulton M et al.*, oltre a confermare la particolare sensibilità della retina alla luce blu, hanno evidenziato il ruolo non secondario svolto dalla lipofusina presente nel citoplasma di RPE nel danno fotosensibile (fig. 11) [58,59].

La lipofusina, conosciuta anche come pigmento dell'invecchiamento, aumenta nel citoplasma

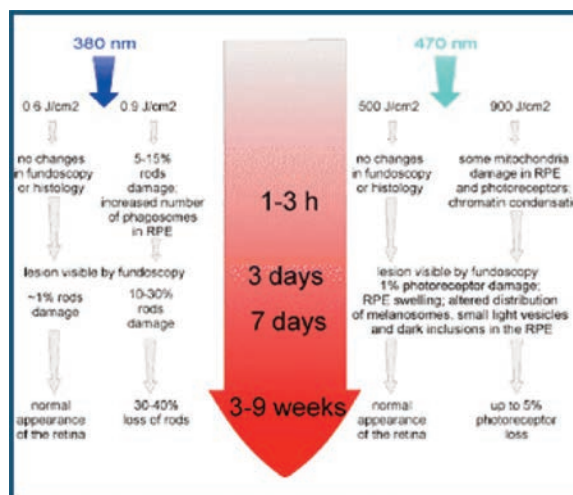


Fig. 11 - Danni retinici in ratto dopo esposizione a lunghezze luminose di 380nm e 470nm. Il danno retinico è enormemente più evidente verso i 380nm (by Malgorzata Rozanowska et al.).

sma delle cellule RPE con il progredire dell'età, particolarmente nelle cellule pigmentate in area maculare, nei primi due decenni in modo quasi esponenziale, più lentamente per il resto della vita [60].

Questa macromolecola polimerica ad elevato peso molecolare, costituita essenzialmente di residui di lipidi, proteine e pochi carboidrati, non è degradabile dalle idrolasi lisosomiali citoplasmatiche, né eliminabile per esocitosi [60].

Questo pigmento assume solitamente una colorazione marrone, ed è la causa principale dell'autofluorescenza retinica.

Negli esseri umani comincia ad essere evidente all'età di 10 anni; mediamente occupa il 19% del volume citoplasmatico delle cellule RPE all'età di 80 anni [59]. Gli studi di questi ricercatori hanno confermato che nel tempo aumenta la suscettibilità di questo pigmento alla componente blu della luce, offrendo collegamenti convincenti tra frequenza di AMD e l'età senile [58].

Si è riscontrato infatti che molti pazienti con AMD hanno avuto spesso, nella loro storia anamnestica, un'esposizione maggiore alla luce blu rispetto ai controlli [61].

Molti altri studi epidemiologici in letteratura hanno confermato la correlazione tra blu luce e AMD, sebbene sia ancora difficile stabilire come lunghi periodi d'esposizione possano effettivamente determinare un maggior danno retinico [54].

Algvere PV et al. hanno trovato che la proliferazione di sorgenti luminose artificiali, favorite dalle nuove tecnologie di illuminazione più effi-

cienti, ha reso il pericolo della luce blu particolarmente diffuso [62].

I LED possiedono una significativa componente di luce blu nel loro spettro d'illuminazione.

La loro pericolosità è aumentata in modo esponenziale negli ultimi anni per essere diventati una fonte di luce domestica primaria.

La loro resa energetica e l'elevata luminanza ne hanno confermato una capillare diffusione.

Kuse Y *et al.* recentemente hanno dimostrato che la luce blu prodotta dai LED è capace di provocare in vitro la morte dei fotorecettori retinici per aumento della produzione di specie reattive dell'ossigeno [63].

Altri studi sperimentali su animali nell'ultimo quinquennio hanno inoltre dimostrato che il danno retinico potrebbe verificarsi già ai livelli d'illuminazione domestica [64,65].

La ICNIRP (International Commission on Non-ionizing Radiation Protection), Commissione internazionale per la protezione dalle radiazioni non ionizzanti, nel 2013 ha cercato di stabilire i valori limite d'esposizione alla luce [66].

Jaadane *et al.* hanno dimostrato però che il danno retinico causato dai LED può verificarsi con livelli di luminosità molto inferiori a quelli stabiliti dall'ICNIRP, suggerendo una rivalutazione delle attuali normative [65].

LED E OLED

Le maculopatie secondo numerosi studi epidemiologici sono la principale causa di cecità nei paesi occidentali [67].

Le drusen, depositi extracellulari retinici che si accumulano tra la membrana di Bruch e RPE, sono considerate da una vasta letteratura il *primum movens* per un danno fotorecettoriale.

Con la sigla AGE (advanced glycation end-product) s'intende il risultato di una catena di reazioni chimiche successive alla glicazione iniziale.

Composti chimici degli acidi grassi ossidati delle terminazioni dei fotorecettori sono stati trovati nella composizione delle drusen nelle macule affette da AMD [68]. La presenza di queste molecole giustifica il concetto che lo stress ossidativo gioca un ruolo non secondario nella patogenesi e nella progressione di AMD [68].

Gli AGE possono essere, infatti, riconosciuti dai RAGE (Receptor for advanced glycation endproducts), recettori per i prodotti avanzati della glica-

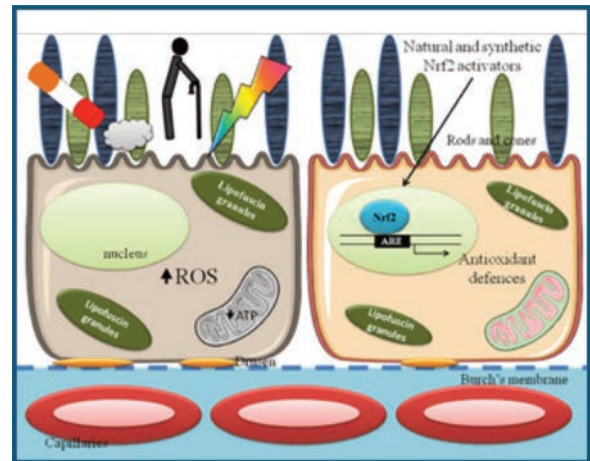


Fig. 12 - Momenti patogenetici di danno alle cellule RPE. Il fumo di sigaretta, l'invecchiamento e la luce incrementano i ROS con danno ai mitocondri e diminuzione della sintesi di ATP (figura a sinistra). L'esposizione a Nrf2 migliora le difese antiossidanti cellulari, riattivando i mitocondri citoplasmatici (figura a destra) (by Ilaria Bellezza, Frontiers in Pharmacology | www.frontiersin.org).

zione, che esercitano funzioni proinfiammatorie attraverso l'attivazione del fattore-KB nucleare (NF-kB) [68].

Questo fattore studiato ampiamente dagli anni Duemila, accelera la formazione di drusen [68].

Inoltre l'esposizione alle radiazioni ultraviolette induce e favorisce la degenerazione dei mitocondri nelle cellule RPE per aumento delle ROS (Reactive Oxygen Species), riduzione della produzione di ATP, e aumentata difficoltà e/o impossibilità della fagocitosi dei segmenti esterni dei fotorecettori (fig. 12).

Tutte queste sequenze patogenetiche, insieme con altre cascate chimiche meno conosciute, determinano iperpigmentazione delle cellule RPE, con un maggior aumento del rischio di AMD [69].

Le "nuove sorgenti luminose" progettate per migliorare e facilitare la nostra vita, dai LED alla luce allo xeno, dalle lampadine a risparmio energetico alla radiazione elettromagnetica degli schermi, contengono percentuali di luce blu superiore alle tradizionali lampadine del passato, come riferito da Algever *et al.* [62].

Se a questo dato si aggiunge l'aumentata aspettativa di vita specie nelle società occidentali, l'incidenza di AMD in crescente aumento, trova un altro elemento di giustificazione.

Tuttavia è importante tenere presente che trascorrere un'ora all'aperto in una normale giornata nuvolosa, espone i nostri occhi a quantità di luce blu 30 volte superiore dello stesso tempo trascorso davanti ad uno schermo LCD [70,71].

Uno studio del 2017 di *Lin et al.* hanno dimostrato che l'esposizione cronica a luce LED blu, o comunque a lunghezze d'onda corte anche a bassa luminanza, può causare danni retinici, come potrebbe avvenire con l'uso prolungato di smartphone [71].

Il lavoro di *Lin et al.* è limitato dal fatto che, sebbene molti schermi televisivi e computer siano costituiti da LED, la maggior parte degli smartphone utilizza ormai la tecnologia OLED, Organic Light Emitting Diode, ovvero diodo organico a emissione di luce [72].

Leggendo lo studio di *Cooper et al.*, si apprende che la tecnologia OLED permette di realizzare display a colori con la capacità di emettere luce propria, che gli OLED non richiedono componenti aggiuntivi per generare luminosità, offrono display molto sottili, pieghevoli e arrotolabili, necessitano di minori quantità di energia per funzionare, e che sono superiori ai LED in termini di luminanza e contrasto [73].

Gli effetti sulla retina degli OLED non sono ancora noti.

Molti produttori di display nel frattempo hanno iniziato a riconoscere i rischi teorici associati all'uso dei display moderni, e stanno offrendo metodi per ridurre la quantità di luce blu prodotta dai loro device.

La Flux Software, che produce f.lux, un software multiplatforma compatibile per Microsoft Windows, Linux e macOS, offre la possibilità di regolare la temperatura del colore sui desktop e sui dispositivi mobili, con l'intento di ridurre l'affaticamento degli occhi e l'interferenza con il riposo notturno, fastidi attribuiti all'esposizione a luce blu, in accordo ai molti studi sull'interazione luce/sonno precedentemente citati [74].

La Apple (Cupertino, CA, USA), similmente al software f.lux, ha aggiunto l'opzione "*Night Shift*" in un recente aggiornamento dei software per i prodotti mobili [75].

La funzione permette di cambiare la temperatura del colore del display verso la parte gialla dello spettro dei colori, riducendo la componente blu.

La Apple sostiene che tale opzione potrebbe aiutare gli utenti a dormire meglio durante la notte [75,76].

DisplayMate ha convalidato le modifiche spettrali dei display nei dispositivi Apple, ed ha applicato una riduzione dell'output blu, con aumento delle lunghezze d'onda rosse, condividendo l'uso di "*Night Shift*" [77].

CONSIDERAZIONI FINALI

Gli interventi tecnici da parte di molte importanti ditte multinazionali sugli schermi dei loro device attestano, almeno quanto le ricerche scientifiche discusse, l'urgenza di porre rimedio alla sovraesposizione della componente spettrale blu.

Il possibile danno retinico è stato ormai recepito nella programmazione industriale anche e soprattutto per evitare onerosi, prevedibili e verosimili risarcimenti.

La protezione retinica dalla luce blu non è perciò soltanto un leitmotiv del XXI Secolo, ma una misura opportuna e destinata a crescere con gli sviluppi futuri della tecnologia.

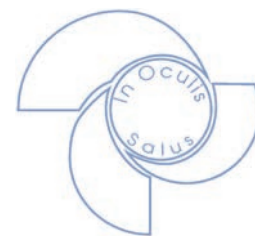
REFERENCES

- 1) C. Huygens, *Traité de la Lumière*, Leiden. Pieter van der Aa, 1690; archive.org/details/_gb_kVxsaYdZaaoC.
- 2) Andrew Robinson, Thomas Young. The man who knew everything, in *History Today*, aprile 2006.
- 3) *Philosophiae naturalis principia mathematica*, auctore Isaaco Newtono, Editio tertia aucta & emendata, Londini, apud Guil. & Ioh. Innys, MDCCXXVI (terza e ultima edizione curate dall'autore).
- 4) Basil Mahon. *The Man Who Changed Everything: The Life of James Clerk Maxwell*. John Wiley and Sons Ltd, 2003.
- 5) Maxwell, J. C. (1861). On physical lines of force. *Philosophical Magazine*. 90: 11–23. Bibcode: 2010PMag...90S...11M doi:10.1080/14786431003659180.
- 6) *A Treatise on Electricity and Magnetism* (1873), Dover, New York 1954 [tr. it.: *Trattato di Eletticità e Magnetismo*, a cura di E. Agazzi, 2 voll., Utet, Torino 1973].
- 7) Max Planck. On the Law of Distribution of Energy in the Normal Spectrum. *Annalen der Physik*, vol. 4, p. 553 ff (1901).
- 8) Max Planck. Ueber die Elementarquanten der Materie und der Elektrizität. *Annalen der Physik*, vol. 2, 1900, p. 564.
- 9) A. J. Doherty and S. W. Suh (2000) Structural and Mechanistic Conservation in DNA Ligases. *Nucleic Acids Research* 28, 4051-4058.
- 10) *The Scientific Papers of James Clerk Maxwell*, a cura di W.D. Niven, Cambridge 1890 (rist. Dover, New York 1965).

- 11) Albert Einstein (1940). Considerations Concerning the Fundamentals of Theoretical Physics. *Science*. 91 (2369):487/492. Bibcode: 1940Sci91..487E.doi:10.1126/science.91.2369.487. PMID 17847438.
- 12) www.lescienze.it.
- 13) Luckhaupt, S. E. *Morb. Mort. Wkly Rep.* 61, 281–285 (2012).
- 14) Carla S. Möller-Levet, Simon N. Archer, Giselda Bucca, Emma E. Laing, Ana Slak, Renata Kabiljo, June C. Y. Lo, Nayantara Santhi, Malcolm von Schantz, Colin P. Smith, and Derk-Jan Dijk. Effects of insufficient sleep on circadian rhythmicity and expression amplitude of the human blood transcriptome. *PNAS* March 19, 2013 110 (12) E1132–E1141.
- 15) Rosenthal NE, Sack DA, Gillin JC, Lewy AJ, Goodwin FK, Davenport Y, Mueller PS, Newsome DA, Wehr TA. Seasonal affective disorder. A description of the syndrome and preliminary findings with light therapy. *Arch Gen Psychiatry*. 1984 Jan;41(1):72–80.
- 16) Jeffrey R. Lacasse e Jonathan Leo, Serotonin and Depression: A Disconnect between the Advertisements and the Scientific Literature, in *PLOS Medicine*, vol. 2, n° 12, 8 novembre 2005, pp. e392.
- 17) Anonymous. Sun-gazing. *Br Med J* 1968; 3(5619): 633–634.
- 18) Favazza AR. Literature on sun gazing. *Am J Psychiatry* 1991; 148(2): 281–282.
- 19) Hope-Ross M, Travers S, Mooney D. Solar retinopathy following religious rituals. *Br J Ophthalmol* 1988; 72(12): 931–934.
- 20) Noell WK, Walker VS, Kang BS, Berman S. Retinal damage by light in rats. *Invest Ophthalmol* 1966; 5(5): 450–473.
- 21) Green WR, Robertson DM. Pathologic findings of photic retinopathy in the human eye. *Am J Ophthalmol* 1991; 112(5): 520–527.
- 22) Berler DK, Peyser R. Light intensity and visual acuity following cataract surgery. *Ophthalmology* 1983; 90(8): 933–936.
- 23) Robertson DM, McLaren JW. Photic retinopathy from the operating room microscope. Study with filters. *Arch Ophthalmol* 1989; 107(3): 373–375.
- 24) Fuller D, Machemer R, Knighton RW. Retinal damage produced by intraocular fiber optic light. *Am J Ophthalmol* 1978; 85(4): 519–537.
- 25) Fuller D, Machemer R, Knighton RW. Retinal damage produced by intraocular fiber optic light. *Vision Res* 1980; 20(12): 1055–1072.
- 26) Kuhn F, Morris R, Massey M. Photic retinal injury from endoillumination during vitrectomy. *Am J Ophthalmol* 1991; 111(1): 42–46.
- 27) Michels M, Lewis H, Abrams GW, Han DP, Mieler WF, Neitz J. Macular phototoxicity caused by fiberoptic endoillumination during pars plana vitrectomy. *Am J Ophthalmol* 1992; 114(3): 287–296.
- 28) Roberts JE. Ocular phototoxicity. *J Photochem Photobiol B* 2001; 64(2-3): 136–143.
- 29) Roberts JE. Screening for ocular phototoxicity. *Int J Toxicol* 2002; 21(6): 491–500.
- 30) Sliney DH. How light reaches the eye and its components. *Int J Toxicol* 2002; 21(6): 501–509.
- 31) Sample PA, Esterson FD, Weinreb RN, Boynton RM. The aging lens: in vivo assessment of light absorption in 84 human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29(8): 1306–1311.
- 32) Hillenkamp F. Laser radiation tissue interaction. *Health Phys* 1989; 56(5): 613–616.
- 33) Polo V, Pinilla I, Abecia E, Larrosa JM, Pablo LE, Honrubia FM. Assessment of the ocular media absorption index. *Int Ophthalmol* 1996; 20(1–3): 7–9.
- 34) Mario R. Romano, Gennaro Ilardi, Mariantonia Ferrara, Gilda Cennamo, Barbara Parolini, Cesare Mariotti, Stefania Staibano, Giovanni Cennamo. Macular peeling-induced retinal damage: clinical and histopathological evaluation after using different dye. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*.
- 35) <http://www.eyepromise.com/doctors/content-boxes/blue-light-chart/>.
- 36) Yoko Ozawa¹, Yuta Shigeno, Norihiro Nagai, Misa Suzuki, Toshihide Kurihara, Sakiko Minami, Eri Hirano, Hajime Shinoda, Saori Kobayashi and Kazuo Tsubota. Absolute and estimated values of macular pigment optical density in young and aged Asian participants with or without age-related macular degeneration. *BMC Ophthalmology* (2017) 17:16.
- 37) Loane E, Kelliher C, Beatty S, Nolan JM. The rationale and evidence base for a protective role of macular pigment in age-related maculopathy. *Br J Ophthalmol* 2008; 92(9): 1163–1168.
- 38) Birngruber R, Gabel VP, Hillenkamp F. Experimental studies of laser thermal retinal injury. *Health Phys* 1983; 44(5): 519–531.

- 39) Birngruber R, Hillenkamp F, Gabel VP. Theoretical investigations of laser thermal retinal injury. *Health Phys* 1985; 48(6): 781–796.
- 40) Henriques FC. Studies of thermal injury. *Arch Pathol* 1947; 43: 489–502.
- 41) Brancato R, Pratesi R, Leoni G, Trabucchi G, Vanni U. Histopathology of diode and argon laser lesions in rabbit retina. A comparative study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30(7): 1504–1510.
- 42) Gibbons WD, Schmidt RE, Allen RG. Histopathology of retinal lesions produced by long-term laser exposure. *Aviat Space Environ Med* 1977; 48(8): 708–711.
- 43) Hillenkamp F. Laser radiation tissue interaction. *Health Phys* 1989; 56(5): 613–616.
- 44) Jacques SL. Laser-tissue interactions. Photochemical, photothermal, and photomechanical. *Surg Clin North Am* 1992; 72(3): 531–558.
- 45) Dong A, Shen J, Krause M, Akiyama H, Hackett SF, Lai H et al.. Superoxide dismutase 1 protects retinal cells from oxidative damage. *J Cell Physiol* 2006; 208(3): 516–526.
- 46) Dong A, Shen J, Krause M, Hackett SF, Campochiaro PA. Increased expression of glial cell line-derived neurotrophic factor protects against oxidative damage-induced retinal degeneration. *J Neurochem* 2007; 103(3): 1041–1052.
- 47) Lu L, Oveson BC, Jo YJ, Lauer T, Usui S, Komeima K et al.. Increased expression of glutathione peroxidase 4 strongly protects retina from oxidative damage. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11(4): 715–724.
- 48) Foote CS. Mechanisms of photosensitized oxidation. There are several different types of photosensitized oxidation which may be important in biological systems. *Science* 1968; 162(857): 963–970.
- 49) Foote CS. Mechanisms of photooxygenation. *Prog Clin Biol Res* 1984; 170: 3–18.
- 50) Rozanowska M, Sarna T. Light-induced damage to the retina: role of rhodopsin chromophore revisited. *Photochem Photobiol* 2005; 81(6): 1305–1330.
- 51) Catala A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38(9): 1482–1495.
- 52) Anderson KV, Coyle FP, O'Steen WK. Retinal degeneration produced by low-intensity colored light. *Exp Neurol* 1972;35(2):233-238.
- 53) Ham WT Jr., Mueller HA, Ruffolo JJ Jr., Clarke AM. Sensitivity of the retina to radiation damage as a function of wavelength. *Photochem Photobiol.* 1979;29(4):735-74.
- 54) Wu J, Seregard S, Algvere PV. Photochemical damage of the retina. *Surv Ophthalmol* 2006; 51(5): 461–481.
- 55) Williams TP, Howell WL. Action spectrum of retinal light-damage in albino rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1983;24(3):285-287.
- 56) Youssef PN, Sheibani N, Albert DM. Retinal light toxicity. *Eye (Lond).* 2011;25(1):1-14.
- 57) Grimm C, Wenzel A, Hafezi F, Yu S, Redmond TM, Remé CE. Protection of RPE65-deficient mice identifies rhodopsin as a mediator of light-induced retinal degeneration. *Nat Genet.* 2000; 25:63-66.
- 58) Rózanowska M, Pawlak A, Rózanowska B, et al. Age-related changes in the photoreactivity of retinal lipofuscin granules: Role of chloroform-insoluble components. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(4):10521060.
- 59) Boulton M, Rózanowska M, Rózanowski B. Retinal photodamage. *J Photochem Photobiol B.* 2001;64(2-3):144-161.
- 60) Lucente A. EPR e l'imaging retinico. *Oftalmologia domani - N. 3 - Anno 2011.*
- 61) Taylor HR, West S, Rosenthal FS, Rosenthal FS, Bressler SB, Bressler NM. The long-term effects of visible light on the eye. *Arch Ophthalmol.* 1992;110(1):99-104.
- 62) Algvere PV, Marshall J, Seregard S. Age-related maculopathy and the impact of blue light hazard. *Acta Ophthalmol Scand.* 2006;84(1):4-15.
- 63) Kuse Y, Ogawa K, Tsuruma K, et al. Damage of photoreceptor-derived cells in culture induced by light emitting diode-derived blue light. *Sci Rep.* 2014; 4:5223.
- 64) Shang YM, Wang GS, Sliney D, Yang CH, Lee LL. White light-emitting diodes (LEDs) at domestic lighting levels and retinal injury in a rat model. *Environ Health Perspect.* 2014;122(3): 269-276.
- 65) Jaadane I, Boulenguez P, Chahory S, et al. Retinal damage induced by commercial light emitting diodes (LEDs). *Free Radic Biol Med.* 2015; 84:373-384.
- 66) International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. ICNIRP guidelines on limits of exposure to incoherent visible and infrared radiation. *Health Phys.* 2013;105(1):74-96.

- 67) Congdon, N., O'Colmain, B., Klaver, C. C., Klein, R., Munoz, B., Friedman, D. S., et al. (2004). Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. *Arch. Ophthalmol.* 122:477–485.
- 68) Crabb, J. W., Miyagi, M., Gu, X., Shadrach, K., West, K. A., Sakaguchi, H., et al. (2002). Drusen proteome analysis: an approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 14682–14687.
- 69) Lin, L. (2006). RAGE on the Toll Road? *Cell Mol. Immunol.* 3,351–358.
- 70) Chalam, K. V., Khetpal, V., Rusovici, R., and Balaiya, S. (2011). A review: role of ultraviolet radiation in age-related macular degeneration. *Eye Contact Lens* 37, 225–232.
- 71) Lin CH, Wu MR, Li CH, et al. Editor's highlight: Periodic exposure to smartphone-mimic low-luminance blue light induces retina damage through Bcl-2/BAX-dependent apoptosis. *Toxicol. Sci.* 2017;157(1):196-210.
- 72) Mobile LCD and OLED Display Shoot-Outs. DisplayMate website. <http://www.displaymate.com/mobile.html>. Accessed June 7, 2017.
- 73) Cooper EA, Jiang H, Vildavski V, Farrell JE, Norcia AM. Assessment of OLED displays for vision research. *J Vis.* 2013;13(12):1-13.
- 74) Zukerman E. Review: f.lux makes your computer usable at night. PCWorld website. <http://www.pcworld.com/article/2056895/reviewflux-makes-your-computer-usable-at-night.html>. Published October 31, 2013. Accessed June 7, 2017.
- 75) Lopatto E. Can Apple's color-shifting screen really help you fall asleep faster? <https://www.theverge.com/2016/3/29/11326194/apple-night-shift-blue-light-sleep>.
- 76) Bell, Karissa. F.lux creators ask Apple to open Night Shift features to developers. Mashable. Retrieved 2017-04-29.
- 77) Soneira R. Watching displays at night. DisplayMate website http://www.displaymate.com/Displays_At_Night_1.htm. Accessed June 9, 2017.



CAPITOLO 22

OCT/OCTA: IMAGING DEL GLAUCOMA IN MACULA

BREVI NOTE SUGLI OCT

Molti oftalmologi hanno ormai familiarità con la Tomografia a Coerenza Ottica, Optical Coherence Tomography OCT. Dall'avvento dell'OCT 3 Stratus Zeiss le indagini tomografiche, inizialmente centrate sull'area maculare, si sono presto allargate al nervo ottico, in particolare nella diagnosi del glaucoma [1]. L'utilizzo dell'OCT in Oftalmologia ha avuto inizio nella metà degli anni Novanta. Il primo device OCT 1 Zeiss del 1995, poco conosciuto, è stato sostituito nel 2000 dalla versione OCT 2 che ha avuto, invece, una qualche diffusione specie nelle strutture universitarie ed ospedaliere. Per precisione, la prima azienda a sviluppare nel 1992 una tecnologia OCT per applicazioni oftalmologiche è stata l'AOD Advanced Ophthalmic Devices, fondata da *James Fujimoto* e *Carmen Puliafito*, inglobata un anno dopo nella Humphrey, acquisita a sua volta dalla Carl Zeiss Meditec. La Zeiss, mettendo a frutto la ricerca effettuata nel MIT Massachusetts Institute of Technology, ha

lanciato sul mercato oftalmologico, come riferito, i primi OCT, device diventati sempre più validi e clinicamente fruibili su larga scala. Tuttavia poco si conosceva e poco si utilizzava questa metodica prima del grande successo commerciale dello Stratus, terza ed ultima versione degli OCT Time Domain Zeiss, entrato in commercio negli ultimi mesi del 2002. La definizione dell'imaging dei primi device OCT era iconograficamente poco accattivante, di difficile interpretazione. Il loro utilizzo, limitato a studi scientifici, non ha raggiunto il consenso scientifico largamente accordato allo Stratus. La grande utilità diagnostica dello Stratus è confermata dal numero delle installazioni: più di 600 in Italia con omogenea distribuzione sul territorio nazionale, circa 6000 sistemi OCT Time Domain nel resto del mondo. Lo Stratus è stato il gold standard degli OCT Time Domain; di pari passo le conoscenze diagnostiche acquisite per mezzo di questa metodica si sono diffuse e consolidate fino al 2006, anno di commercializzazione degli SD-OCT Spectral Domain ([fig.1](#)) [2].

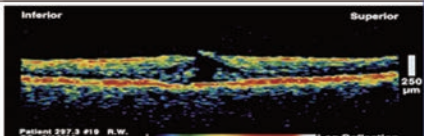
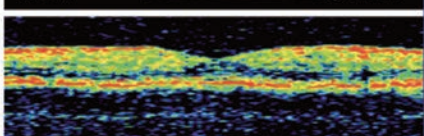
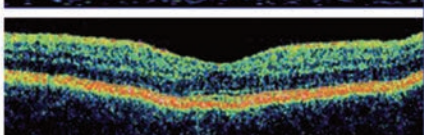
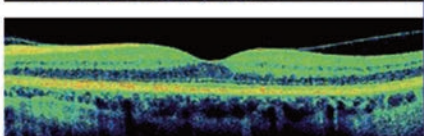
MODEL IMAGE Installation/Year	YEAR	SINGLE LINE SCAN	SCANS SEC	RES (microns)	B SCAN
 200/99	OCT 1995	100 A-scans x 500 points	100	20	
 400/2002	OCT2 2000	100 A-scans x 500 points	100	20	
 6000/2006	OCT3 STRATUS 2002	512 A-scans x 1024 points	500	10	
 10000/2012	CIRRUS HD-OCT 2007	4096 A-scans x 1024 points	27.000	5	

Fig. 1 - Evoluzione degli OCT Zeiss.

Lo stimolo propulsivo delle industrie nei confronti di queste nuove tecnologie è stato determinato principalmente dal fatto che l'analisi tomografica retinica sotto il profilo iconografico appare fortemente "eye-catching", straordinariamente convincente, d'immediata utilità diagnostica. Molte patologie retiniche sono state maggiormente comprese e dettagliatamente determinate nella loro fisiopatologia con l'uso di tale metodica. Si pensi all'imaging che gli OCT consentono nel foro maculare, nelle membrane epiretiniche, con o senza trazioni, nelle schisi presenti nella miopia elevata, alle conoscenze ottenibili con i moderni OCTA Optical Coherence Tomography Angiography in molte patologie vascolari, retinopatia diabetica e CNV Choroidal-NeoVascularization per citare le forme più frequenti e studiate [3]. Quasi tutte le patologie corio-retiniche hanno subito profondi capovolgimenti fisiopatologici, potendo beneficiare di nuove e più efficaci terapie.

CELLULE GANGLIARI RETINICHE

Ormai senza l'imaging OCT/OCTA nessuna diagnosi retinica o sulla papilla ottica è ritenuta valida e completa, accettata dalla letteratura scientifica. Il glaucoma ha beneficiato di questi straordinari device con misurazioni sull'ONH Optical Nerve Head, permettendo la misura dello spessore RNFL Retinal Nerve Fiber Layer, e dello spessore delle GCC Ganglion Cell Complex in macula (anche definito come Ganglion Cell Layer GCL) (fig. 2).

I dati numerici offerti dai Report di stampa sono diventati indispensabili per una più completa ed esaustiva diagnosi, un corretto ed attento monitoraggio del paziente glaucomatoso [4]. Come

affermato e scritto in altri articoli su questa Rivista, numerosi studi hanno dimostrato l'affidabilità degli SD-OCT nella stima dello spessore del RNFL sostituendo altre tecnologie, ugualmente affidabili, dedicate specificamente all'indagine sulle fibre ottiche, come la Polarimetria (GDx) e la Tomografia a Scansione Laser (HRT) [5,6]. Le cellule gangliari retiniche costituiscono il punto di raccolta e passaggio del messaggio visivo che inizia nei coni e bastoncelli. Dopo l'interposizione delle cellule bipolari, l'impulso passa per mezzo delle cellule gangliari ai neuroni dei corpi genicolati laterali e, infine, alla corteccia cerebrale, dove lo stimolo luminoso prende forma compiuta. Le RGCs Retinal Ganglion Cells sono neuroni multipolari. I loro dendriti contraggono sinapsi nello strato plessiforme interno oltre che con le bipolari con le cellule amacrine, mentre i loro assoni convergono a formare il nervo ottico. Le RGCs sono 1.000.000/1.200.000. Il loro corpo cellulare (pirenoforo o soma) è situato nello strato che ne prende il nome, strato gangliare o multipolare, mentre i loro lunghi assoni formano il nervo ottico (fig. 3) [7].

Le RGCs si estendono nella retina su tre livelli:

- a) RNFL Retinal Nerve Fiber Layer strato delle fibre ottiche costituito dai loro assoni;*
- b) GCL Ganglion Cell Layer strato dei corpi delle cellule gangliari costituito dai loro pirenofori;*
- c) IPL Inner Plexiform Layer strato plessiforme interno costituito dai loro dendriti.*

Nel corso della vita si ha una fisiologica perdita di cellule gangliari, ritenute cellule perenni, stimata intorno al 33% all'età di 75 anni, con una diminuzione/anno di 5000/9000 unità [8]. È un dato acquisito dalla letteratura che il campo visivo non mostra significativi segni patologici fino alla perdita di un terzo del numero complessivo di cellule gangliari retiniche [8,9]. Il campo visivo, esame gold standard strumentale per la valutazione della funzione visiva nel glaucoma, si dimostra, come test soggettivo, limitato nella sua riproducibilità, dipendendo dalla cooperazione e attenzione del paziente. La funzione visiva trasmessa dagli strati retinici dipende grandemente dall'integrità delle RGCs; la percentuale della loro sopravvivenza negli anni influenza il

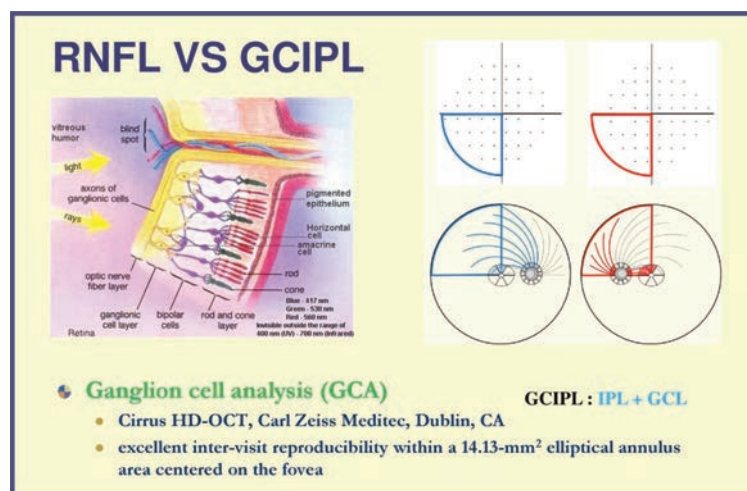


Fig. 2 - Relazione tra RNFL e GCIPL = IPL+GCL (by 201.4.17 P.F. 박찬기 / R4 안 예 진).

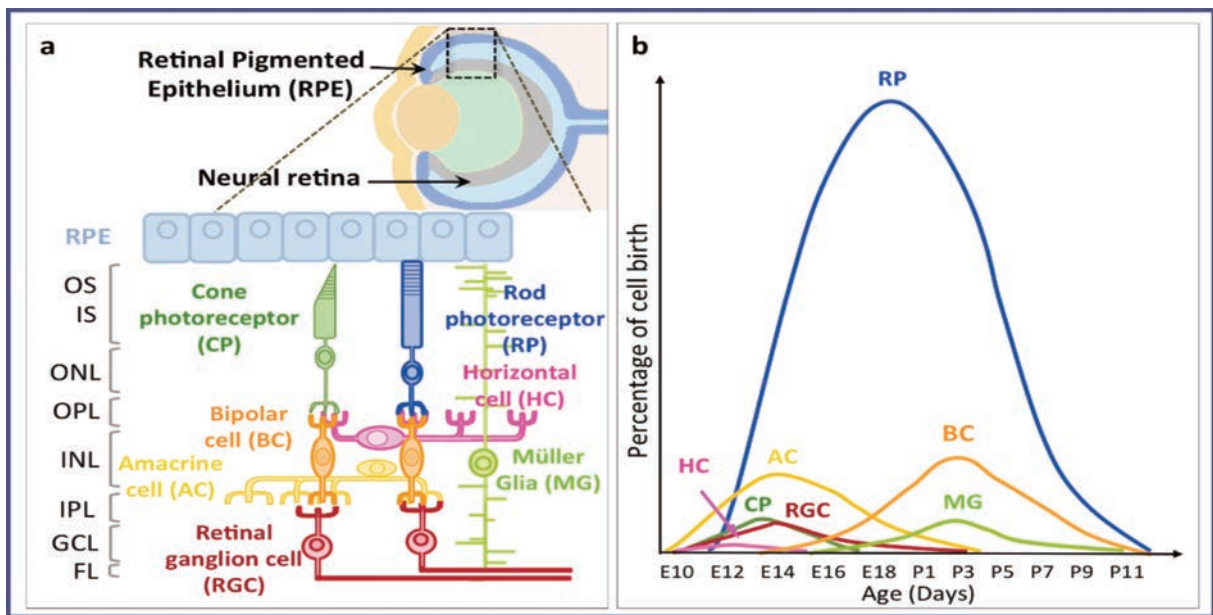


Fig. 3 - Distribuzione e genesi delle cellule retiniche. (a) rappresentazione schematica degli strati retinici e interconnessioni cellulari. RPE Retinal Pigmented Epithelium, IS Inner segments, OS Outer Segments dei fotorecettori, ONL Outer Nuclear Layer con il soma dei CP Cone Photoreceptors e dei RP Rod Photoreceptors, OPL Outer Plexiform Layer. INL Inner Nuclear Layer contiene il soma delle MG cellule gliali di Müller e differenti interneuroni: AC Amacrine Cells, HC Horizontal Cells, BC Bipolar Cells. IPL Inner Plexiform Layer. Lo strato GCL Ganglion Cell Layer contiene le RGC Retinal Ganglion Cells. FL Fiber Layer contiene gli assoni delle RGCs. (Adattato da Cepko, C. Intrinsically different retinal progenitor cells produce specific types of progeny. Nat. Rev. Neurosci. 2014, 15, 615–627[CrossRef]). (b) Tempi di sviluppo delle differenti cellule nei topi. E: embryonic days, P: postnatal days. (Adattato da Young, R.W. Cell differentiation in the retina of the mouse. Anat. Rec. 1985, 212, 199–205. [CrossRef] [PubMed]).

VFI Visual Field Index, come si evidenzia molto bene dal grafico di Amir H. et al. (fig. 4).

La vitalità degli assoni del nervo ottico, fondamentale per il trasporto dei messaggi visivi, è assicurata dal corpo cellulare delle cellule gangliari

retiniche. Gli assoni sono, infatti, senza ribosomi, privi di attività di sintesi proteica, e traggono nutrimento dal citoplasma del loro soma [10]. Esistono assoni di varia lunghezza nei mammiferi, da un millimetro fino a un metro e oltre; la loro

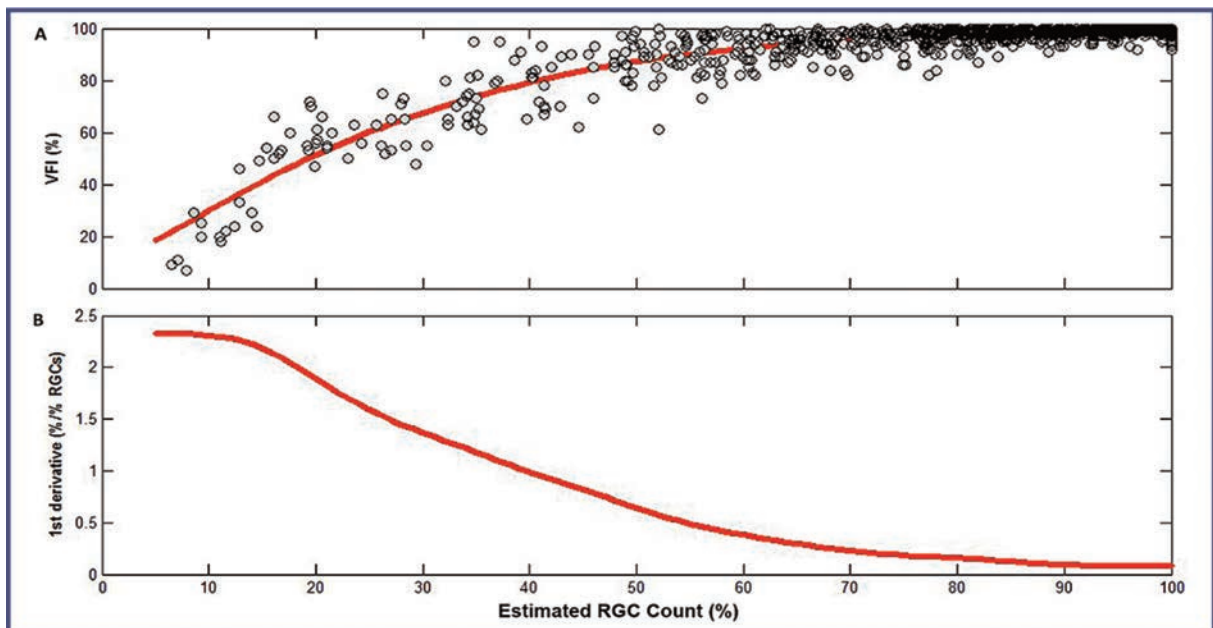


Fig. 4 - Grafico A in alto. Relazione tra Visual Field Index VFI e percentuale delle cellule gangliari correlate all'età. Grafico B in basso. Derivata prima della curva nel Riquadro A, che dimostra la variazione del VFI per 1% delle RGC superstiti per stima percentuali di RGCs. (by: Amir H. Marvasti et al. www.plosone.org October 2013 | Volume 8 | Issue 10 | e76590).

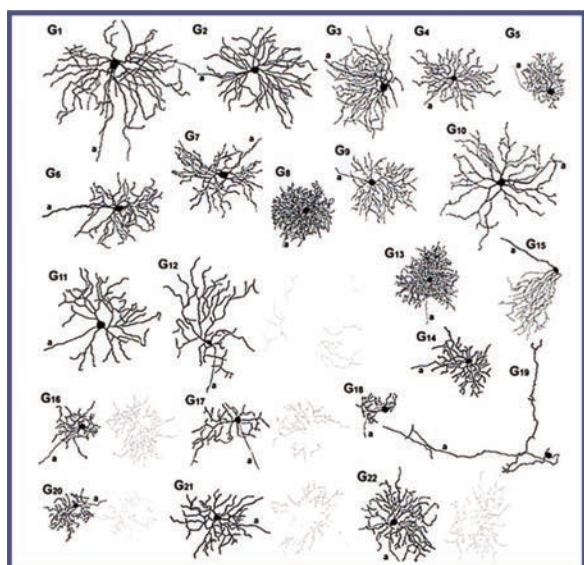


Fig. 4 - Grafico A in alto. Relazione tra Visual Field Index VFI e percentuale delle cellule ganglionari correlate all'età. Grafico B in basso. Derivata prima della curva nel Riquadro A, che dimostra la variazione del VFI per 1% delle RGC superstiti per stima percentuali di RGCs. (by: Amir H. Marvasti et al. www.plosone.org October 2013 | Volume 8 | Issue 10 | e76590).

dipendenza biologica dal citoplasma garantisce il loro necessario nutrimento, la corretta trasmissione assonica. Le fibre ottiche di provenienza foveale sono il 30/50% di tutte le fibre ottiche retiniche. Molto sottili sono di pertinenza delle cellule gangliari P (piccole, parve, beta o midget cells); il 90% di tutte le gangliari retiniche sono midget cells (fig. 5).

A queste cellule è deputata la fine visione discriminativa; i loro messaggi arrivano principalmente alla corteccia visiva primaria V1, area 17 di Brodmann [10].

OCTA & NERVO OTTICO

Nella malattia glaucomatosa le possibili correlazioni tra struttura e funzione sono state a lungo studiate e discusse [11]. Un'estesa disamina si trova nel Documento di Consenso redatto nel 2003 al Meeting di San Diego in California, a cura del WGA, World Glaucoma Association. In tale dettagliato documento emerge tra l'altro che:

- L'imaging digitale è assolutamente valido nella diagnosi clinica del glaucoma;*
- È improbabile che un solo test funzionale sia capace di riassumere per intero l'aspetto della malattia glaucomatosa (the whole dynamic range);*

c) Sia gli esami funzionali che strutturali sono necessari per una più completa conoscenza della malattia glaucomatosa.

A differenza dell'angiografia con fluoresceina, i dati nell'OCTA sono dovuti al movimento dei globuli rossi piuttosto che del plasma. Le aree non perfuse all'OCTA non sono necessariamente senza vasi o con vasi ostruiti; sono da interpretare come aree prive di globuli rossi in movimento rilevabili dal software [3]. Ai fini della ricerca e della pratica clinica, i parametri più significativi che l'indagine OCT/OCTA apporta nella diagnosi del glaucoma sono i dati morfologici e funzionali rilevabili sulle aree neuroretiniche sensibili al danno IOP dipendente. L'area più a lungo indagata strutturalmente è quella peripapillare, oggetto di studio vascolare con l'uscita degli OCTA [4]. Com'è noto l'ONH è irrorato da un plesso di vasi superficiali, tributario dell'arteria centrale della retina, per gli strati iuxta-retinici, superficial layers, essenzialmente fibre ottiche e strato superficiale del nervo ottico. Un plesso di vasi profondi, tributario delle arterie ciliari brevi, irrorano gli strati iuxta-coroideali, deeper layers, per la precisione regione prelaminare, lamina cribrosa e regione retrolaminare (fig. 6).

Anche se iniziali rapporti indicavano il plesso delle arterie ciliari profonde come maggiormente coinvolto nel danno glaucomatoso, altre ricerche hanno rivalutato il ruolo del plesso superficiale di pertinenza dell'arteria centrale retinica (figg. 7a,7d) [12-14].

L'importanza tomografica degli spessori di RNFL e GCC nella diagnosi del glaucoma è ampiamente supportato da innumerevoli ricerche e studi [2,3,9,11]. L'interesse sul dato vascolare nel glaucoma è stato incentrato essenzialmente sull'area peripapillare dell'ONH, superficiale e profonda, oltre che sulla lamina cribrosa, con più difficoltà d'imaging. L'indagine vascolare sull'area dell'ONH è stata presa in considerazione per prima in corso di glaucoma; molti studi affermano l'efficacia di quest'indagine. Da non molto tempo l'area maculare è oggetto di crescente interesse da parte di numerosi gruppi di studio nel tentativo di avere informazioni sulle fasi iniziali del danno IOP dipendente. Le ricerche su quest'area evidenziano variazioni vascolari significative secondarie in corso di glaucoma [15]. Per Vessel Density si intende il rapporto percentuale tra due aree per uno stesso strato retinico o slab: la superficie totale e quella che, in questa stessa area, risulta perfusa [16,17]. Yali Jia et al. hanno confrontato la perfusione

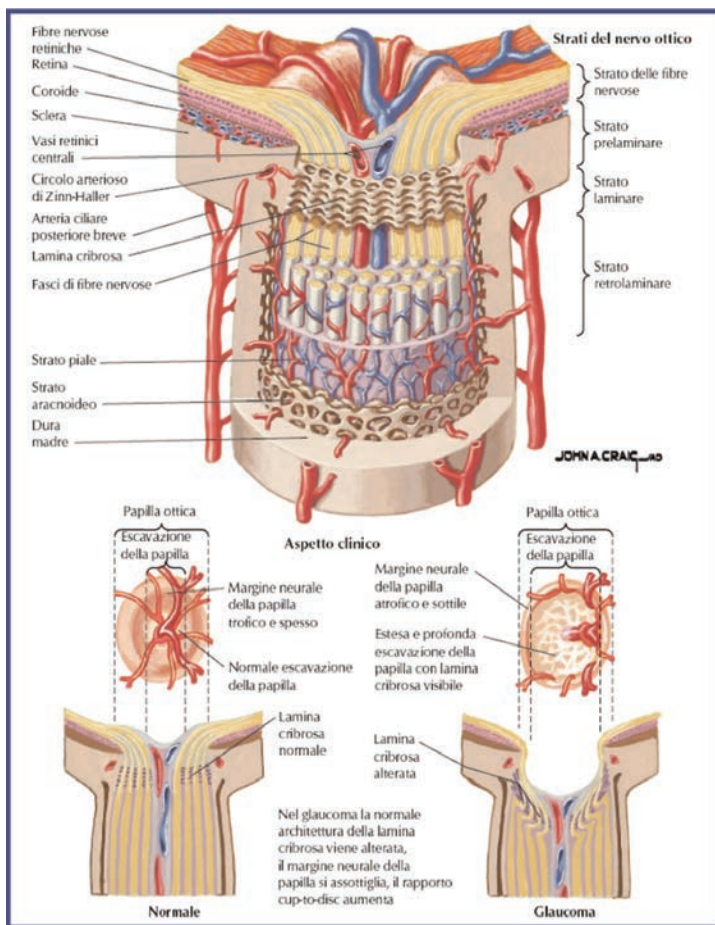


Fig. 6 - Anatomia del nervo ottico (by: occhiobenessere.it).

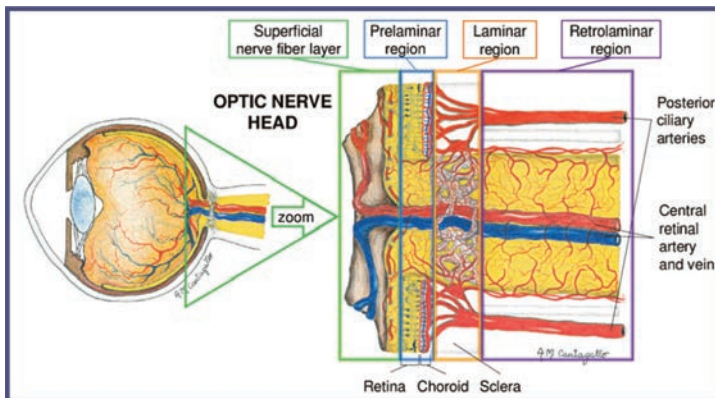


Fig. 7a - Anatomia vascolare dell'ONH Optic Nerve Head, con quattro regioni: superficiale nerve fiber layer SNFL, prelaminare, laminare e retrolaminare. (by: Daniele Prada, Thesis for: PhD in Applied Mathematics; Advisor: Giovanna Guidoboni; december 2016, disegno di A. M. Cantagallo).

del disco ottico tra soggetti normali e glaucomatosi in uno studio osservazionale e cross-sectional utilizzando un SS-OCT Swept-Source Fourier-domain a 1050 nm, 100 kHz repetition rate, con algoritmo SSADA, utilizzando campi d'indagine 3mm × 3mm su ONH [18]. Nei dischi ottici normali il network va-

scolare era denso, nei glaucomatosi, invece, attenuato, con un Flow Index ridotto del 25% ($P=0,003$). Inoltre il Flow Index era correlato con il VF pattern standard deviation ($P=0,001$), e rimaneva significativo anche considerando età, C/D ratio, RNFL e Rim Area [18]. Questi autori hanno molto contribuito a descrivere e caratterizzare i parametri utilizzati dagli OCTA. Dai loro studi si evince che il software acquisisce l'ampiezza della decorrelazione da B scan multiple consecutive, calcolando la differenza tra il tessuto statico, silente, e i vasi con movimento di emazie, segnali positivi di decorrelazione. Il segnale di sottrazione indica il flusso sanguigno esistente nello slab indagato. Più le particelle di sangue intercettate dal raggio laser si muovono rapidamente, maggiore è la decorrelazione rilevata, nei limiti di un intervallo di velocità limitato dal software. La decorrelazione quindi può essere considerata direttamente dipendente dalla velocità del flusso; la velocità è indicata dalla distanza percorsa dai globuli rossi nell'unità di tempo. Il limite massimo e minimo di rilevazione della velocità è stabilito dall'algoritmo utilizzato dal device. Per arrivare a dati sicuri si sono elaborati software idonei per eliminare, o quanto meno limitare, i possibili artefatti [18]. L'indice di flusso o Flow Index è stato definito come il valore medio, in pixel di decorrelazione, all'interno di un'area tissutale; è espresso dalla seguente formula [19]:

$$\frac{\int_A D \cdot V dA}{\int_A dA}$$

($V=1$, if vessel; $V=0$)

- D è il valore di decorrelazione acquisito dall'algoritmo utilizzato;
- V varia da 1 a 0; $V=1$ quando il valore di decorrelazione è sopra l'imaging dello sfondo, $V=0$ in caso contrario [18].

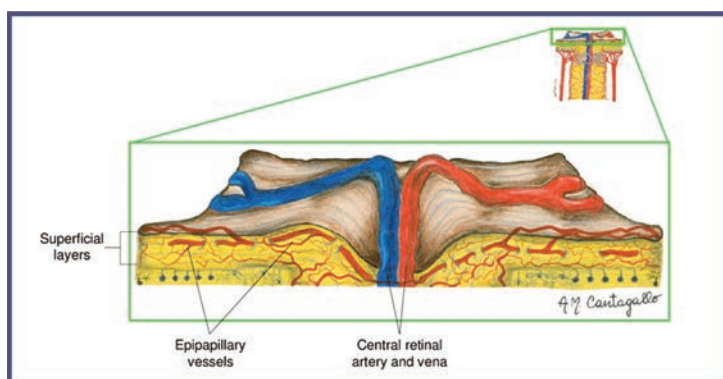


Fig. 7b - Superficial nerve fiber layer SNFL riceve ossigeno da arteriole retiniche denominate vasi epipapillari, originate dalla rete superficiale SNFL che decorrono verso in centro dell'ONH. (by: Daniele Prada, Thesis for: PhD in Applied Mathematics; Advisor: Giovanna Guidoboni; december 2016, disegno di A. M. Cantagallo).

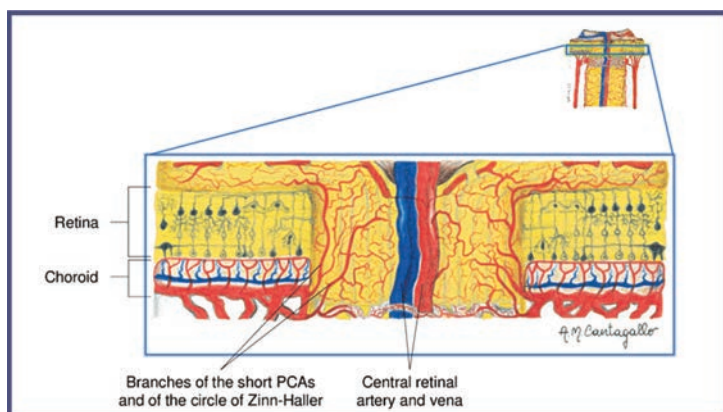


Fig. 7c - Regione prelaminare. Riceve principalmente ossigeno dalle branche delle arterie ciliari brevi (PCAs) e dal circolo di Zinn-Haller. Il circolo di Zinn-Haller, se presente, è un ring completo o incompleto di arteriole all'interno della sclera perineurale formato dalla confluenza delle branche delle PCAs. (by: Daniele Prada, Thesis for: PhD in Applied Mathematics; Advisor: Giovanna Guidoboni; december 2016, disegno di A. M. Cantagallo).

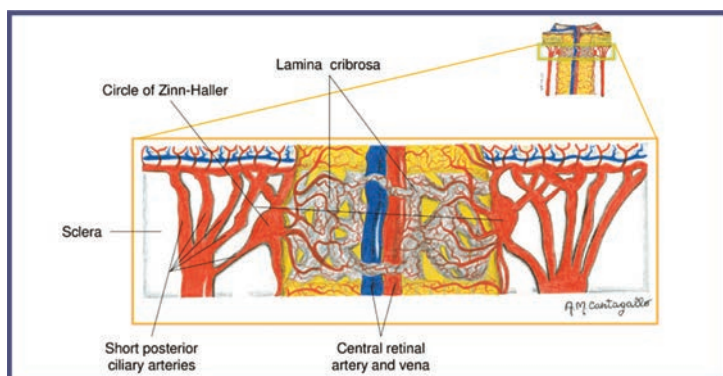


Fig. 7d - Regione laminare. Il sangue a questa regione arriva dalle branche centripete delle PCAs brevi. (by: Daniele Prada, Thesis for: PhD in Applied Mathematics; Advisor: Giovanna Guidoboni; december 2016, disegno di A. M. Cantagallo).

Pertanto, l'indice di flusso è un parametro adimensionale compreso tra 0 e 1. Esprimendo con una formula la Vessel Density VD, rapporto percentuale tra due aree, la superficie totale in studio

e quella occupata dai vasi nella stessa area d'interesse, si arriva al seguente rapporto (fig. 8) [19]:

$$\frac{\int_A V dA}{\int_A dA}$$

(V=1, if vessel; V=0)

Sempre nel glaucoma, in un altro studio, ancora *Yali Jia et al.*, prendono in considerazione due regioni dell'ONH, l'intero disco e un'ellisse temporale all'interno dell'area discale, e confrontano due gruppi, sani e con PPG preperimetric glaucoma. I risultati dello studio suggeriscono che la quantificazione della perfusione microvascolare in area papillare può essere molto utile nel rilevare precocemente i cambiamenti circolatori dell'ONH nei pazienti con glaucoma [19] (fig. 9).

Già nel 2003 *Hafez A.S. et al.* avevano riferito che pazienti con glaucoma ad angolo aperto presentavano un flusso sanguigno inferiore nell'ONH rispetto ai sani, e suggerivano che la perfusione potrebbe essere ridotta prima dei difetti al campo visivo [20]. Usando la fluorografia a chiazze laser il gruppo di *Tetsuya Sugiyama et al.* hanno osservato un minor flusso sanguigno nei settori superiore e inferiore lungo il bordo dell'ONH nei pazienti con PPG rispetto ai soggetti di controllo [21]. Gli stessi autori riferiscono che il flusso sanguigno è maggiormente ridotto nei settori temporali col progredire del glaucoma ad angolo aperto rispetto ai pazienti con PPG [21]. Nel complesso i risultati riferiti concordano nel ritenere che la perfusione dell'ONH è ridotta negli occhi glaucomatosi o che avranno glaucoma. Il settore temporale della pa-

pilla ottica sembra essere il locus più interessato da dropout di flusso in pazienti con aumento della IOP. Del resto *Jan Kerr et al.* nel 1998, utilizzando il Laser Doppler Flowmetry, avevano dimostrato

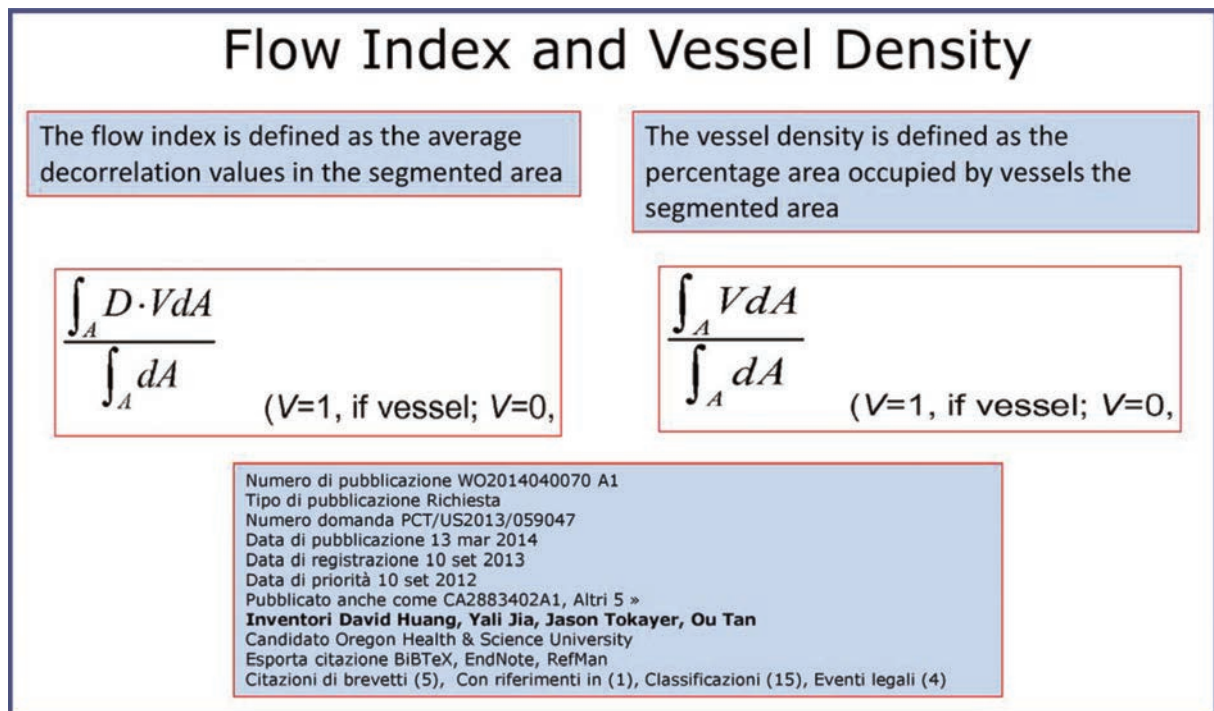


Fig. 8 - Quadro riassuntivo delle formule che descrivono il Flow Index e la Vessel Density con relativi riferimenti brevettuali.

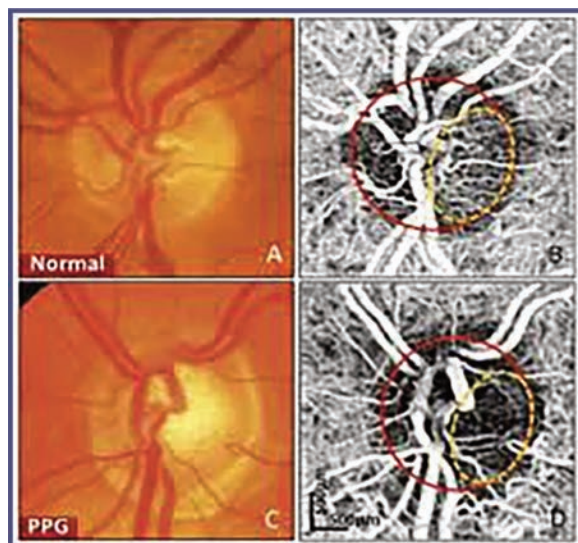


Fig. 9 - Fotografia di dischi ottici (A,C) e angiogrammi en face (B,D) di un soggetto normale (NORMAL) (A,B) e con glaucoma pre-perimetrico (PPG) (C,D). La linea circolare continua indica il disco ottico per intero, la linea tratteggiata la zona ellittica temporale. Un network denso è ben visibile nel disco normale, mentre è molto attenuato nel disco glaucomatoso (by Yali Jia et al; rif. Bibl.18).

nella lamina cribrosa e nel bordo neuroretinico temporale dell'ONH un flusso sanguigno ridotto nei pazienti con glaucoma rispetto agli ipertesi oculari [22]. Al termine del loro lavoro gli autori discutevano sull'importanza della diminuzione di

flusso nella patogenesi del danno gangliare IOP dipendente, auspicando nuovi lavori e ulteriori studi sull'argomento [22].

OCTA E MACULA

Le ipotesi patogenetiche del glaucoma accreditano essenzialmente due meccanismi IOP dipendente:

- 1) *Ipotesi meccanica, per cui la forza IOP dipendente è causa diretta di danno sui pirenofori e dendriti delle cellule gangliari in area maculare oltre che sugli assoni dell'ONH;*
- 2) *Ipotesi vascolare, per cui la IOP è causa indiretta di danno sulle cellule ganglionari per alterata perfusione neuro-retinica.*

L'indagine vascolare OCTA sull'area del disco è disponibile nella maggior parte dei sistemi tomografici in commercio. I dati numerici forniti dai device tuttavia non sempre sono di facile comprensione, comunque non sovrapponibili, con scarso agreement, come riferiscono numerosi studi tra i quali quello di *Xin-Xin Li* del 2018 che mette a confronto cinque tra i più venduti OCTA: AngioVue OptoVue, AngioPlex Zeiss, Spectralis Heidelberg, AngioScan Nidek e SS-OCT Angio Top-

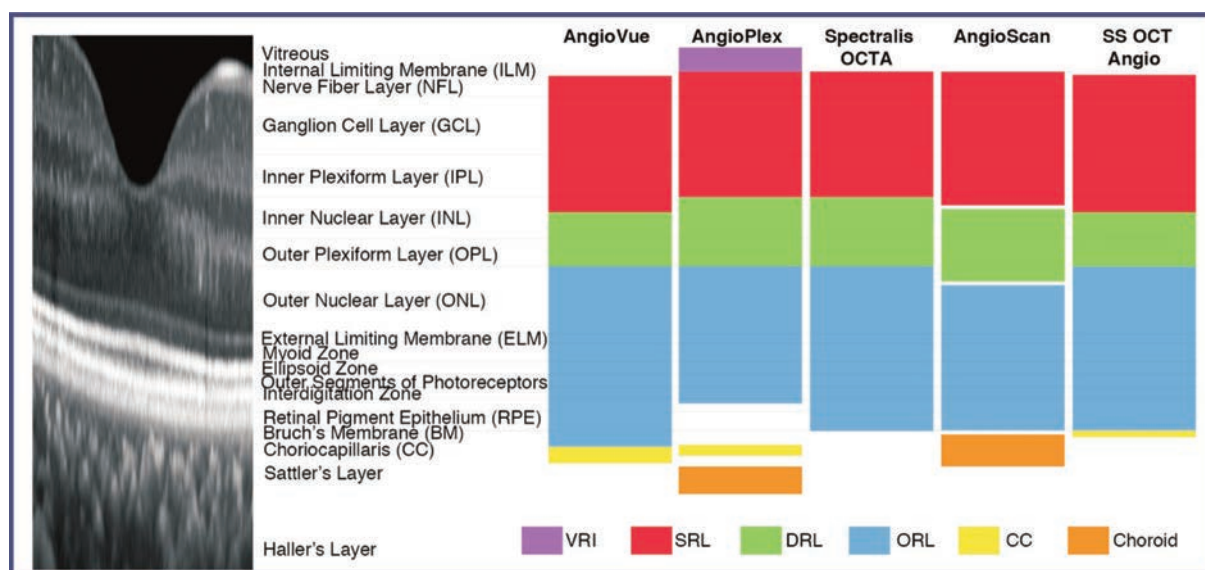


Fig. 10 - Segmentazione retinica umana con differenti device: AngioVue, AngioPlex, Spectralis OCTA, AngioScan, e SS OCT Angio (by: Xin-Xin Li et al.; Rif. Biblio:23).

con [23]. Questi autori nelle conclusioni del loro lavoro affermano: “*There is poor agreement of measurements among systems*” (fig. 10).

Partendo dal dato dello scarso agreement tra i differenti OCT/OCTA, con uguale sincerità e oggettività scientifica ogni attento operatore può convenire sulla possibilità di ottenere risultati non ripetibili nello stesso paziente, durante lo stesso esame, utilizzando lo stesso device [2,3,4]. Un film lacrimale disomogeneo, la presenza di opacità importanti dei mezzi diottrici, corpi mobili vitreali particolarmente densi nel percorso di scansione, o una messa a fuoco distante dalla MLI, sono tutti elementi sufficienti per ottenere risultati non comparabili, spesso antitetici. L’agreement poco affidabile inter e intra device vale per le misurazioni tomografiche strutturali e, ancor più, per quelle angiografiche. Da tempo è noto che l’area del disco ottico ha una variabilità e complessità anatomica individuale molto elevata [15]. La presenza in area papillare di grandi vasi accentua le difficoltà interpretative tridimensionali dell’indagine vascolare. Le difficoltà aumentano sulla lamina cribrosa, in particolare per la variabilità di posizionamento di questa struttura rispetto al piano retinico, in particolare al BMO-MRW Bruch’s Membrane Opening Minimum Rim Width, nuovo parametro molto promettente da prendere in considerazione nella valutazione complessiva dei pazienti glaucomatosi [24].

I nuovi SS-OCT, arrivando ad indagare più in profondità, oltre i 3 millimetri, potranno dare

una risposta più valida alle variazioni strutturali biomeccaniche e vascolari che la lamina cribrosa subisce in corso di glaucoma [25]. Le difficoltà di agreement tra i device sono dovute alla complessità tridimensionale delle aree retiniche indagate e ai loro differenti software applicativi. Molti strumenti di ultima generazione offrono la possibilità di misurare separatamente la superficial vessel density e la all-vessel density [26]. Questa doppia possibilità può generare ulteriore confusione interpretativa. Inoltre, la variabilità individuale della perfusione retinica secondaria a condizioni di circolo sistemiche differenti, può alterare i dati vascolari offerti dai Printout di stampa, indipendentemente dalla patologia bulbare indagata.

Questo dato è ancor più frequente nella popolazione glaucomatosa anziana in risposta all’efficacia delle terapie sistemiche e topiche in atto [27-30]. La riproducibilità a breve e lungo termine della misurazione della VD in area peripapillare RNFL e nello strato superficiale perifoveale della macula è stata indagata da molti gruppi di studio. I dati rilevati evidenziano un’alta ripetibilità della VD in entrambe le aree menzionate, in soggetti normali e glaucomatosi, a condizione di un imaging di buona qualità [27-30]. Inoltre sia Gábor Holló che altri ricercatori hanno dimostrato che la riproducibilità a lungo termine della VD in area peripapillare era indipendente dallo spessore RNFL, e risultava sovrapponibile

in occhi sani, con iniziale glaucoma o con danni più avanzati [16,27]. Una forte relazione tra la VD e gravità del danno glaucomatoso è stata inoltre dimostrata da *Geyman LS et al.* nell'area peripapillare [30], mentre *Lommatzsch C et al.* hanno evidenziato che sussiste una simile relazione anche nell'area maculare [31]. Secondo *Yar-mohammadi A. et al.* la capacità di distinguere tra occhi normali e glaucomatosi nell'imaging offerto dalla VD in area peripapillare o perifoveale in macula, utilizzando lo stesso OCTA, è simile o migliore della capacità discriminativa offerta dagli spessori RNFL [32].

Questi stessi autori in un altro lavoro affermano che le alterazioni microvascolari nella regione maculare precedono i difetti rilevabili al campo visivo [33]. L'accuratezza e la precisione dei diversi device resta tuttavia considerevolmente variabile, come affermano *Rao et al.* in alcuni loro studi e ricerche [34,35,37]. L'agreement dei differenti sistemi angiotomografici resta un limite nell'affidabilità ancora non risolto in questa nuova e promettente metodica. Sempre *Gábor Holló*, in un altro lavoro, riferisce ed evidenzia una relazione negativa tra le variazioni della struttura dell'intera area peripapillare, la densità vascolare in macula e i corrispondenti deficit al campo visivo. È stato rilevato che nel glaucoma ad angolo aperto esiste una relazione particolarmente stretta tra la densità dei vasi nei settori superotemporali e inferotemporali nell'area peripapillare e le aree del campo visivo corrispondenti.

È stato inoltre dimostrato che questa relazione può essere significativamente più forte del valore espresso dallo spessore RNFL nel settore spazialmente corrispondente [36,38]. Gli stessi autori hanno ancora trovato una forte e significativa relazione tra la media dei difetti in percentuale del campo visivo con il perimetro Octopus e la VD in area peripapillare temporale [38]. L'area retinica peripapillare temporale è stata considerata relativamente poco coinvolta nel corso della malattia glaucomatosa fino agli stadi più avanzati. Molte indagini OCTA ipotizzano invece che lievi alterazioni vascolari, o veri e propri danni, possano iniziare nell'area papillomaculare già all'esordio della malattia glaucomatosa.

Penteado et al. descrivono una significativa relazione tra la VD nell'area retinica perifoveale superficiale e la sensibilità media al campo visivo nei 10 gradi utilizzando il perimetro Humphrey

[39]. Corrispondenze non trascurabili sono state inoltre trovate da *Kwon J et al.* tra i difetti del campo visivo centrale in corso di glaucoma e l'incremento dell'area avascolare FAZ Foveal Avascular Zone all'OCTA [40].

CONCLUSIONI E CONSIDERAZIONI

Nella retina umana le RGCs sono localizzate più densamente nella macula. Il 50% di queste cellule sono concentrate in un'area estesa 4,5 mm intorno alla fovea, come riferito tra gli altri autori da *Curcio et al.* [41]. Anche se l'OHV è stato oggetto di numerosissimi studi ed attenzioni nella diagnosi di glaucoma, i nuovi mezzi d'imaging strutturali e angiografici permettono d'individuare anche in macula le più fini modifiche dovute all'aumento della IOP. *Yiwei Wang et al.*, in uno studio su 79 occhi di 72 soggetti, 31 normali, 26 con PPG e 22 con early glaucoma, hanno ritrovato che sia la VD che lo spessore GCC in macula erano significativamente diminuiti rispetto ai soggetti sani [42]. L'imaging OCT/OCTA in area maculare nel loro studio si conferma come target molto sensibile nella diagnosi dell'early glaucoma, presentando alterazioni strutturali e vascolari prima della comparsa dei deficit al CV [42]. In particolare gli autori nel loro interessante lavoro affermano:

- Una graduale riduzione della Vessel Density e dello spessore GCC negli occhi con PPG e early glaucoma rispetto a occhi sani;
- Una capacità diagnostica simile tra la Macular Vessel Density e spessore GCC nel rilevare e distinguere soggetti con PPG o con early glaucoma;
- Una riduzione maggiore della Vessel Density e dello spessore GCC in area perifoveale rispetto all'area parafoveale nei soggetti con PPG e con early glaucoma nei confronti dei soggetti sani.

Nel loro studio la regione maculare, indagata con un imaging 6mm x 6mm, è stata suddivisa in tre settori concentrici di 1, 3 e 6 mm, rispettivamente area foveale più interna, parafoveale intermedia, e area perifoveale più esterna; l'indagine oltre i 3 mm centrali sembra più idonea per il riscontro di alterazioni vascolari nell'aumento della IOP [42]. Si è assunto come VD la percentuale dell'area occupata da vasi rispetto all'area indagata [19], mentre le misurazioni sono state effettuate

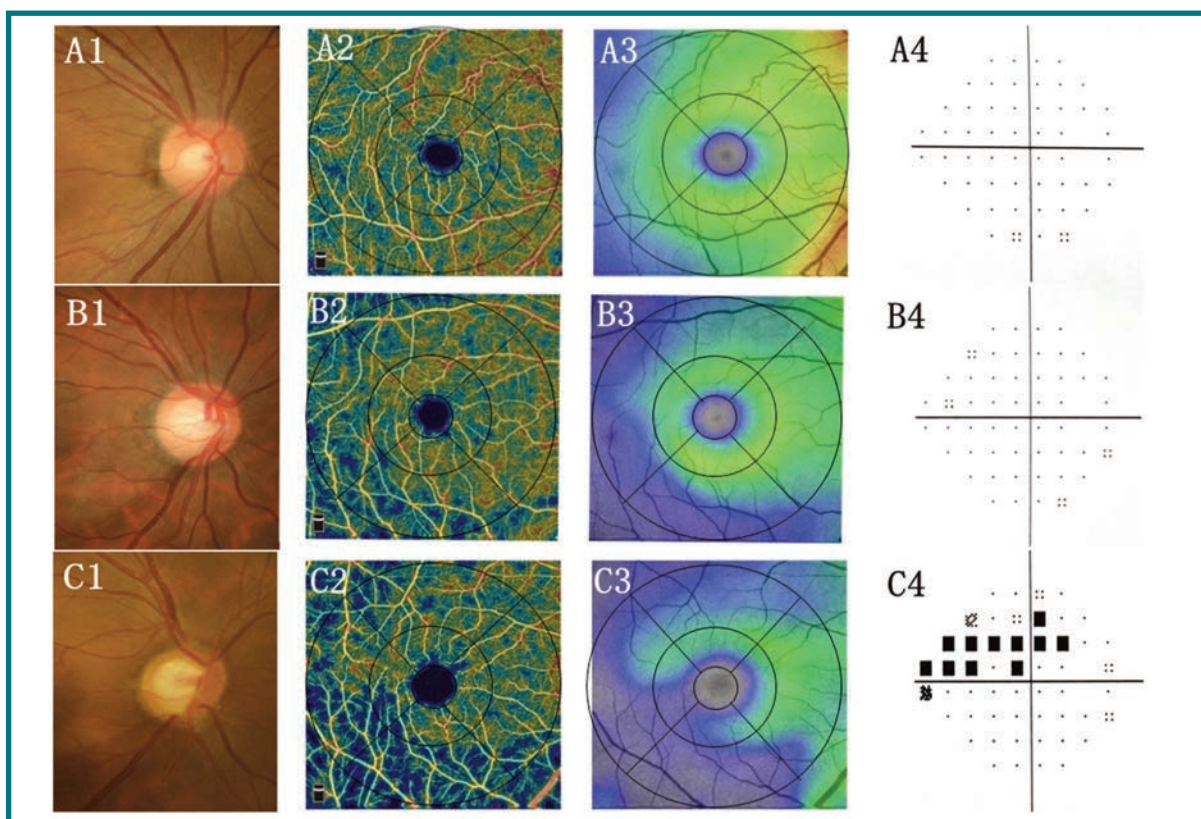


Fig. 11 - Nervo ottico, rim area, RNFL (assoni gangliari peripapillari come si evidenziano nella foto a colori) (A1), network vascolare maculare (A2), GCC (A3) e CV (A4) in un occhio normale. Allargamento del cup-to-disc con notching focali, difetti RNFL (B1,C1), difetti limitati del network vascolare in macula (B2,C2), danno delle GCC (B3,C3) con VF normale (B4) in glaucoma preperimetrico; difetti glaucomatosi tipici in early glaucoma (C4). Didascalia: GCC, ganglion cell complex thickness. RNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; VF, visual field (by: Yiwei Wang et al.; Rif Biblio: 42).

sul complesso vascolare superficiale, tra la membrana limitante interna e lo strato plessiforme interno ~ 10 mm in area maculare [42] (fig. 11).

Nonostante questi dati siano molto promettenti, ritengo che la capacità diagnostica delle alterazioni vascolari in macula, per diventare efficaci biomarker in corso di early glaucoma, necessitino ancora di approfondimenti, confronti e ulteriori riscontri in studi longitudinali, con follow-up condivisi (figg. 12a,12b,12c,12d,12e,12f).

Molte ricerche e lavori come quello di Harsha L. Rao et al. affermano infatti che l'abilità diagnostica della VD in area peripapillare e maculare in corso di glaucoma ad angolo aperto sia significativamente inferiore rispetto ai dati strutturali rilevabili nella Rim Area, RNFL e GCC, mentre la capacità diagnostica della VD migliora su ONH negli occhi ancora non trattati con IOP elevata [43].

Gli spessori GCC (average) sembrano molto più affidabili anche in occhi miopi glaucomatosi rispetto allo spessore RNFL, meno influenzati

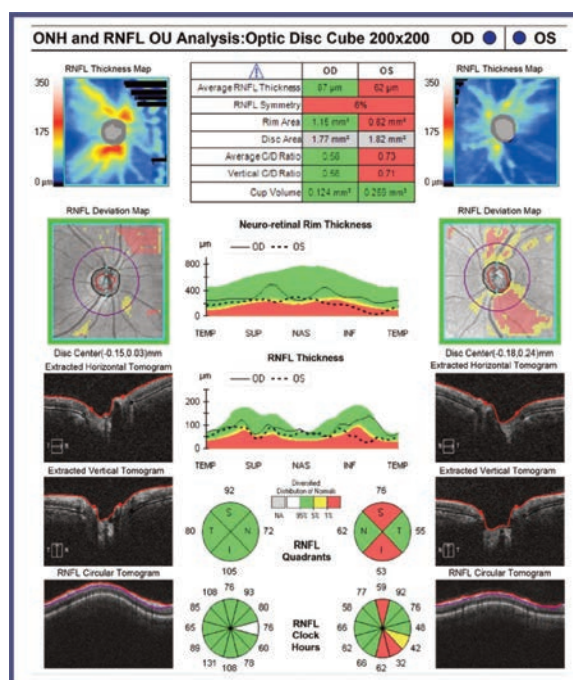


Fig. 12a - ONH and RNFL OU Analysis: Optic Disc Cube 200x200. Evidenti i danni RNFL, Rim Area, Average C/D Ratio e Vertical C/D Ratio nell'occhio sinistro.

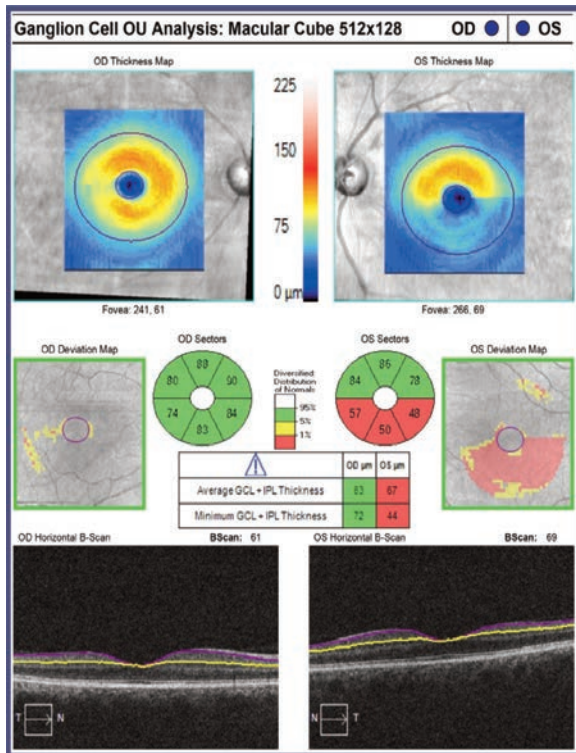


Fig. 12b - Cell OU Analysis: Macular Cube 512x128. Evidente il danno degli spessori GCL nella metà inferiore nell'occhio sinistro.

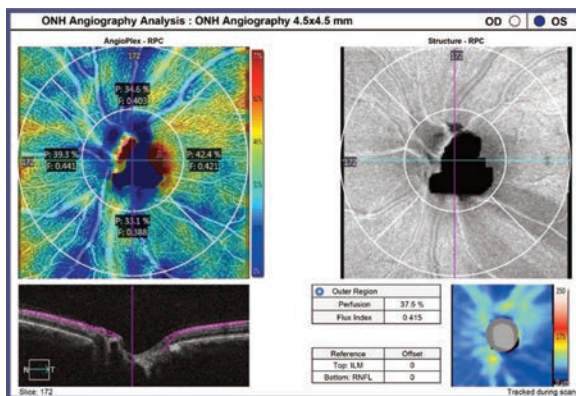


Fig. 12c - Angiography Analysis: ONH Angiography 4.5x4.5 mm. Diminuzione di flusso più evidente nei settori inferiori dell'occhio sinistro.

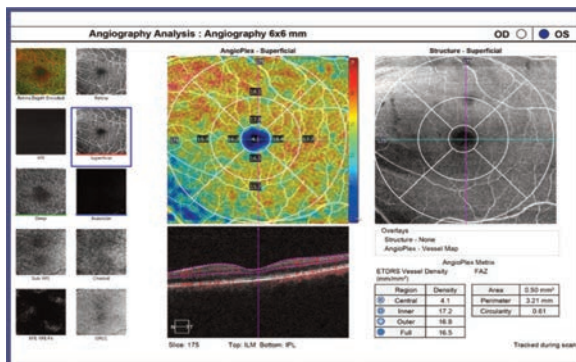


Fig. 12d - Angiography Analysis: Angiography 6x6 mm. Diminuzione dei vasi nell'area maculare nei settori inferiori dell'occhio sinistro.

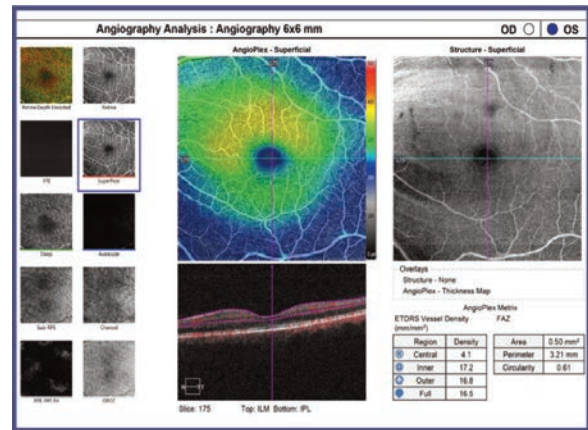


Fig. 12e - Angiography Analysis: Angiography 6x6 mm con imaging in falsi colori per gli spessori retinici. La diminuzione dei vasi nei settori inferiori dell'occhio sinistro integrata con la diminuzione degli spessori retinici corrispondenti.

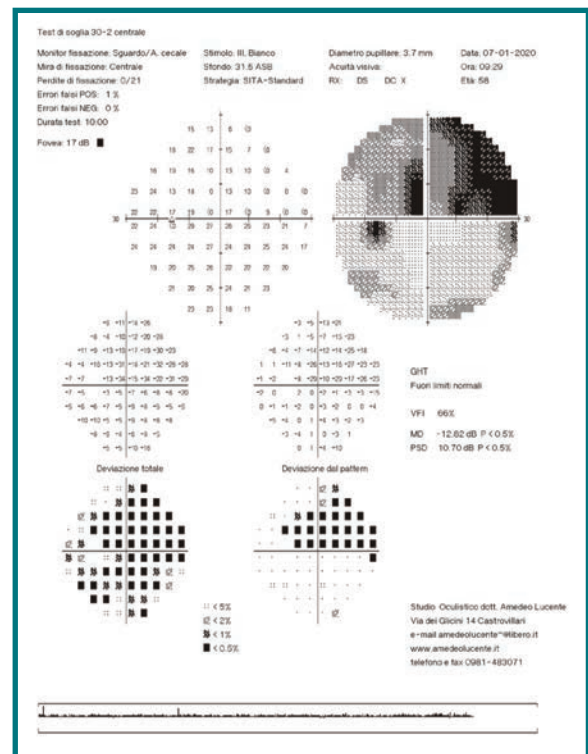


Fig. 12f - Campo Visivo 30.2 centrale HFA II 750. Evidente il danno nei settori superiori dell'occhio sinistro.

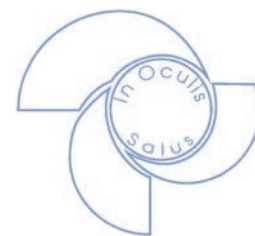
dalla lunghezza assiale, come affermano *Gianluca Scuderi et al.* in un loro recente e brillante lavoro [44]. Questi dati della letteratura, insieme ai riscontri personali, da integrare e condividere, ci incoraggiano a prendere in considerazione l'imaging strutturale e vascolare in area maculare per comprendere meglio e prima i danni sulle cellule gangliari retiniche negli squilibri della IOP.

REFERENCES

- 1) Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254:1178-1181.
- 2) Lucente A. L'evoluzione degli OCT. www.ofthalmologiadomani.it N.3-Anno2010.
- 3) Lucente A. CNV OCT & Angio-OCT. www.ofthalmologiadomani.it Anno IX – 2018.
- 4) Lucente A. OCT e Glaucoma. www.ofthalmologiadomani.it N.2-Anno 2013.
- 5) Leung CK, Cheung CY, Weinreb RN, et al. Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical coherence tomography: a variability and diagnostic performance study. *Ophthalmology*. 2009; 116(7):1257-1263.
- 6) Leung CK, Ye C, Weinreb RN, et al. Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical coherence tomography a study on diagnostic agreement with Heidelberg Retinal Tomograph. *Ophthalmology*. 2010;117(2):267-274.
- 7) Minervino C. Relazione tra i parametri morfologici e funzionali in pazienti con differente grado di severità glaucomatosa. Tesi di dottorato di ricerca imaging molecolare; Coordinatore Prof. Andrea Renda. Scuola di Medicina e Chirurgia Dipartimento di Neuroscienze e Scienze Riproduttive ed Odontostomatologiche; Università degli Studi di Napoli "Federico II".
- 8) Balazsi AG, Rootman J, Drance SM, Schultzer M, Yidegiligne HM, Weis MM. The normal human optic nerve. *Ophthalmology*, 1989; 96:1325-8.
- 9) Lucente A. Le fibre ottiche retiniche. www.ofthalmologiadomani.it N. 2 Anno 2012.
- 10) Marshak D. W. Retinal Ganglion Cells: Anatomy. *Encyclopedia of Neuroscience*. 2009, Pages 211-218.
- 11) A. Lucente Il Glaucoma tra struttura e funzione. www.ofthalmologiadomani.it; N. 1 Anno 2014.
- 12) Alon Harris, Tomas A. Ciulla, Hak Sung Chung, Bruce Martin. Regulation of Retinal and Optic Nerve Blood Flow. *JAMA Ophthalmology*. November 1, 1998, Vol 116, No. 11. 21)
- 13) B. L. Petrig, C. E. Riva, and S. S. Hayreh, "Laser Doppler flowmetry and optic nerve head blood flow," *Am. J. Ophthalmol.* 127(4), 413-425 (1999).
- 14) Hana Leiba, Rony Rachmiel, Alon Harris, Larry Kagemann, Ayala Pollack, Miriam Zalish. Optic nerve head blood flow measurements in non-arteritic anterior ischaemic optic neuropathy. *Eye* (2000) 14, 828-833.
- 15) Gábor Holló. Optical Coherence Tomography Angiography in Glaucoma. *Turk J Ophthalmol* 2018; 48:196-201.
- 16) Holló G. Intrasession and between visit variability of sector peripapillary angioflow vessel density values measured with the Angiovue optical coherence tomograph in different retinal layers in ocular hypertension and glaucoma. *PLoS ONE*. 2016;11: e 0161631.
- 17) Holló G. Vessel density calculated from OCT angiography in 3 peripapillary sectors in normal, ocular hypertensive and glaucoma eyes. *Eur J Ophthalmol*. 2016; 26:42-45.
- 18) Jia Y, Wei E, Wang X, et al. Optical coherence tomography angiography of optic disc perfusion in glaucoma. *Ophthalmology* 2014; 121:1322-1332.
- 19) Yali Jia, John C. Morrison, Jason Tokayer, Ou Tan, Lorinna Lombardi, Bernhard Baumann, Chen D. Lu, WooJhon Choi, James G. Fujimoto, and David Huang. Quantitative OCT angiography of optic nerve head blood flow. 1 December 2012, Vol. 3, No. 12 / *BIOMEDICAL OPTICS EXPRESS* 3127.
- 20) A. S. Hafez, R. L. G. Bizzarro, and M. R. Lesk. "Evaluation of optic nerve head and peripapillary retinal blood flow in glaucoma patients, ocular hypertensives, and normal subjects," *Am. J. Ophthalmol.* 136(6), 1022– 1031 (2003).
- 21) T. Sugiyama, M. Shibata, S. Kojima, and T. Ikeda. "Optic Nerve Head Blood Flow in Glaucoma," in *The Mystery of Glaucoma*, T. Kubena, ed. (InTech, 2011), pp. 207–218.
- 22) J. Kerr, P. Nelson, and C. O'Brien. "A comparison of ocular blood flow in untreated primary open-angle glaucoma and ocular hypertension," *Am. J. Ophthalmol.* 126(1), 42–51 (1998).
- 23) Xin-Xin Li, Wei Wu, Hao Zhou, Jun-Jie Deng, Meng-Ya Zhao, Tian-Wei Qian, Chen Yan, Xun Xu, and Su-Qin Yu. A quantitative comparison of five optical coherence tomography angiography systems in clinical performance. *Int J Ophthalmol*. 2018; 11(11): 1784–1795.
- 24) Keunheung Park, Jinmi Kim, and Jiwoong Lee. The Relationship Between Bruch's Membrane Opening Minimum Rim Width and Retinal

- Nerve Fiber Layer Thickness and a New Index Using a Neural Network. *TVST* 2018 | Vol.7 | No. 4 | Article 14.
- 25) Lucente A. La Lamina Cribrosa: imaging e biomeccanica. *Oftalmologia Domani* N. 2 Anno 2014.
 - 26) Sebastian A. Banegas, Alfonso Anton, Antonio Morilla-Grasa, Marco Bogado, Eleonora M. Ayala, and Javier Moreno-Montanes. Agreement Among Spectral-Domain Optical Coherence Tomography, Standard Automated Perimetry, and Stereophotography in the Detection of Glaucoma Progression. *IOVS* February 2015; Vol. 56, No. 2, 1254.
 - 27) Holló G. Influence of removing the large retinal vessels-related effect on peripapillary vessel density progression analysis in glaucoma. *J Glaucoma*. 2018; 27:137-139.
 - 28) Venugopal JP, Rao HL, Weinreb RN, Pradhan ZS, Dasari S, Riyazuddin M, Puttiah NK, Rao DAS, Devi S, Mansouri K, Webers CA. Repeatability of vessel density measurements of optical coherence tomography angiography in normal and glaucoma eyes. *Br J Ophthalmol*. 2018; 102:352-357.
 - 29) Manalastas PIC, Zangwill LM, Saunders LJ, Mansouri K, Belghith A, Suh MH, Yarmohammadi A, Penteado RC, Akagi T, Shoji T, Weinreb RN. Reproducibility of optical coherence tomography angiography macular and optic nerve head vascular density in glaucoma and healthy eyes. *J Glaucoma*. 2017; 26:851-859.
 - 30) Geyman LS, Garg RA, Suwan Y, Trivedi V, Krawitz BD, Mo S, Pinhas A, Tantraworasin A, Chui TYP, Ritch R, Rosen RB. Peripapillary perfused capillary density in primary open-angle glaucoma across disease stage: an optical coherence tomography angiography study. *Br J Ophthalmol*. 2017; 101:1261-1268.
 - 31) Lommatzsch C, Rothaus K, Koch JM, Heinz C, Grisanti S. OCTA vessel density changes in the macular zone in glaucomatous eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018; 256:1499-1508.
 - 32) Yarmohammadi A, Zangwill LM, Diniz-Filho A, Suh MH, Manalastas PI, Fatehee N, Yousefi S, Beghiht A, Saunders LJ, Medeiros FA, Huang D, Weinreb RN. Optical coherence tomography angiography vessel density in healthy, glaucoma suspect, and glaucoma eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016; 57:451-459.
 - 33) Yarmohammadi A, Zangwill LM, Diniz-Filho A, Saunders LJ, Suh MH, Wu Z, et al. Peripapillary and macular vessel density in patients with Glaucoma and single-Hemifield visual field defect. *Ophthalmology*. 2017;124(5):709-19.
 - 34) Rao HL, Kadambi SV, Weinreb RN, Puttaiah NK, Pradhan ZS, Rao DAS, Kumar RS, Webers CAB, Shetty R. Diagnostic ability of peripapillary vessel density measurements of optical coherence tomography angiography in primary open-angle and angle-closure glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2017; 101:1066-1070.
 - 35) Rao HL, Dasari S, Riyazuddin M, Puttaiah NK, Pradhan ZS, Weinreb RN, Mansouri K, Webers CAB. Diagnostic ability and structure-function relationship of peripapillary optical microangiography measurements in glaucoma. *J Glaucoma*. 2018; 27:219-226.
 - 36) Holló G. Relationship between optical coherence tomography sector peripapillary angioflow-density and Octopus visual field cluster mean defect values. *PLoS One*. 2017;12: e0171541.
 - 37) Rao HL, Pradhan ZS, Weinreb RN, Dasari S, Riyazuddin M, Raveendran S, Puttaiah NK, Venugopal JP, Rao DAS, Devi S, Mansouri K, Webers CAB. Relationship of optic nerve structure and function to peripapillary vessel density measurements of optical coherence tomography angiography in glaucoma. *J Glaucoma*. 2017; 26:548-554.
 - 38) Holló G. Relationship between OCT angiography temporal peripapillary vessel-density and Octopus perimeter paracentral cluster mean defect. *J Glaucoma* 2017; 26:397-402.
 - 39) Penteado RC, Zangwill LM, Daga FB, Saunders LJ, Manalastas PIC, Shoji T, Akagi T, Christopher M, Yarmohammadi A, Moghimi S, Weinreb RN. Optical coherence tomography angiography macular vascular density measurements and the central 10-2 visual field in glaucoma. *J Glaucoma*. 2018; 27:481-489.
 - 40) Kwon J, Choi J, Shin JW, Lee J, Kook MS. Alterations of the foveal avascular zone measured by optical coherence tomography angiography in glaucoma patients with central visual field defects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017; 58:1637-1645.
 - 41) Curcio CA, Allen KA. Topography of ganglion cells in human retina. *J Comp Neurol*. 1990;300(1):5-25.

- 42) Yiwei Wang, Chen Xin, Meng Li, David L. Swain, Kai Cao, Huaizhou Wang and Ningli Wang. Macular vessel density versus ganglion cell complex thickness for detection of early primary open-angle glaucoma. *BMC Ophthalmology* (2020).
- 43) Harsha L. Rao, Zia S. Pradhan, Robert N. Weinreb, Mohammed Riyazuddin, Srilakshmi Dasari, Jayasree P. Venugopal, Narendra K. Puttaiah, Dhanaraj A. S. Rao, Sathi Devi, Kaweh Mansouri, Carroll A. B. Webers. A comparison of the diagnostic ability of vessel density and structural measurements of optical coherence tomography in primary open angle glaucoma. *PLOS ONE* | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173930> March 13, 2017.
- 44) Gianluca Scuderi, Serena Fragiotta, Luca Scuderi, Clemente Maria Iodice, Andrea Perdicchi. Ganglion Cell Complex Analysis in Glaucoma Patients: What Can It Tell Us? *Eye and Brain* 2020;12 33–44.



CAPITOLO 23

BIOMARKERS & SPESSORE RETINICO

INTRODUZIONE

Il termine “biomarker” è stato utilizzato la prima volta nel 1973 per indicare la presenza o assenza, in termini generici, di materiale biologico. Gli appellativi “*marker biochimico*” e “*marker biologico*” sono comparsi da molto tempo in letteratura, nel 1949 e nel 1957 rispettivamente [1>3]. La ricerca di biomarkers nell’imaging tomografico retinico, sempre più dettagliato e significativo, non poteva non accendere la curiosità verso questa prospettiva. La tomografia a coerenza ottica, tecnologia ormai affidabile, veloce, sensibile, di facile utilizzo, con elevate risoluzioni, indicata nella quasi totalità delle patologie oftalmiche, offre terreno fertile per individuare eventuali biomarkers specifici nelle diverse patologie corioretiniche. Indagare e stabilire possibili quanto probabili gerarchie funzionali con gli OCT/OCTA è un obiettivo di ricerca da perseguire, sicuramente ambizioso, certamente utile, che ulteriormente sarà sviluppato con l’evolversi di questa tecnologia.

Le considerazioni che scaturiscono dalla disamina della letteratura e dall’esperienza personale, anche se non sistematica, favoriscono alcuni approfondimenti e validi spunti per interpretare un tomogramma OCT/OCTA dal lato funzionale, individuando le alterazioni più significative con dignità di veri markers. I pochi dati finora disponibili sul rapporto struttura/ funzione nelle patologie neuroretiniche, e l’utilizzo relativamente recente della tomografia nell’indagine retinica, costituiscono gli ostacoli più significativi a tale proposito. Con difficoltà si trovano in letteratura studi immediati ed esaustivi sull’argomento. Ogni apporto personale migliorerà la comprensione di questa difficile relazione. La condivisione di più risultati, utilmente coordinati, sarà essenziale per raggiungere dati statisticamente validi ed universalmente accettati.

Quest’articolo si limita a discutere la validità dello spessore retinico come biomarker funzionale, descrivere le possibili correlazioni tra spessore e acuità visiva, considerare la catena fisiopatologica degli eventi che collega la variazione dello spessore retinico all’acuità visiva. Ogni sforzo verso la ricerca di tracce significative nell’imaging to-

mografico per suscitare stimoli, più autorevoli e completi studi sull’argomento, non sarà certamente speso invano. Dare risposte funzionali alle variazioni strutturali neuroretiniche è la strada giusta per arrivare a diagnosi più circostanziate, nel predisporre razionali e più mirate terapie.

BACKGROUND

Nel 1998, il National Institutes of Health Biomarkers Definitions Working Group ha definito un biomarcatore come “una caratteristica oggettivamente misurata e valutata come indicatore dei normali processi biologici, processi patogeni o risposte farmacologiche a un intervento terapeutico”. I NIH National Institutes of Health, nati nel 1930, con sede a Bethesda nel Maryland, sotto l’egida del governo, utilizzano il 28% circa (26.4 miliardi di dollari) dei fondi annualmente spesi per la ricerca biomedica negli Stati Uniti. Comprendono in tutto 27 Istituti e Centri separati, oltre l’Office of the Director [3]. Una joint venture sulla sicurezza chimica guidata dall’OMS Organizzazione Mondiale della Sanità, in collaborazione con le Nazioni Unite e l’Organizzazione internazionale del lavoro, ha ridefinito un biomarcatore come “*qualsiasi sostanza, struttura o processo che può essere misurato nel corpo o nei suoi prodotti e influenzare o prevedere l’incidenza di esiti o malattie*”.

Una definizione ancora più ampia prende in considerazione gli effetti di eventuali trattamenti e interventi, non escludendo l’esposizione ambientale non intenzionale a sostanze chimiche o sostanze nutritive [4]. Nella relazione sulla validità dei biomarcatori per la valutazione del rischio ambientale lo stesso OMS ha, infatti, ulteriormente esteso la sua definizione: “*quasi tutte le misurazioni che riflettono un’interazione tra un sistema biologico e un potenziale pericolo, che può essere chimico, fisico o biologico. La risposta misurata può essere funzionale e fisiologica, biochimica a livello cellulare o un’interazione molecolare*”. Nel database di PubMed al 2020 si rilevano 928,227 pubblicazioni con il termine “*biomarker*”. Ne sono stati descritti almeno 100.000; tuttavia il numero

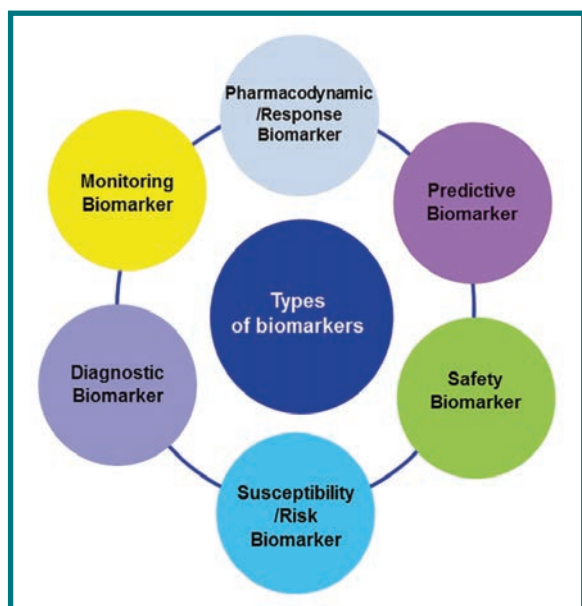


Fig. 1 - Classificazione di biomarkers in base alla loro applicazione principale. (by Maria Salud García-Gutiérrez et al.).

attivo nella pratica clinica è di circa 100 unità, utilizzati in più campi (fig. 1) [4].

Si parte dai biomarcatori semplici ed immediati come la pressione sanguigna, la temperatura corporea o la semplice valutazione del polso arterioso, per arrivare ai test ematologici di laboratorio e su

altri tessuti. In generale, i markers possono essere rappresentati da cellule specifiche, molecole, geni, prodotti genici, enzimi, ormoni. Il loro utilizzo nella pratica clinica, in particolare come indici di laboratorio, è relativamente recente; gli approcci migliori verso questa pratica sono ancora in fase di sviluppo e perfezionamento, come per gli oncologici, i più richiesti e discussi. La ricerca di utili indici biologici non si è fermata in era Covid-19. Tra i tanti dati che stanno emergendo le concentrazioni di urea, creatinina (CREA) e cistatina C (CysC) nei pazienti con COVID-19 grave sono risultati significativamente più alte di quelle nei pazienti con COVID-19 lieve ($P < 0,001$); questi dati non sono stati ancora sottoposti a peer review. Questione chiave è determinare la relazione tra un dato biomarcatore misurabile e gli endpoint clinici rilevanti. Nel campo dell'imaging, non solo in oftalmologia, possono essere presi in considerazione strutture semplici o complesse rilevate dal device, una volta eliminati gli artefatti, riscontrati in relazione a cambiamenti dell'acuità visiva. Un indicatore ideale dovrebbe essere sicuro, facilmente determinabile, con un rapporto costo/beneficio conveniente, variabile e sensibile ai trattamenti intrapresi, coerente per genere e gruppo etnico, efficacemente specifico su possibili stati di malattia o di salute (fig. 2).

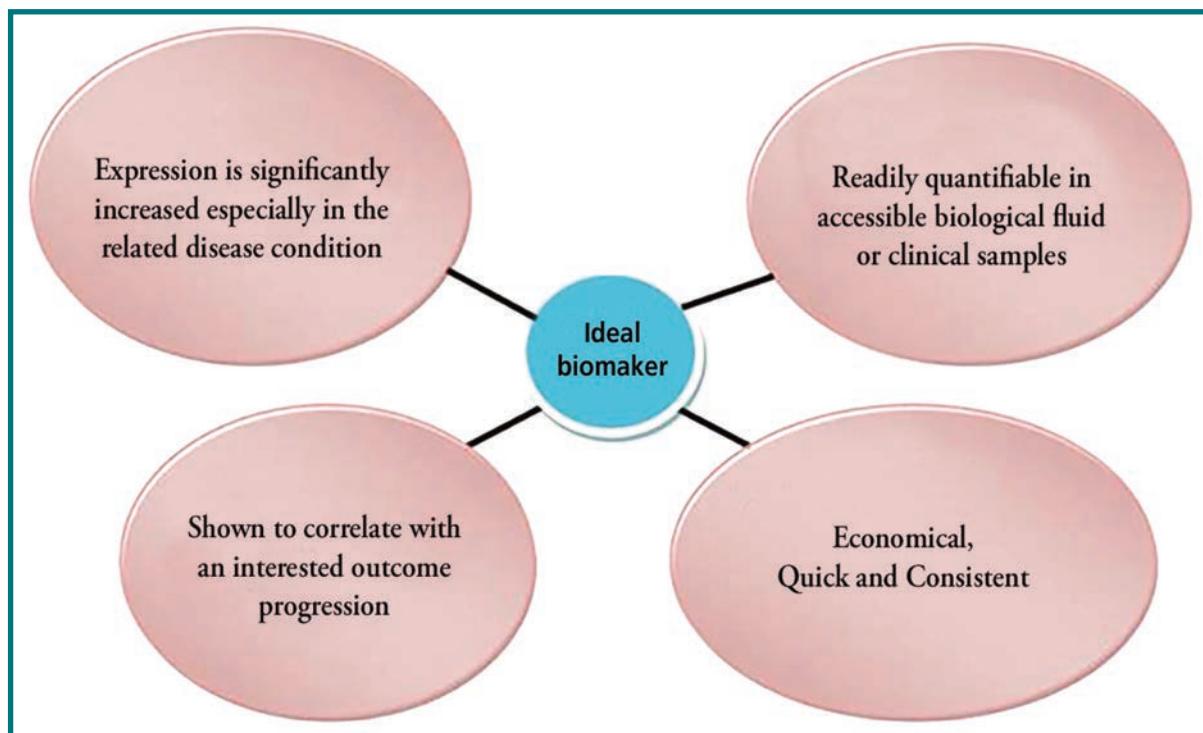


Fig. 2 - Caratteristiche del biomarker ideale. (by Chikezie O. Madu and Yi Lu; Journal of Cancer 2010, 1).

Correlare i danni tomografici strutturali e vascolari, da non molto tempo diffusamente disponibili, e le variazioni funzionali che trovano nell'acuità visiva VA Visual Acuity la massima e più pertinente espressione misurabile, è stato e continua ad essere un proposito arduo, difficilmente attuabile, non oggetto finora di esaurienti e sistematiche trattazioni scientifiche [4]. Molti sono stati gli sforzi e i tentativi verso quest'obiettivo; i risultati tuttavia sono parziali, oggetto di approfondimento, discussione, fonte di critiche per l' inadeguatezza dei biomarkers di volta in volta presi in considerazione. Dall'avvento degli OCT/OCTA si è cercato e tuttora si ricercano correlazioni tra fine struttura tomografica intraretinica e corrispondenti risposte funzionali. Sempre più dettagliato, veloce nell'esecuzione, migliorato nella qualità, il segnale tomografico offerto dai più moderni device SD-OCT/OCTA da 100 KHZ ha assunto ormai valore di dato istologico in vivo. Un fine da perseguire nell'imaging OCT/OCTA è stabilire il valore temporale degli eventi strutturali nelle patologie neuro-corio-retiniche. Determinarne la sequenza fisiopatologica degli eventi, evidenziando stabili correlazioni tra danno strutturale e rispondenza funzionale, con i migliori auspici, è un obiettivo diffusamente sentito, un target perseguito da più gruppi di ricerca. Preservare più possibile la funzionalità visiva è, d'altra parte, il fine più elevato di ogni ricerca in oftalmologia, la pressante richiesta dei nostri pazienti.

SPESSORE RETINICO COME BIOMARKER

Il dato strutturale più studiato e discusso in letteratura è lo spessore retinico al polo posteriore, in particolar modo nell'area maculare. Tutti i device OCT/OCTA hanno nel loro software la possibilità di Report di stampa degli spessori retinici, confrontabili nel follow-up, utili per seguire l'evoluzione delle più importanti e frequenti patologie neuro-corio-retiniche. Il dato strutturale, offerto come spessore e volume retinico, è riferito come valore numerico in falsi colori; anche se molto enfatizzato nei printout di stampa, resta tuttavia un dato semplice, una risposta "bruta". L'effettivo suo valore clinico resta generico, difficilmente correlabile alla variazione della VA. Bressler *et al.*, utilizzando OCT Stratus Zeiss, già nel 2007, evidenziavano la discrepanza nel relazionare lo spessore retinico, il CSF Central Subfield, e la VA.

I limiti consistono nel comparare dati non omogenei, un valore oggettivo, lo spessore retinico, e un riscontro soggettivo, la VA. Tuttavia il CSF resta un parametro utile, un indice di riferimento, un "surrogato" di correlazione indiretto tra VA e struttura retinica, specie nell'edema maculare diabetico, dove guida il giudizio sull'efficacia dei trattamenti anti-VEGF [6]. Molte decisioni se continuare, procrastinare o sospendere le intravitreali nella DME Diabetic Macular Edema sono prese, infatti, dal confronto delle mappe dello spessore retinico centrale, molto spesso indipendentemente dal riscontro della VA.

Le diverse opzioni terapeutiche per le intravitreali prevedono, com'è noto, almeno tre possibilità di trattamento: Fixed, PNR Pro Re Nata e T&E Treat and Extend, con due possibili approcci: il Reattivo, dove si interviene quando ci sono segnali di progressione, e il Proattivo, dove si può intervenire anche quando non ci sono nuovi segnali evidenti di malattia (fig. 3) [7].

Il Fixed, o regime fisso, è il più semplice da applicare. Si tratta di un'iniezione a cadenza regolare, generalmente mensile, estremamente utile nelle fasi iniziali; nel tempo risulta un regime particolarmente gravoso per il paziente. È un approccio proattivo, a cadenza regolare, con certezza dell'iniezione. PNR Pro Re Nata deriva la sua denominazione dal latino. Significa nelle circostanze, quando sorge l'occasione, se necessario, quando si presenta la situazione, per necessità, al bisogno, letteralmente "per la cosa nata".

Si adotta dopo un periodo di terapia a intervalli regolari. Con questo regime il farmaco viene somministrato solo quando ci sono segnali di peggioramento; le visite di controllo restano sempre mensili. Il T&E è un sistema di somministrazione ibrido; testualmente "*cura ed estendi*". Nato dalla necessità di diminuire il numero delle intravitreali senza diminuirne l'efficacia, risponde in qualche modo alle esigenze del paziente e dello specialista. Tale regime è possibile grazie allo sviluppo di farmaci sempre più affidabili con efficacia prolungata nel tempo; l'intervallo tra un'iniezione e l'altra può procrastinarsi di 12/16 settimane.

È definito regime reattivo: si interviene con una nuova iniezione al primo peggioramento; i controlli restano mensili, senza certezza dell'infiltrazione [7]. Tutti questi regimi terapeutici si basano sull'esame OCT/OCTA, necessario supporto per ogni decisione, assolutamente dirimente, ob-

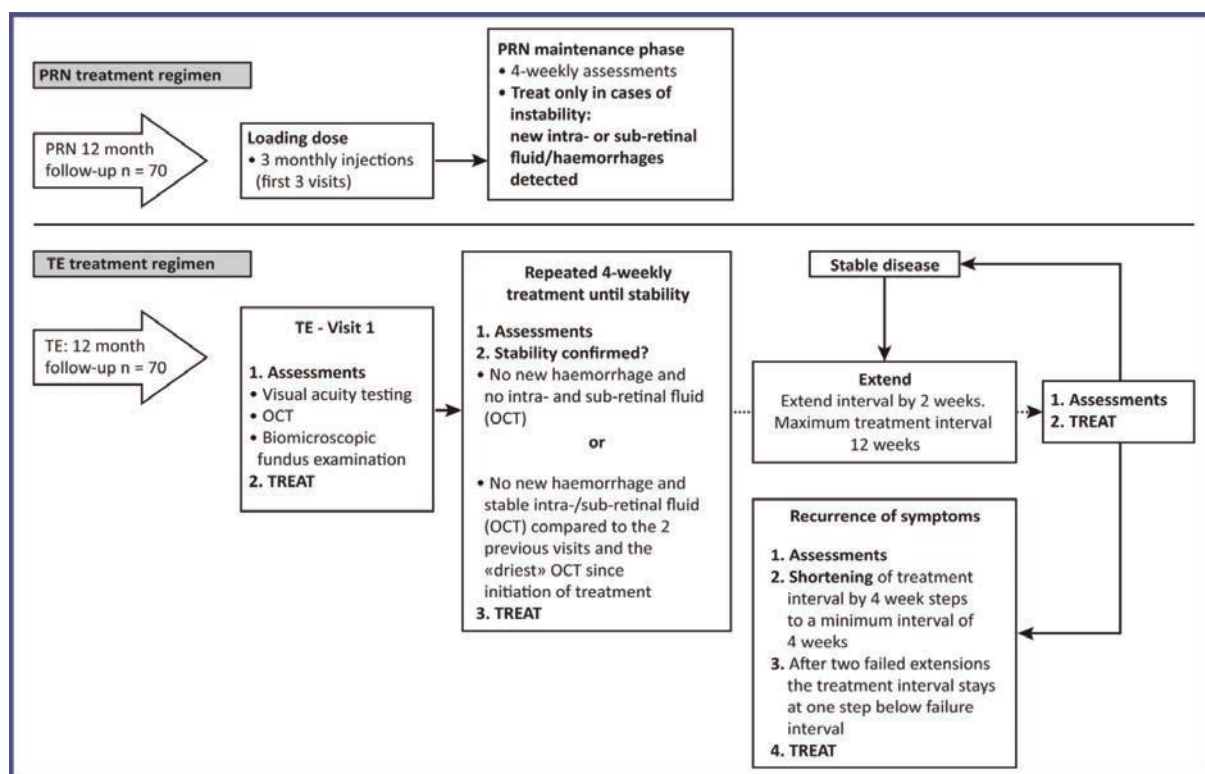


Fig. 3 - Schemi posologici del PNR e T&X. Il trattamento PNR Pro Re Nata inizia con tre iniezioni, una al mese, con ritrattamenti al riscontro di fluido intra e/o sotto retinico o emorragie con SD-OCT. Il regime TE Treat and Extend prevede iniziali intravitreali a intervalli di 4 settimane, con controlli del BVCA, SD-OCT e esame retinico. In seguito le intravitreali sono effettuate ad intervalli variabili da 2 a 12 settimane con la presenza dei segni di attività. (by Katja Hatz and Christian Prunte; Acta Ophthalmologica 2017).

bligatorio prima di ogni intravitreale. Molti studi cercano di stabilire legami non casuali tra CTS e VA anche nei confronti di questi regimi terapeutici. Queste ricerche, come già detto, restano tuttavia sporadiche, senza offrire finora dati statisticamente validi e ripetibili [5,6].

Il Foveal Central Subfield FCS è definito dal cerchio C1, area foveale nella griglia ETDRS Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, di un 1 mm di diametro, dove il centro, FCP Foveal Center Point, è individuato dal punto d'intersezione di 6 scans radiali passanti per la foveola (fig. 4) [6].

I parametri dell'area maculare determinati dallo studio ETDRS sono di riferimento nella maggior parte degli studi presenti in letteratura. Tutti i markers tomo-angiografici emergenti in quest'area sono studiati per stabilire la capacità visiva retinica discriminativa, il rischio di progressione, l'efficacia delle terapie utilizzate, il follow-up nelle maculopatie [8]. Austin Bradford Hill è stato tra i primi a proporre linee guide di appropriatezza al fine di giudicare e stabilire ogni biomarker veramente utile [9]. Il dato che l'ispessimento macu-

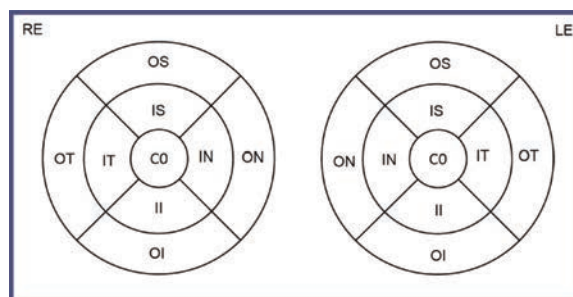


Fig. 4 - ETDRS Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. Campi maculari circolari. Abbreviazioni: CO, central fovea; IS, inner superior; IN, inner nasal; II, inner inferior; IT, inner temporal; OS, outer superior; ON, outer nasal; OI, outer inferior; and OT, outer temporal; RE, right eye; LE, left eye. (by <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198397.g003>).

lare centrale possa essere associato a una diminuzione della VA è stato rilevato e descritto in numerosi studi e ricerche. È da più parti riferito che la riduzione dello spessore retinico, in corso di edema retinico centrale, può associarsi con una migliore VA in numerose condizioni patologiche [9,10]. È stato già riferito che nelle patologie maculari la correlazione tra spessore retinico centrale e migliore acuità visiva corretta BCVA Best Cor-

rected Visual Acuity ha trovato modeste e poco convincenti validazioni statistiche nelle terapie mediche e per le infiltrazioni in camera vitrea. È esperienza personale, di comune riscontro, che macule ispessite possono conservare acuità visive sorprendentemente valide, indipendentemente dalle patologie di base [10].

Parimenti, spessori maculari nei limiti fisiologici, dopo terapie anti-VEGF, cortisoniche, o chirurgiche non sempre sono correlati con aumenti della VA. Resta pertanto molto incerta la relazione causa/effetto, il riscontro oggettivo/soggettivo tra spessore e VA [10]. Questa incongruenza è particolarmente riscontrabile ed evidente nell'edema maculare diabetico.

La relazione tra struttura retinica e VA è molto più complessa di come i dati finora a disposizione fanno supporre [11,12]. È opinione non solo personale che individuare possibili markers strutturali rilevabili con OCT/OCTA, predittivi per la VA, specie nel follow-up delle più importanti e diffuse maculopatie, sarebbe utile ed efficace in fase diagnostica e nella prognosi a lungo termine. Anche il timing chirurgico intraoperatorio troverebbe importanti vantaggi, indispensabili assist nel favorire decisioni terapeutiche struttura-dipendente. D'altra parte le relazioni tra lo spessore retinico e VA travalicano lo stretto campo oftalmologico. *Luis Jáñez-Escalada et al.*, in un recente articolo, hanno descritto, in 19 pazienti con malattia di Alzheimer lieve e un gruppo di controllo di 24 volontari, le differenze per lo spessore retinico centrale [13].

In questo studio gli strati retinici sono stati segmentati automaticamente, il loro spessore determinato, misurato punto per punto, corretto per l'inclinazione del piano retinico B-scan, e normalizzato nello spazio 3 D. È emerso che lo strato dei segmenti esterni dei fotorecettori mostra un diradamento statisticamente significativo nei pazienti con AD (Student's $t=-2.23$, $df=41$, $p=0.02$) rispetto al gruppo di controllo [13].

I pazienti con AD hanno mostrato inoltre un assottigliamento significativo anche delle fibre nervose, delle cellule gangliari, dello strato plessiforme interno e nucleare interno. Il RPE Retinal Pigment Epithelium era più spesso nei pazienti con AD; il dato non era tuttavia significativo [13]. *Mohammad Hossein et al.*, in 123 occhi con DME, hanno confrontato il CMT Central Macular Thickness e la BCVA dopo due dosi (2.5 mg e 1.25 mg)

di IVZ Intra-Vitreal Ziv-aflibercept versus IVB bevacizumab, ad un anno di distanza [13]. Gli autori hanno classificato i pazienti in base alla percentuale di decremento del CMT: $\leq 9\%$; $10\% \leq 29\%$; $\geq 30\%$ rispetto al dato iniziale. La BCVA e le variazioni del CMT erano significativamente correlate in tutti gli occhi esaminati ($P<.05$). Ziv-aflibercept, alla dose di 2.5 mg, ha fatto riscontrare le migliori performance nella riduzione del CMT [13]. Sun, J. K. et al, Scott, I. U. et al., Nussenblatt, R. B. et al. affermano, in ricerche indipendenti, che gli occhi patologici con aumento dello spessore maculare sono generalmente associati a più scarsa acuità visiva [15-17].

Ad esempio, uno spessore maculare più alto, misurato con OCT in retine con occlusione venosa o in corso di uveite, è associato a minore acuità visiva rispetto ai valori basali, in accordo a quanto riferito negli studi SCORE, Standard Care vs. Corticosteroid for Retinal Vein Occlusion e MUST, Multicentre Uveitis Steroid Treatment [14>16]. Per comprendere meglio i dati patologici è interessante conoscere la correlazione tra spessore maculare e VA in soggetti sani.

L'idea che una macula più spessa rifletta un numero di cellule più numerose, specialmente gangliari, non è affermazione senza base scientifica, lontana dalla realtà [18]. *Stanley Poh et al.* evidenziano che, nella retina interna di soggetti sani, lo spessore medio GCIPL Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer era significativamente associato a una BCVA e funzionalità visiva complessiva migliore [19]. Questa stessa correlazione non era riscontrabile per la retina esterna. La slab GCIPL è stata dagli autori determinata e delimitata tra lo strato delle fibre nervose e lo strato plessiforme interno; lo spessore complessivo della retina tra la membrana limitante interna e RPE; la retina esterna tra lo strato plessiforme esterno e il tappeto delle cellule dell'epitelio pigmentato retinico (fig. 5) [19].

Nello studio è stato utilizzando il Cirrus HighDefinition OCT (HD-OCT, Carl Zeiss Meditec, Dublin, California, USA software V 6.5.). Il dato anatomico che le cellule ganglionari localizzate maggiormente nella retina interna siano strettamente correlate alla VA è un dato in accordo alla vasta letteratura che correla spessore GCIPL e outcomes visivi in occhi sani. Gli autori, in questo loro lavoro dei primi mesi del 2020, dopo disamina di 7744 occhi in 4450 soggetti asiatici sani di tre

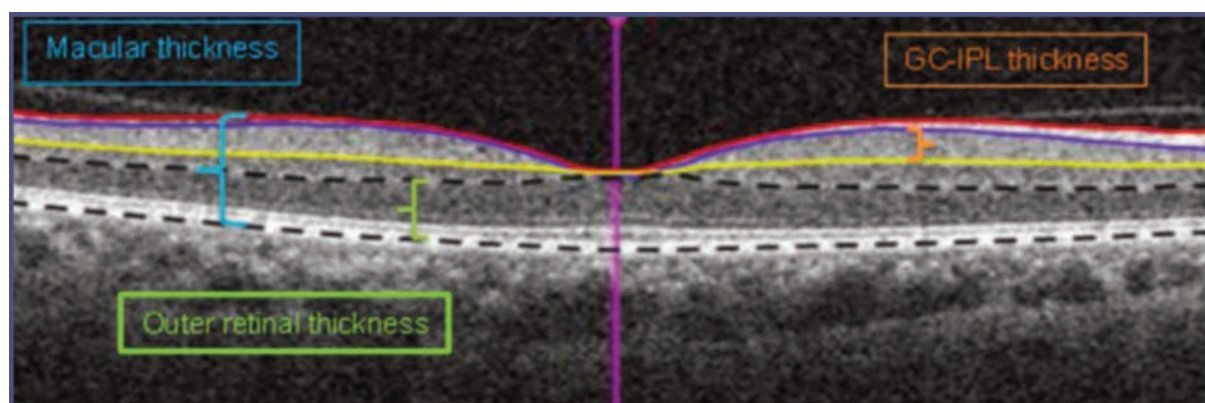


Fig. 5 - OCT B-Scan orizzontale in macula passante per la fovea. La parentesi blu indica lo spessore retinico complessivo, la parentesi arancione lo spessore del plesso ganglionare-plessiforme interno, la parentesi verde lo spessore della retina esterna. (by Stanley Poh et al. Sci Rep. 2020; 10: 6142. Published online 2020 Apr 9. doi: 10.1038/s41598-020-63063-y).

diverse etnie (Cinese, Malese, e Indiana; età media 58.8 ± 8.6 aa) confermano che spessori maculari e dello strato GCIPL più elevati sono associati ad una migliore VA (all $p \leq 0.001$) [19]. Nel loro studio queste caratteristiche strutturali sono state determinanti anche per la funzione visiva complessivamente considerata. Performance simili erano ugualmente presenti sia nel gruppo dei pazienti più giovani (<60 anni) che dei più anziani. Altro parametro studiato dagli autori è stata la lunghezza assiale. I migliori risultati sono stati riscontrati in presenza di diametri bulbari ≤ 25 mm; erano assenti con lunghezze assiali maggiori. Gli incrementi visivi sono stati stabiliti per intervalli di $20 \mu\text{m}$ di spessore maculare e GCIPL rispetto ai valori medi di base [19].

L'area maculare è stata suddivisa in nove sezioni, attenendosi all'ETDRS, con tre ring circolari a diametro crescente, (1 mm central subfield, 3 mm inner ring, 6 mm outer ring). Lo spessore re-

tinico ritrovato dell'intera macula è stato uguale a $276.0 \pm 13.4 \mu\text{m}$; nell'area del central subfield $246.1 \pm 21.5 \mu\text{m}$; nello strato GCIPL $80.4 \pm 7.1 \mu\text{m}$; lo spessore della retina esterna $123.3 \pm 8.5 \mu\text{m}$ [19]. A conclusione del loro interessante lavoro gli autori hanno confermato l'importanza e l'essenzialità dello spessore maculare per la funzionalità dell'intera retina, in particolare per la sensibilità al contrasto, la stereovisione, l'integrità del campo visivo, in accordo con altri importanti studi [20,21]. Yi-Ting Hsieh et al. hanno analizzato in cinquanta occhi di altrettanti pazienti con DME e 22 occhi sani, cinque possibili biomarkers OCTA: FAZ-A Foveal Avascular Zone Area, FAZ-CI Contour Irregularity, AVC Average Vessel Caliber, VT Vessel Tortuosity, e VD Vessel Density (fig. 6) [22].

La BCVA e il CRT Central Retinal Thickness sono stati considerati, misurati e correlati tra i due gruppi. Gli occhi con DME presentavano i biomarkers peggiori (AVC, VT, FAZ-A e FAZ-CI), con più

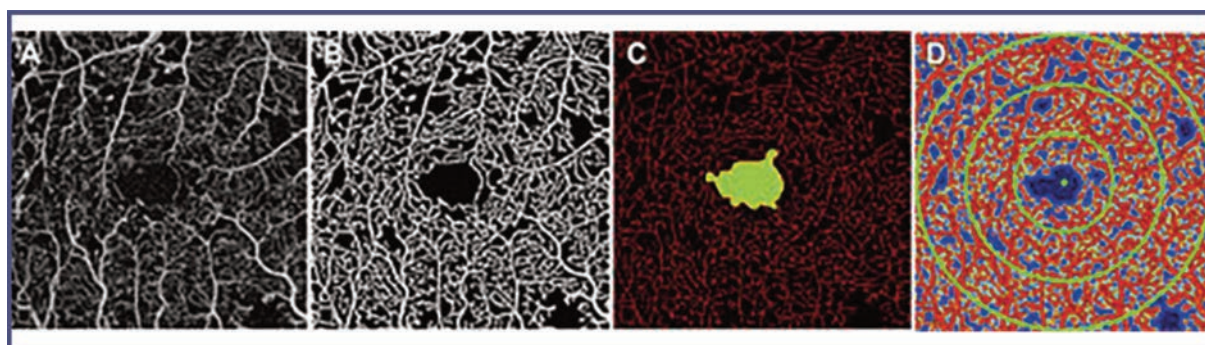


Fig. 6 - Imaging dell'analisi vascolare quantitativa. (A) angiografia originale OCT, (B) mappa dell'imaging average vessel density e della tortuosità vascolare, (C) skeleton map fovea avascular zone, (D) dimensione frattale vessel density. Il cerchio verde mostra tre aree rispettivamente di 1 mm, 2 mm e 3 mm di diametro. (by Yi-Ting Hsieh et al. Ophthalmol Retina. 2019 October ; 3(10): 826–834. doi:10.1016/j.oret.2019.04.027).

bassa VD rispetto al gruppo di controllo ($P < 0.001$ for all). Dopo aver eseguito 3 iniezioni consecutive con ranibizumab, questi biomarkers miglioravano, senza però ritornare ai livelli iniziali [22]. Oltre tutti i biomarkers descritti e considerati, la parafoveal vessel density nello strato superficiale retinico è risultato l'indicatore indipendente più attendibile per il miglioramento visivo dopo trattamento, marker utile per la prognosi durante terapie con anti-VEGF in retine con DME [22]. Anche se gli anticorpi contro i VEGF e la terapia stereotassica hanno dimostrato indubbia efficacia visiva in corso di DME, come riferito da Lattanzio et al. [23], alcuni pazienti risultano tuttavia non rispondenti alla terapia. L'OCT angiography ha mostrato una migliore risoluzione e definizione della struttura vascolare rispetto alla FA fluorescein angiography, potendo evidenziare particolari strutturali e vascolari settoriali non visibili con mezzo di contrasto [24]. *Serizawa S et al.* ipotizzano che la persistenza del danno fotorecettoriale, la distruzione della zona ellissoide e la persistenza dell'ischemia maculare in corso di DME siano markers correlati all'assenza di risposta terapeutica, anche in presenza di remissione dello spessore retinico; hanno dimostrato correlazioni significative tra la disorganizzazione della retina interna, le aumentate aree FAZ Foveal Avascular Zone e più basse VA in pazienti con risoluzione del DME [26]. *Durbin MK et al.* [27] confermano tutti i dati descritti, ribadendo la correlazione tra VD e VA nella DR Diabetic Retinopathy per lo strato retinico vascolare superficiale, non per lo strato retinico vascolare profondo, in linea con i risultati di *Yi-Ting Hsieh et al.*, precedentemente discussi [22].

Gli artefatti di proiezione e l'attenuazione del segnale nella retina profonda, particolarmente inficianti nell'imaging vascolare in corso di DME, sono determinanti per giustificare questi riscontri nella retina iuxta-recettoriale. tutti sono risultati efficaci parametri che gli OCTA permettono di delineare ed evidenziare [25]. *Moein HR et al.*, a supporto di questi riscontri, hanno dimostrato correlazioni significative tra la disorganizzazione della retina interna, le aumentate aree FAZ Foveal Avascular Zone e più basse VA in pazienti con risoluzione del DME [26]. *Durbin MK et al.* [27] confermano tutti i dati descritti, ribadendo la correlazione tra VD e VA nella DR Diabetic Retinopathy per lo strato retinico vascolare superficiale, non per lo strato retinico vascolare profondo, in linea

con i risultati di *Yi-Ting Hsieh et al.*, precedentemente discussi [22]. Gli artefatti di proiezione e l'attenuazione del segnale nella retina profonda, particolarmente inficianti nell'imaging vascolare in corso di DME, sono determinanti per giustificare questi riscontri nella retina iuxta-recettoriale. Per completezza, nello studio di *Yi-Ting Hsieh et al.*, la VD ha mostrato una correlazione al miglioramento visivo dopo trattamento nel DCP Deep Capillary Plexus di entità inferiore rispetto al SCP Superficial Capillary Plexus. Con una più precisa rimozione degli artefatti da proiezione in futuro anche il plesso capillare intermedio e il DCP potrebbero offrire risultati di correlazione più affidabili in tal senso [22]. Il SCP è stato determinato a partire da $3\mu\text{m}$ al di sotto della MLI Internal Limiting Membrane fino a $15\mu\text{m}$ sotto lo strato plessiforme interno, mentre il DCP è stato individuato tra $15\mu\text{m}$ a $70\mu\text{m}$ al di sotto dello strato plessiforme interno ($55\mu\text{m}$) [22].

ULTIMATE GOAL

Noriko Terada et al., in un lavoro del 2020, hanno descritto ed individuato un nuovo biomarker tomografico correlato alla possibilità di remissione della DME con terapia anti-VEGF [28]. Nel loro studio retrospettivo su 110 occhi di 110 pazienti naïve al trattamento con DME che coinvolgeva il centro, il riscontro di pareti ispessite nel contesto delle cisti intraretiniche era un segno predittivo di resistenza alla terapia con anti-VEGF (figg. 7,8).

I pazienti con cavità cistiche a pareti ispessite in area foveale (hyperreflective walls) avevano visus maggiormente deteriorato con aumentata distruzione dei fotorecettori rispetto a contesti retinici senza questi particolari segni tomografici (rispettivamente $P=0.008$ e $P<0.001$). La presenza di pareti ispessite è risultata, contro ogni altra evidenza, un marker significativo nel predire la persistenza del DME al trattamento con ranibizumab somministrato con regime di PRN [28]. Le pareti ispessite delle cavità cistiche erano individuabili sulla superficie delle cisti in modo incompleto. Lo spessore delle pareti era mediamente $51\mu\text{m}$ ($48-56\mu\text{m}$), mentre la riflettività relativa delle pareti era $51,8$ ($44,0-58,5$), adottando criteri validati di classificazione. Nel loro studio le pareti ispessite si potevano evidenziare in sezioni B-scan sulla volta superiore, inferiore o tra le pareti divisorie

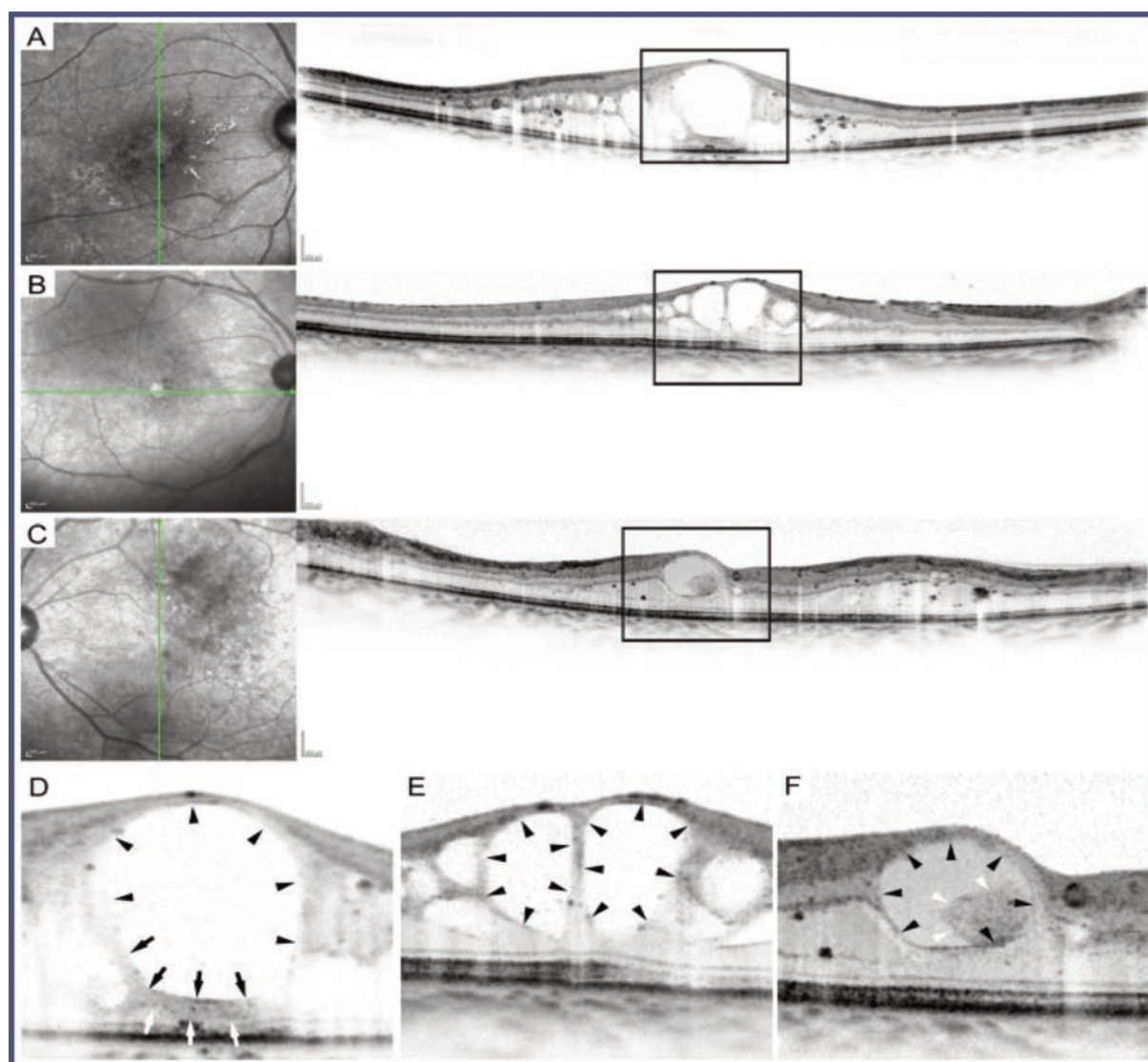


Fig. 7 - Pareti iperriflettenti (hyperreflective walls) nel contesto di cavità cistiche per DME. (A,D) Pareti iperriflettenti indicate da frecce bianche e nere presenti nel contorno inferiore delle cavità cistiche in uomo di 57 anni con NPDR moderata. (B,E) Spazi cistoidi senza pareti ispessite. (C,F) Depositi iperriflettenti nelle cavità cistiche indicate da punte di frecce bianche in uomo di 56 anni con NPDR severa. (D,F) Rettangoli d'ingrandimento delle immagini in (A,C). Scala = 200. (by NorikoTerada et al. Scientific Reports | (2020) 10:7299 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64332-6>).

delle cisti, frequentemente accompagnate da foci iperriflettenti nelle loro cavità, corrispondenti a macrofagi ricchi di lipidi.

L'accumulo di tali cellule infiammatorie si è supposto possa contribuire alla formazione dell'ispessimento delle pareti stesse [28], promuovere la formazione di cicatrici fibrotiche e/o gliotiche, anche se non si è potuto stabilire con precisione la natura istologica dell'ispessimento delle pareti stesse. Altre ricerche individuano la presenza di fibre di Henle o cellule di Müller nell'ispessimento laterale delle pareti, fotorecettori nell'ispessimento inferiore con o senza accumulo di fibrina [29>32].

Non sono state ritrovate associazioni tra pareti iperriflettenti negli strati interni ed esterni della retina e fluido sottoretinico o alterazioni vitreo-retiniche; al contrario erano presenti distruzione delle bande EZ, ellissoide, oltre il riscontro di DRIL, Disorganization of the Retinal Inner Layers (disorganizzazione degli strati retinici interni, rispettivamente $P < 0.001$ e $P = 0.032$) [28]. Questo studio potrebbe dare una spiegazione alla resistenza verso terapia intravitreale in alcuni pazienti con DME [23]. Secondo analisi multivariate, le pareti iperriflettenti al basale avevano infatti un rischio significativamente più alto di non remissione a

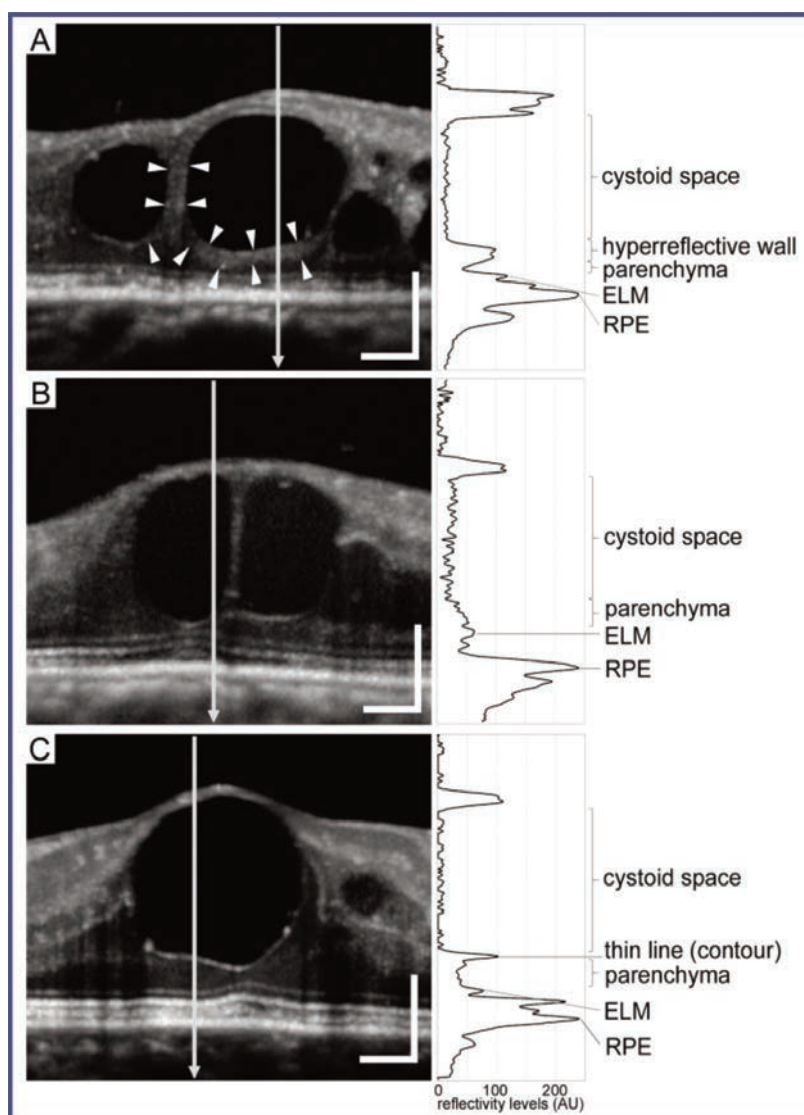


Fig. 8 - Patterns riflettenti nelle cavità cistiche in DME. Le cavità cistiche sono composte da bande ispessite e iperriflettenti (A), parenchima retinico (B), pareti cistiche sottili ed iperriflettenti (C). La colonna di destra indica il livello di riflettenza lungo la freccia che taglia verticalmente l'imaging di sinistra; è stato utilizzando il "Plot Profile" function in Image version 1.52 software (NIH, Bethesda, MD). Scale bar = 200 μ m. (by NorikoTerada et al. Scientific Reports | (2020) 10:7299 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64332-6>).

18 mesi di follow-up [28]. Passare da biomarker strutturali generici come lo spessore maculare, a biomarker specifici come le "hyper-reflective walls", sarà un passo avanti decisivo nell'imaging tomografico per migliorare la diagnosi e il timing terapeutico, farmacologico e chirurgico, per molte patologie neuro-corio-retiniche. *Jing Zou et al.* hanno condotto uno studio, recentemente pubblicato, per individuare la correlazione tra membrane epiretinali ERM Epiretinal Membrane e VA (fig. 9).

I risultati dei 105 pazienti esaminati indicano che quasi tutti gli strati retinici sono interessati

dagli effetti trattivi delle ERM nell'area maculare. Tutti i pazienti sono stati scannerizzati con SD-OCT a 512×128 scan nei 6×6 mm in macula (Carl Zeiss Meditec Inc, Dublin, CA, USA). I risultati del loro studio con l'analisi lineare di regressione multipla mostra che lo spessore dello strato INL in area foveale, parafoveale e perifoveale era associato alla VA in tutti i 105 pazienti esaminati ($R^2 = 0.344$, $P < 0.001$; $R^2 = 0.427$, $P < 0.001$; e $R^2 = 0.340$, $P < 0.001$, rispettivamente). I 31 pazienti operati mostravano a sei mesi un decremento significativo dello spessore ($P \leq 0.012$) nelle aree foveali per gli strati INL, inner plexiform layer (IPL), e outer nuclear layer (ONL); per la parafoveal retinal nerve fiber layer (RNFL), IPL, INL, e ONL; per la perifoveal RNFL, IPL, INL, ganglion cell layer (GCL), outer plexiform layer (OPL), e photoreceptor layer (PRL). Gli autori hanno trovato una debole relazione tra VA post-operatorio e lo spessore RNFL pre-operatorio in area foveale e perifoveale ($r = 0.404$ e $r = 0.359$, rispettivamente); una correlazione moderata è stata invece ritrovata tra VA post-operatorio e lo spessore pre-operatorio INL in area fo-

veale e parafoveale ($r = 0.529$ e $r = 0.583$, rispettivamente) nei 31 pazienti sottoposti a chirurgia ($P \leq 0.047$). Infine lo spessore dello strato INL in area foveale, parafoveale e perifoveale mostra una correlazione moderata/forte con il visus ($r = 0.507$, 0.644 , and 0.548 , rispettivamente), con un aumento della VA ≥ 2 linee nei pazienti operati ($P \leq 0.038$).

Gli autori concludono evidenziando la positiva correlazione tra lo spessore di INL in area foveale, parafoveale, perifoveale e VA nel periodo pre-operatorio, e VA dopo vitrectomia, indicandolo come soddisfacente marker predittivo e prognostico per

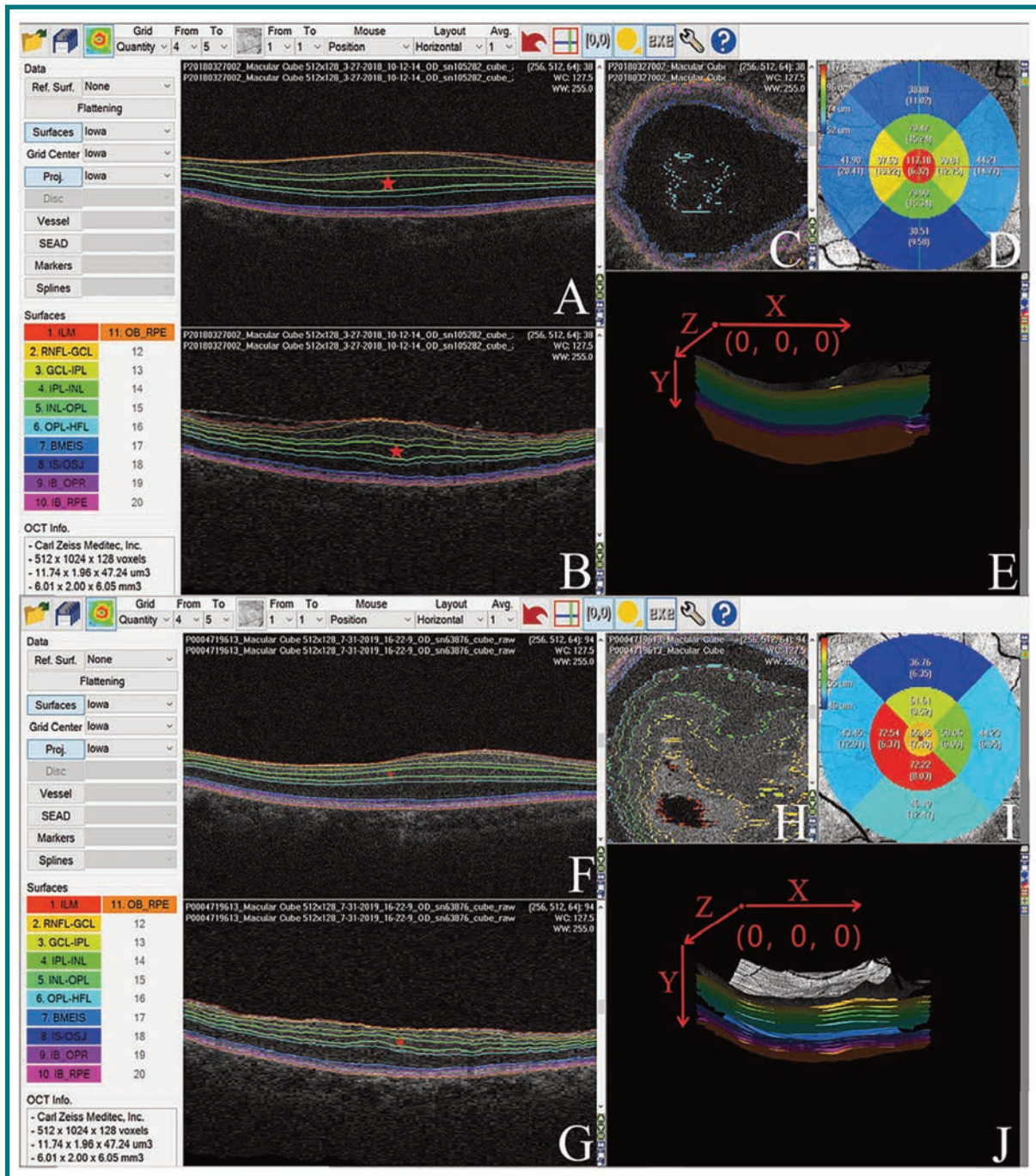


Fig. 9 - Gli autori utilizzano l'algoritmo lowa Reference per segmentare e misurare lo spessore degli strati retinici con OCT in un paziente con ERM prima e dopo intervento. La INL è significativamente più sottile dopo chirurgia. (A) Imaging pre-operatorio B scan OCT XY. L'algoritmo utilizzato segmenta automaticamente i limiti nell'imaging OCT e colora le linee di separazione tra strati adiacenti. Gli strati retinici dalla superficie retinica interna a quella esterna sono così identificati: retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL), outer plexiform layer (OPL), outer nuclear layer (ONL), photoreceptor inner/outer segments (IS/OS), outer segment (OS), e retinal pigment epithelium (RPE). La stella rossa a cinque punte nell'imaging OCT rappresenta lo strato INL. (B) Imaging OCT B-scan ZY pre-operatorio. Le linee colorate rappresentano l'interfaccia tra due strati retinici adiacenti; gli strati sono così identificati: RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IS/OS, OS e RPE. La stella rossa a cinque punte nell'imaging OCT rappresenta lo strato INL. (C) Imaging OCT XZ pre-operatorio. Le linee colorate rappresentano le interfacce tra due strati retinici adiacenti. (D) Media dello spessore INL in ciascun sottogruppo. (E) Imaging 3D OCT e suo orientamento nei piani X, Y e Z. (F) Imaging OCT B scan post-operatorio. Le linee colorate rappresentano l'interfaccia tra due strati retinici; gli strati sono così identificati: RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IS/OS, OS e RPE. La stella rossa a cinque punte rappresenta nell'imaging OCT lo strato INL. (G) Imaging OCT ZY post-operatorio. Gli strati retinici sono così individuati: RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IS/OS, OS e RPE. La stella rossa a cinque punte rappresenta nell'imaging OCT lo strato INL. (H) Imaging OCT ZY post-operatorio. Le linee colorate rappresentano l'interfaccia tra due strati retinici. (I) Imaging OCT dello spessore retinico medio INL in ciascun sottogruppo nel post-operatorio. (J) Imaging OCT 3D e suo orientamento nei piani X, Y e Z. (modificato da Jing Zou et al. (2020), PeerJ, DOI 10.7717/peerj.9481).

ERM [33]. Anche per questa patologia l'intento è stato trovare markers retinici predittivi per la VA. La ricerca della dipendenza struttura retinica /funzione visiva sarà in futuro sempre più presente con l'utilizzo degli OCT/ OCTA. Arrivare ad una diagnosi tomografica, per quanto possibile "cellulare", è la strada giusta per migliorare l'inquadramento clinico e indirizzare l'azione chirurgica. Ulteriore passo avanti sarà predisporre, in base ai dati tomografici, il timing operatorio, interpretare i dati strutturali in un'ottica funzionale, dinamica, inquadrare ogni segno angio-tomografico oltre le mere varianze di riflettività strutturale e di densità vascolare.

REFERENCES

- 1) Maria Salud García-Gutiérrez, Francisco Navarrete, Francisco Sala. Biomarkers in Psychiatry: Concept, Definition, Types and Relevance to the Clinical Reality. Psychiatry, 15 May 2020.
- 2) Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther (2001) 69(3):89–95.
- 3) https://it.wikipedia.org/wiki/National_Institutes_of_Health.
- 4) Robert L Holland. What makes a good biomarker? Advances in Precision Medicine, vol 1, issue 1, 2016.
- 5) Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. The Relationship between OCT-measured Central Retinal Thickness and Visual Acuity in Diabetic Macular Edema. Ophthalmology. 2007 March; 114(3):525– 536. doi:10.1016/j.ophtha.2006.06.052.
- 6) Neil M. Bressler, Allison R. Edwards, Andrew N. Antoszyk, Roy W. Beck, David J. Browning, Antonio P. Ciardella, Ronald P. Danis, Michael J. Elman, Scott M. Friedman, Adam R. Glassman, Jeffrey G. Gross, Helen K. Li, Timothy J. Murtha, Thomas W. Stone, and Jennifer K. Sun. Retinal Thickness on Stratus Optical Coherence Tomography in People with Diabetes and Minimal or No Diabetic Retinopathy. Am J Ophthalmol. 2008 May; 145(5):894–901.
- 7) Michèle Augsburger & Gian-Marco Sarra & Pascal Imesch. Treat and extend versus pro re nata regimens of ranibizumab and aflibercept in neovascular age-related macular degeneration: a comparative study. Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology (2019) 257:1889–1895.
- 8) Aronson JK. Biomarkers and surrogate endpoints. Br J Clin Pharmacol. 2005;59:491–4.
- 9) Hill AB. The environment and disease: association or causation? Proc R Soc Med. 1965; 58:295.
- 10) Ronald P Danis, Srinivas Sadda, Jenny Jiao, Xiao-Yan Li, Scott M Whitcup. Relationship between retinal thickness and visual acuity in eyes with retinal vein occlusion treated with dexamethasone implant. Retina. 2016 Jun; 36(6):1170–6.
- 11) Buyse M, Sargent DJ, Grothey A, Matheson A, De Gramont A. Biomarkers and surrogate end points the challenge of statistical validation. Nat Rev Clin Oncol. 2010; 7:309–17.
- 12) Prateep Phadikar, Sandeep Saxena, Surabhi Ruia, Timothy Y. Y. Lai, Carsten H. Meyer and Dean Elliott. The potential of spectral domain optical coherence tomography imaging based retinal biomarkers. Phadikar et al. Int J Retin Vit (2017) 3:1.
- 13) Luis Jáñez-Escalada, Lucía Jáñez-García, Elena Salobar-García, Alejandro Santos-Mayo, Rosa de Hoz, Raquel Yubero, Pedro Gil & José M. Ramírez. Spatial analysis of thickness changes in ten retinal layers of Alzheimer's disease patients based on optical coherence tomography. Scientific Reports (2019) 9:13000.
- 14) Mohammad Hossein, Jabbarpoor Bonyadi, Ahmadreza Baghi, Alireza Ramezani, Mehdi Yaseri, Masoud Soheilian. Correlation of Macular Thickness and Visual Acuity in DME Treated by Two Doses of Intravitreal Ziv-Aflibercept Versus Bevacizumab: Analysis of a Randomized, Three-Armed Clinical Trial. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina. 2019 Nov 1;50(11):684-690.
- 15) Sun, J. K. et al. Disorganization of the Retinal Inner Layers as a Predictor of Visual Acuity in Eyes With Center-Involving Diabetic Macular Edema. JAMA Ophthalmol. 132, 1309 (2014).
- 16) Scott, I. U. et al. SCORE Study Report 1: Baseline Associations between Central Retinal Thickness and Visual Acuity in Patients with Retinal Vein Occlusion. Ophthalmology 116, 504–512 (2009).
- 17) Nussenblatt, R. B., Kaufman, S. C., Palestine, A. G., Davis, M. D. & Ferris, F. L. Macular Thick-

- ening and Visual Acuity. *Ophthalmology* 94, 1134–1139 (1987).
- 18) Provis, J. M., Dubis, A. M., Maddess, T. & Carroll, J. Adaptation of the central retina for high acuity vision: Cones, the fovea and the avascular zone. *Prog. Retin. Eye Res.* 35, 63–81 (2013).
 - 19) Stanley Poh, Yih-Chung Tham, Miao Li Chee, Wei Dai, Shivani Majithia, Zhi Da Soh, Eva K. Fenwick, Yijin Tao, Sahil Thakur, Tyler Hyungtaek Rim, Charumathi Sabanayagam & Ching-Yu Cheng. Association between Macular Thickness Profiles and Visual Function in Healthy Eyes: The Singapore Epidemiology of Eye Diseases (SEED) Study. *Scientific Reports* (2020) 10:6142.
 - 20) Subhi, Y., Henningsen, G. Ø., Larsen, C. T., Sørensen, M. S. & Sørensen, T. L. Foveal Morphology Affects Self-Perceived Visual Function and Treatment Response in Neovascular Age-Related Macular Degeneration: A Cohort Study. *PLoS ONE* 9, e91227 (2014).
 - 21) Provis, J. M., Dubis, A. M., Maddess, T. & Carroll, J. Adaptation of the central retina for high acuity vision: Cones, the fovea and the avascular zone. *Prog. Retin. Eye Res.* 35, 63–81 (2013).
 - 22) Yi-Ting Hsieh, MD, Minhaj Nur Alam, David Le, Chia-Chieh Hsiao, Chang-Hao Yang, Daniel L. Chao, Xincheng Yao. OCT Angiography Biomarkers for Predicting Visual Outcomes after Ranibizumab Treatment for Diabetic Macular Edema. *Ophthalmol Retina*. 2019 October; 3(10): 826–834.
 - 23) Lattanzio R, Cicinelli MV, Bandello F. Intravitreal steroids in diabetic macular edema. *Dev Ophthalmol*. 2017; 60:78–90.
 - 24) Douvali M, Chatziralli IP, Theodosiadis PG, et al. Effect of macular ischemia on intravitreal ranibizumab treatment for diabetic macular edema. *Ophthalmologica*. 2014;232: 136–143.
 - 25) Serizawa S, Ohkoshi K, Minowa Y, Soejima K. Interdigitation zone band restoration after treatment of diabetic macular edema. *Curr Eye Res*. 2016; 41:1229–1234.
 - 26) Moein HR, Novais EA, Rebhun CB, et al. Optical coherence tomography angiography to detect macular capillary ischemia in patients with inner retinal changes after resolved diabetic macular edema. *Retina*. 2018; 38:2277–2284.
 - 27) Durbin MK, An L, Shemonski ND, et al. Quantification of retinal microvascular density in optical coherence tomographic angiography images in diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2017; 135:370–376.
 - 28) Noriko Terada, Tomoaki Murakami, Akihito Uji, Yoko Dodo, Yuki Mori & Akitaka Tsujikawa. Hyperreflective Walls in Foveal Cystoid Spaces as a Biomarker of Diabetic Macular Edema Refractory to Anti-VEGF Treatment. *Scientific Reports*; (2020) 10:7299.
 - 29) Tso, M. O. Pathology of cystoid macular edema. *Ophthalmology*. 89, 902–915 (1982).
 - 30) Imai, H., Otsuka, K., Tetsumoto, A., Miki, A. and Nakamura, M. Effectiveness of En Bloc Removal of Fibrinogen-Rich Component of Cystoid Lesion for the Treatment of Cystoid Macular Edema. *Retina*. (2018).
 - 31) Mizutani, M., Gerhardinger, C. & Lorenzi, M. Muller cell changes in human diabetic retinopathy. *Diabetes*. 47, 445–449 (1998).
 - 32) Wynn, T. A. & Ramalingam, T. R. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med*. 18, 1028–1040 (2012).
 - 33) Jing Zou, Wei Tan, Wenlong Huang, Kangcheng Liu, Fangling Li and Huizhuo Xu. Association between individual retinal layer thickness and visual acuity in patients with epiretinal membrane: a pilot study. Zou et al. (2020), *PeerJ*, DOI 10.7717/peerj.9481.

CELLULE RETINICHE DELLA GLIA E MEMBRANA LIMITANTE INTERNA

INTRODUZIONE

Nello studio e ricerca dei più significativi biomarkers retinici in oftalmologia, oltre lo spessore, la membrana limitante interna e quella esterna sono due reperi strutturali evidenziabili all'imaging tomografico, sicuramente influenti, di crescente importanza funzionale [1].

L'utilità di una ricerca sulle caratteristiche fisiologiche oltre che strutturali in live delle singole cellule retiniche, è un nuovo aspetto, una nuova strada che la tomografia ottica e dell'angiotomografia oggi permettono, un incipit di assoluta utilità, un completamento diagnostico, un aiuto efficace ed innovativo per una corretta e più mirata terapia nella maggior parte delle patologie corioretiniche.

Le due membrane retiniche di pertinenza e origine gliare apparentemente non significative dal punto di vista funzionale risultano, in recenti indagini tomografiche, determinanti e sensibili biomarkers per monitorare molte patologie al polo posteriore [1]. Per fare il punto sulle cellule gliari retiniche collegate alle membrane limitanti, per lungo tempo poco studiate, ritenute elementi strutturali secondari "*non nobili*", sarà utile ripercorrere velocemente le tappe più significa-

tive della loro scoperta e, nel contempo, stabilire le principali caratteristiche isto-fisiologiche loro attribuite.

BREVI NOTE STORICHE

L'individuazione delle cellule gliari nel sistema nervoso risale all'inizio del Ventesimo Secolo. La loro predominanza numerica rispetto ai neuroni, confutata dalle ultime ricerche, alimentò nel tempo la falsa credenza che il cervello utilizzasse solo il 10% della sua massa complessiva. Il ruolo attivo delle cellule gliari nel determinare la velocità degli scambi sinaptici è solo uno degli aspetti fisiologici che è stato loro attribuito, a partire dal 2004 [2]. Le cellule gliari sono state descritte originariamente nel 1892 dal medico, istologo e patologo spagnolo *Santiago Ramón y Cajal* (1852-1934) che con Camillo Golgi (1843-1926) condivise nel 1906 il premio Nobel per la Medicina [3→6]. Le loro capacità funzionali sono state il naturale terreno per lo sviluppo delle teorie sostenute e proposte da questi due scienziati. I due illustri e celebri ricercatori avevano, oltre che le idee, anche personalità del tutto contrastanti: rigorosamente accademica il Golgi, con accenti tempestosi e sanguigni il Cajal (**figg. 1a,1b**).

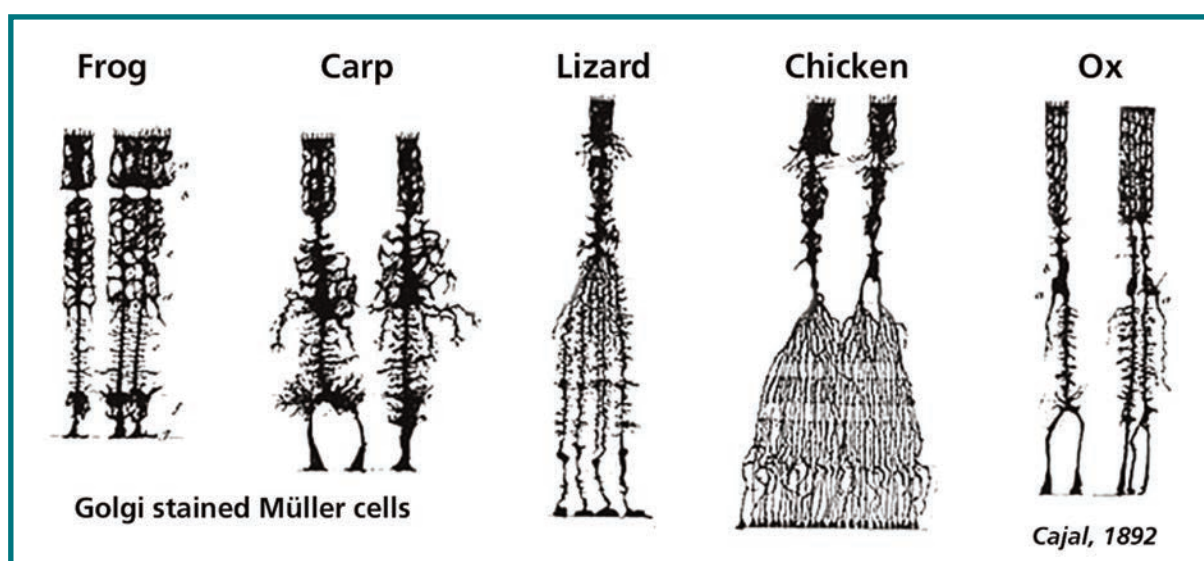


Fig. 1a - Cellule del Müller di differenti specie con colorazione di Golgi secondo Cajal. Notare che Cajal utilizzava la colorazione del Golgi!

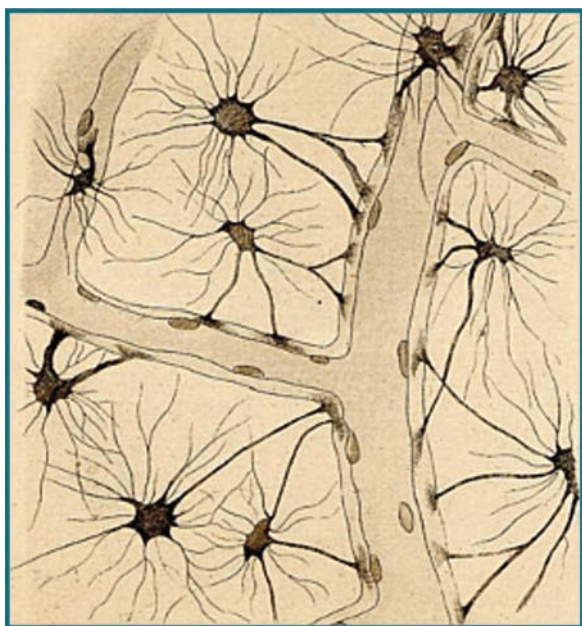


Fig. 1b - Cellule della neuroglia disegnate da Camillo Golgi, colorate utilizzando la tecnica del cromato d'argento. I singoli astrociti, a forma di stella, formano una rete; contraggono con le loro estremità citoplasmatiche numerosi contatti con i capillari cerebrali (riprodotta dal Prof. Paolo Mozzarello).

Bartolomeo Camillo Emilio Golgi, originario della Val Camonica, nelle Alpi lombarde, sosteneva l'idea della "rete diffusa", secondo la quale la trasmissione nervosa non era "isolata", ma avveniva per contiguità in tutto il sistema nervoso. Dopo qualche anno emerse che anche questo tessuto era composto da un insieme di singole cellule: la teoria della rete diffusa venne superata dalla "teoria del neurone". Anche se pensata inizialmente dagli svizzeri Wilhelm His (1831-1904) e August Henri Forel (1848-1931), e così battezzata nel 1891 da Wilhelm Waldeyer (1836-1921), furono tuttavia le straordinarie indagini di Santiago Ramón y Cajal a permettere alla teoria del neurone di affermarsi scientificamente, di diventare il "paradigma" della neurologia e della neurobiologia moderna, la base concettuale delle neuroscienze contemporanee [4-6]. La neuroglia (nevrogli o semplicemente glia) era concepita come il "connettivo" del sistema nervoso centrale. Il termine fu adoperato nel 1858 da Rudolf Virchow (1821/1902). Lo scienziato tedesco coniò il termine "nervenkitt" o "nerve glue", in seguito cambiato in glia (dal greco antico κλῆα, colla) [4-6]. Le cellule del Müller o cellule gliari radiali radial glial sono state correttamente identificate dall'anatomista tedesco Heinrich Müller (1820/1864) (figg. 2a,2b) [7,8].

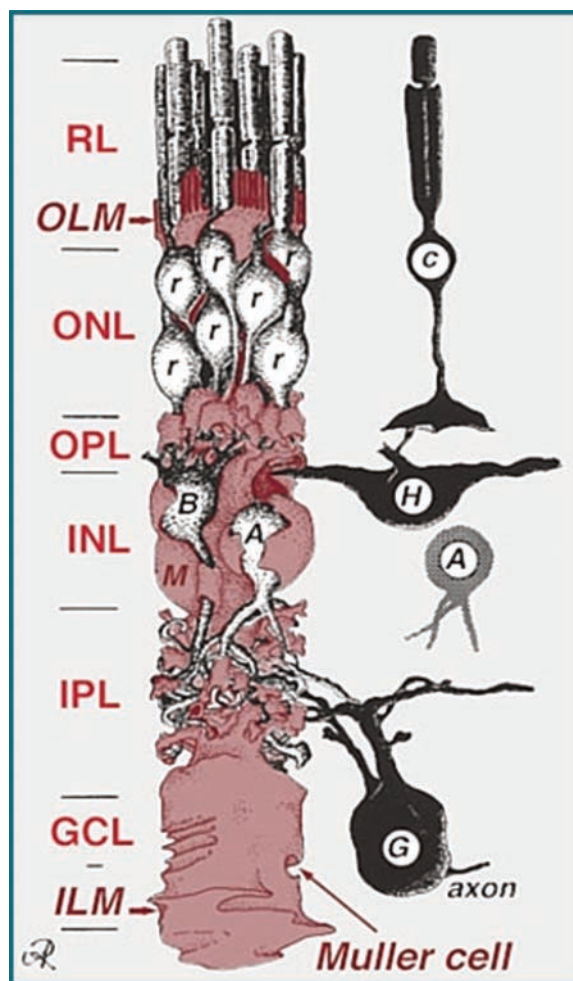


Fig. 2a - Immagine schematica che mostra la relazione tra le cellule del Müller e gli altri neuroni retinici (by Kolb H, Fernandez E, Nelson R, editors. Salt Lake City (UT): University of Utah Health Sciences Center).

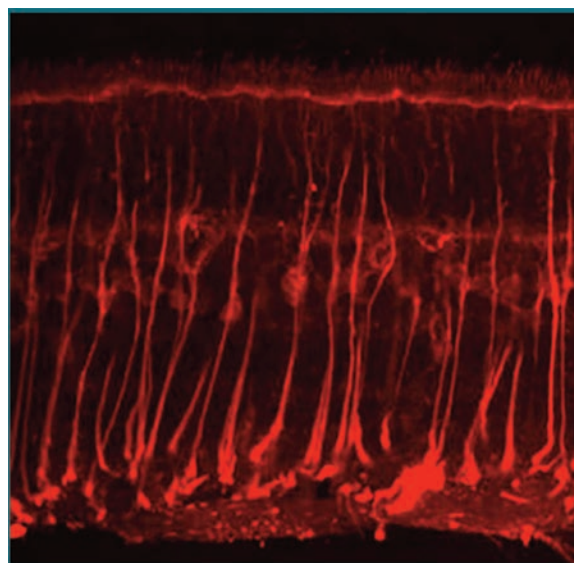


Fig. 2b - Immagine al microscopio confocale di cellule del Müller nella retina di scoiattolo di terra colorata con anticorpi anti-vimentina (by Steve Fisher).

Successivamente, nel 1919, sono stati descritti gli oligodendrociti (dal greco cellula con pochi rami). *Pío del Rio-Hortega* (1852/1934), medico, istologo e patologo spagnolo, premio Nobel per la medicina nel 1906, allievo del Cajal, utilizzò, intorno al 1920, il termine di “microglia” per denominare alcune cellule della retina di origine mesoteliale con funzione fagocitaria (figg. 3,4) [7,9].

I primi ad identificarle, quaranta anni prima nel 1880, furono *Franz Nissl* (1860-1919) e *William Ford Robertson* (1867-1923) durante esperimenti nel loro laboratorio, utilizzando una specifica colorazione istologica, il metodo di Nissl. Evidenziarono, tra l'altro, le molte similitudini funzionali tra queste cellule e i macrofagi. La loro capacità migratoria dipende dalle apofisi citoplasmatiche (dal greco apo fuori e physis crescita) messe in risalto, qualche anno più tardi nel 1897, dall'ana-

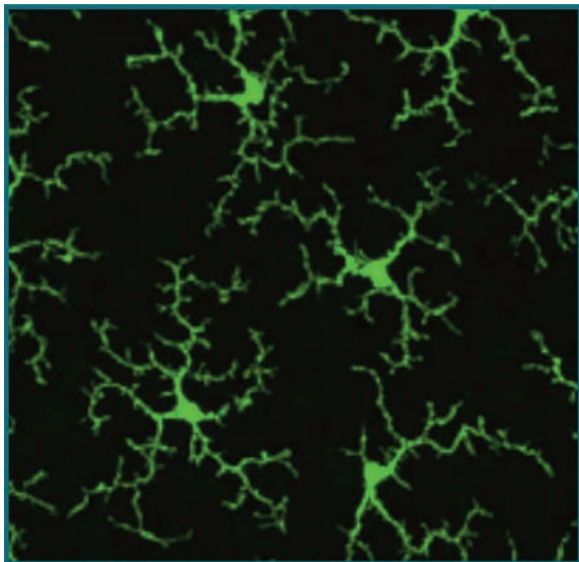


Fig. 3 - Cellule di microglia retiniche di topo sano adulto (by Wai T. Wong, National Eye Institute).

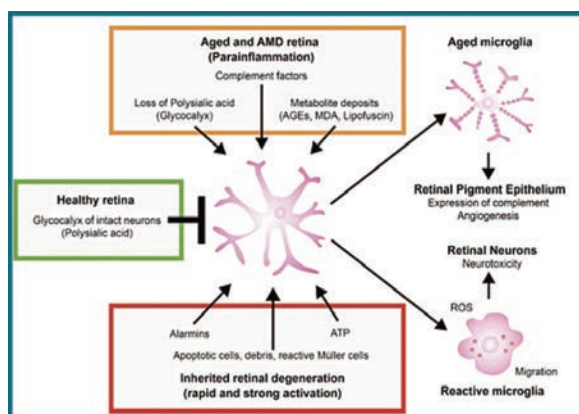


Fig. 4 - Funzioni delle cellule delle microglia (by Thomas Langmann).

tomopatologo rumeno *Victor Babes* (1854-1926) nei noduli nella sostanza grigia cerebrale in casi di rabbia: l'esame istologico rivelò che i noduli erano costituiti da un ammasso di cellule della microglia [7,9,12].

RETINA & GLIA

Si riteneva, come è stato riferito, che le cellule della glia fornissero essenzialmente un supporto strutturale, con un ruolo metabolico e funzionale del tutto passivo. Recenti lavori hanno dimostrato che le cellule gliali, nella retina come nel cervello, interagiscono attivamente con le altre cellule nervose, con capacità di modulare la conduzione sinaptica. L'idea di “cemento del tessuto nervoso” associato a tali cellule venne così mano a mano abbandonato. Esistono nella retina dei mammiferi almeno tre tipi di cellule gliali: quelle del Müller e gli astrociti accomunate nel termine di macroglia, e le cellule della microglia (fig. 5,6).

Le ricerche che correlano la membrana limitante interna MLI Membrane Limiting Internal al-

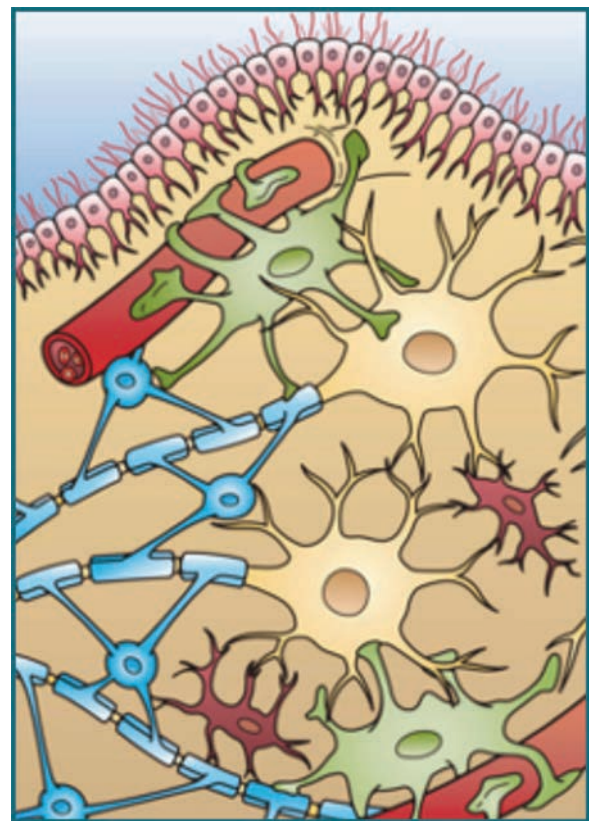


Fig. 5 - Immagine schematica delle cellule gliali nel sistema nervoso centrale. Cellule Ependimali in rosa chiaro, Astrociti in verde, Microglia in rosso scuro, Oligodendrociti in blu (simili alle Schwann nel nervoso periferico) (by Wikipedia).

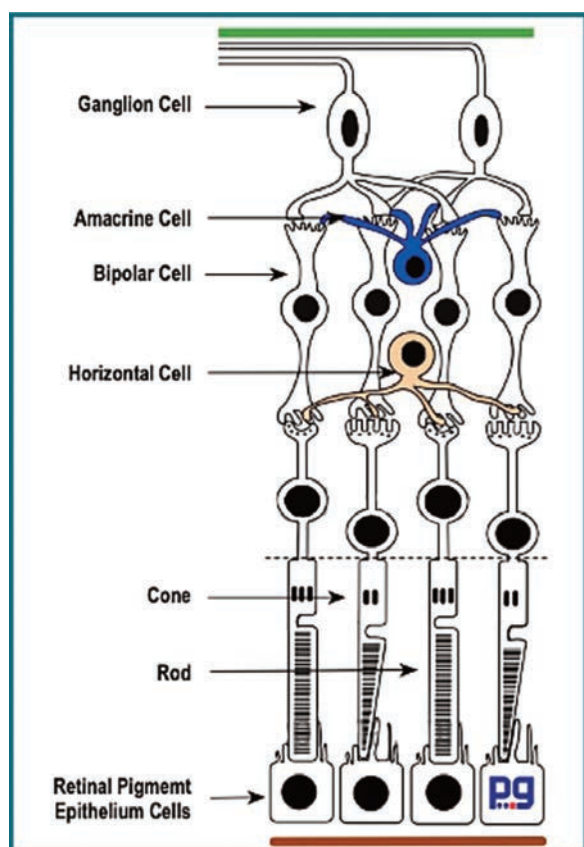


Fig. 6 - Schema delle cellule retiniche (by www.eophtha.com).

l'acuità visiva sono state svolte quasi sempre con finalità chirurgiche, prima e/o dopo vitrectomia [16,17]. La MLI è dipendente dalle cellule del Müller, principali costituenti gliali strutturali della retina [8,11]. La funzione delle strutture acellulari denominate "limitanti", la MLI e l'OLM, è da tempo sottoposta a studi di crescente valore scientifico. Il loro ruolo come possibili biomarkers nell'imaging tomografico genera motivate riflessioni sostenute da argomentazioni fisiopatologiche nel tempo più credibili [10,13-15].

La rivalutazione della glia è iniziata dalla constatazione che nell'encefalo le unità cellulari ner-

Cell type	Estimated number /Each Eye
Rod	approximately 110 to 125 million
Cones	approximately 6.3 to 6.8 million
Bipolar cells	approximately 35.7 million
Ganglion cells	approximately 1.2 million
RPE cells	approximately 3.5 million
Müller cells	approximately 10 million

Tab. 1 - Stima delle cellule retiniche umane (by Parthoprattim Dutta Majumder et al.).

vose e connettivali sono numericamente sovrapponibili. I dati numerici degli elementi cellulari retinici sono riportati nella **tabella 1**.

La **tabella 2** riassume alcune dimensioni come il diametro, gli spessori e le aperture angolari retiniche esistenti in macula, sempre utili [3,7].

Le proporzioni tra neuroni e neuroglia variano, d'altra parte, in base alle diverse aree del Central Nervous System CNS, materia grigia, materia bianca, stadio di sviluppo, specie di appartenenza. Nel cervello umano ci sono in genere il 20% di astrociti, 3-10% di OPCs Oligodendrocyte Progenitor Cells, (NG2-glia), 25% di oligodendrociti, 5-15% di cellule della microglia [7,10]. Inoltre, si è scoperto che cellule radiali della glia sono progenitrici comuni neuroepiteliali del sistema nervoso centrale, e generano la maggior parte dei neuroni e glia, direttamente per i neu-

Macula	Fovea	Foveola
Diameter: 5.5mm	Diameter: 1.5mm	Diameter: 0.35 mm
Represents 15° of the visual field	Thickness: 0.25mm	Thickness: 0.13 mm
	Represents 5° of the visual field	Represents 1° of the visual field

Tab. 2 - Dimensione delle aree retiniche al polo posteriore (by Parthoprattim Dutta Majumder et al.).

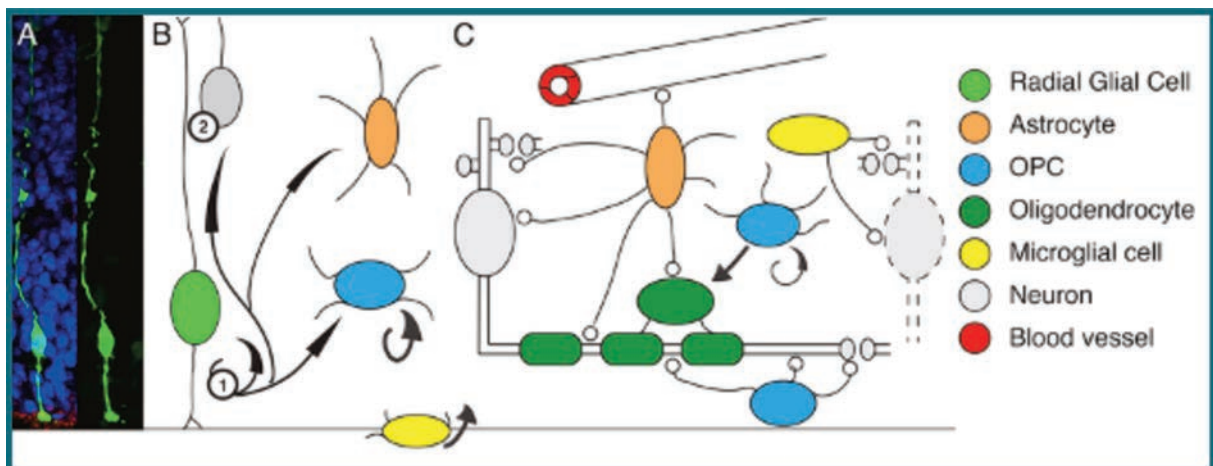


Fig. 7 - A: Cellule del Müller di topo visualizzate in utero (by Sven Falk and Magdalena Goetz, Helmholtz Centre, Munich). B: Cellule radiali gliali progenitrici delle cellule neuroepiteliali del SNC, neuroni e glia, direttamente (e.g. neuroni) o indirettamente, tramite progenitori intermedi (e.g. OPCs, descritte nel testo). Microglia in giallo e sua evoluzione embriologica. C: Neuroni e glia in contatto (cerchietti) tra loro (B e C by Nicola J. Allen, and David A. Lyons).

roni, o tramite linee cellulari intermedie per le OPCs [10] (fig. 7).

Gli astrociti, il più abbondante tipo di cellule gliali nel sistema nervoso, sono così denominati per la forma stellata, con processi che interagiscono con le altre cellule [10].

Esistono astrociti fibrosi nella sostanza bianca, dotati di pochi prolungamenti di grande lunghezza associati agli assoni, e astrociti protoplasmatici nella sostanza grigia, con molti prolungamenti relativamente corti e ramificati.

Queste cellule soprintendono alla regolazione dell'ambiente chimico extracellulare rimuovendo ioni, in particolare il potassio, e i neurotrasmettitori rilasciati durante la trasmissione sinaptica; sono considerati i "blocchi di costruzione" delle barriere emato-encefalica ed emato-retinica. Inoltre, giocano un ruolo nella vasocostrizione/vasodilatazione, producendo acido arachidonico i cui metaboliti sono vasoattivi (fig. 8) [10].

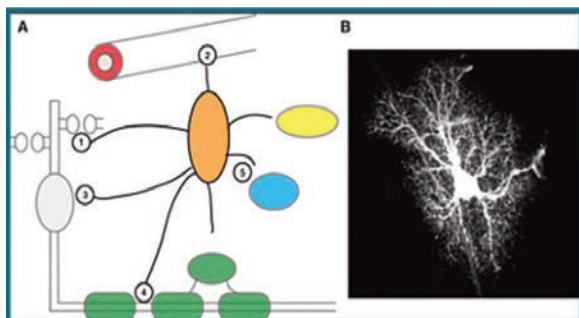


Fig. 8 - A: Astrociti in contatto con i vasi tramite le loro terminazioni. B: Immagine di astrociti (by: Nicola J. Allen, and David A. Lyons.).

Nella retina gli astrociti sono assenti nelle aree prive di vasi [8]. Queste cellule sono in contatto, infatti, con il plesso vascolare superficiale retinico tramite i loro processi cellulari, avvolgono i vasi, e si estendono verso la MLI e nello strato delle fibre nervose; a volte i loro processi seguono i vasi retinici fino agli strati retinici più profondi. Le loro propaggini si uniscono e consolidano infine le terminazioni delle cellule del Müller, rinforzando la MLI. Le fusioni di queste cellule sono complesse, valorizzate dalle ultime ricerche, con una distribuzione condizionata dalla "contact-spacing", distanza di contatto tra elementi cellulari (fig. 9) [8-10].

Gli OPC, le più proliferative cellule del CNS, generano oligodendrociti maturi che producono fibre mieliniche durante tutto il corso della vita, con ruoli aggiuntivi ancora da identificare pienamente; tali cellule non sono presenti nella retina (fig. 10) [11].

Gli oligodendrociti e le cellule di Schwann, con proprietà mielinizzanti, sono dislocate rispettivamente nel CNS e nel Peripheral Nervous System PNS. Una recente Review ha assegnato a queste cellule una più integrata e completa funzione plastica, oltre che di supporto e metabolica verso i neuroni [11,13]. È probabile che la regolazione dinamica della mielinizzazione possa incidere anche sulla propagazione e comunicazione delle informazioni nei circuiti funzionali. Un singolo oligodendrocita può mielinizzare anche 50 assoni [11]. Nella retina gli oligodendrociti sono assenti. Il nervo ottico, ricoperto da mielina,

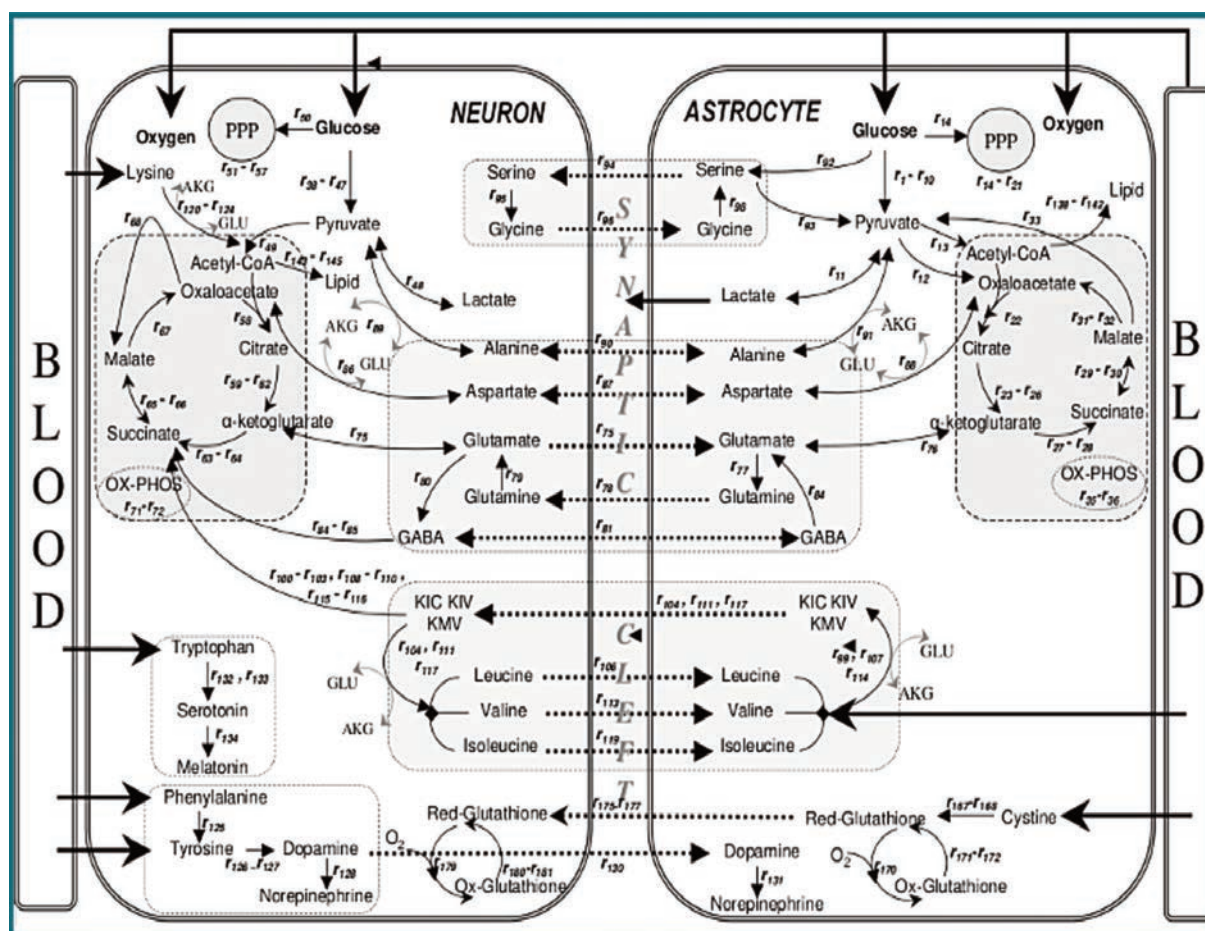


Fig. 9 - Rapporti metabolici principali tra astrociti e neuroni. Le frecce spesse mostrano le reazioni di assorbimento e rilascio. Le frecce tratteggiate indicano lo scambio dei metaboliti tra due cellule. Le reazioni del glutammato sono indicate con GLU, le reazioni del α -chetoglutarico con AKG (by Tunahan Çakır et al.).

dopo la sclera viene avvolto anche dalla dura madre, aracnoide, pia madre e, come il nervo olfattivo, è considerato diretta continuazione del sistema nervoso centrale. La microglia appare come un elemento cellulare ospite nel CNS e nella retina, simile ai macrofagi, con ruoli evidenti durante le fasi di sviluppo e nell'attività di trasmissione sinaptica [11] (fig. 11).

Così denominate per la minore dimensione citoplasmatica rispetto alla macroglia, astrociti e Müller, svolgono nella retina attività immunitaria, innescando processi infiammatori e di riparazione [11]. Derivano dall'ectoderma; sono tuttavia accomunate alle cellule della macroglia per il loro ruolo di supporto ai neuroni [3,9]. Esiste una microglia parenchimale, popolazione cellulare permanente, e una perivascolare, coesa alla membrana basale dei capillari encefalici e retinici, soggetta a turnover, con forme citoplasmatiche diversificate. Presenti, come riferito, in piccolo

numero, 0,2% di tutte le cellule retiniche, le cellule della microglia si moltiplicano in caso di danni al cervello e/o retina, e possiedono capacità migratoria [9,12]. La loro morfologia ameboide muta con gradualità fino ad assumere un aspetto ramificato, caratterizzato da un piccolo corpo cellulare e lunghi processi filamentososi [3,8,9]. Questa forma è tipica della microglia quiescente o resting; le interazioni microglia-astrociti e microglia-neuroni contribuiscono a questo stato; la loro presenza aiuta a completare la barriera ematoencefalica ed emoretinica, con l'esclusione dal parenchima cerebrale e retinico delle sostanze di diretta origine ematica [9,11]. Le cellule della microglia sono la principale linea di difesa immunitaria cerebrale e retinica; presentano l'antigene ai linfociti T attivandoli, similmente alle APC Antigen-Presenting Cell. Sono situate negli strati più interni della retina tra le fibre assionali, cellule gangliari, e strato plessiforme interno [12,13].

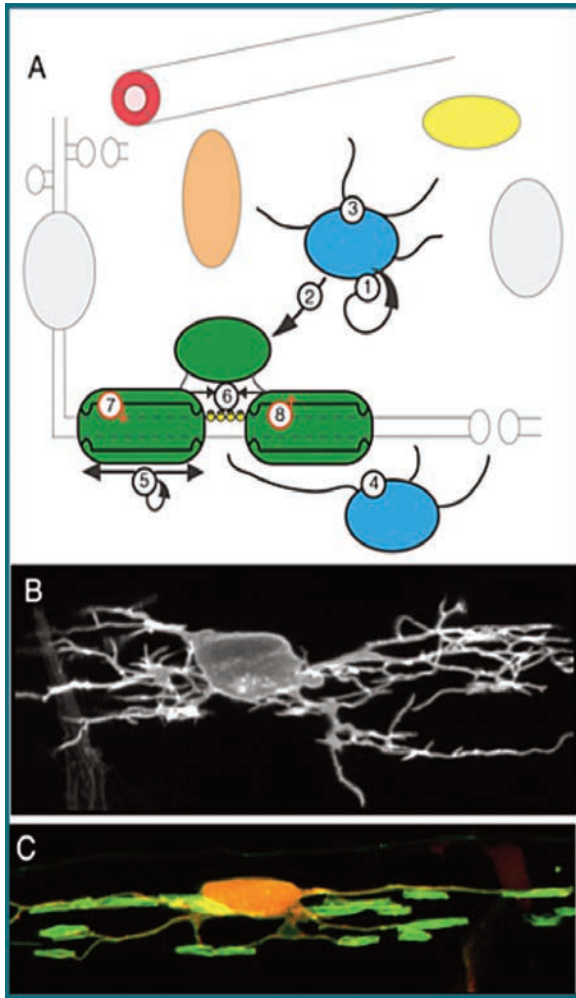


Fig. 10 - OPCs, oligodendrociti progenitori. A: OPCs in blu sono le cellule più proliferative del SNC (1); generano oligodendrociti mielinizzanti (2) e sono in contatto con molte cellule (3), come i noduli di Ranvier (4). Sono distinti in tre sottotipi le cui funzioni rimangono non chiarite. Gli oligodendrociti in verde producono mielina e regolano la velocità di conduzione dell'impulso nervoso (5). La mielinizzazione determina la dominanza assonale (6) nei noduli di Ranvier, il supporto metabolico assonale (7) e la regolazione del potenziale d'azione attraverso la regolarizzazione degli ioni K⁺. B: Cellula OPC di larva di zebrafish che esprime la componente proteica fluorescente. C: Oligodendrocita in larva di zebrafish (by Dr. Marion Baraban, Lyons lab.).

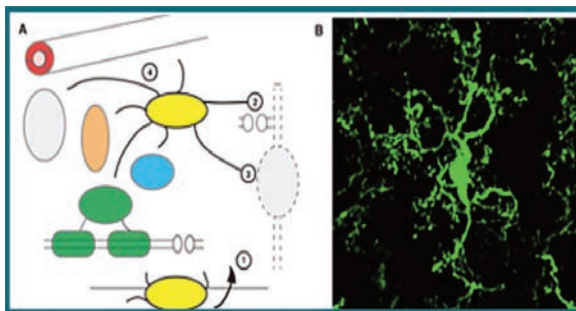


Fig. 11 - A: Cellule di microglia, con compiti immunologici nel sistema nervoso, e loro sviluppo (1), in funzione delle sinapsi (2), del clearing dei neuroni apoptotici (3) e di relazione con altre cellule (4). B: Microglia nel topo che esprime la GFP green fluorescent protein (by of Youtong Huang and Greg Lemke, Salk Institute).

NEURONI & CELLULE DEL MÜLLER

I neuroni retinici derivano da un pool di cellule progenitrici, le Retinal Progenitor Cells RPCs. Le RPCs si dividono in cinque tipologie principali: fotorecettori, bipolari, amacrine, orizzontali e gangliari, ordinate in tre strati e due plessi sinaptici (fig. 12) [14].

I fotorecettori sono dislocati con i loro nuclei nello strato nucleare esterno Outer Nuclear Layer

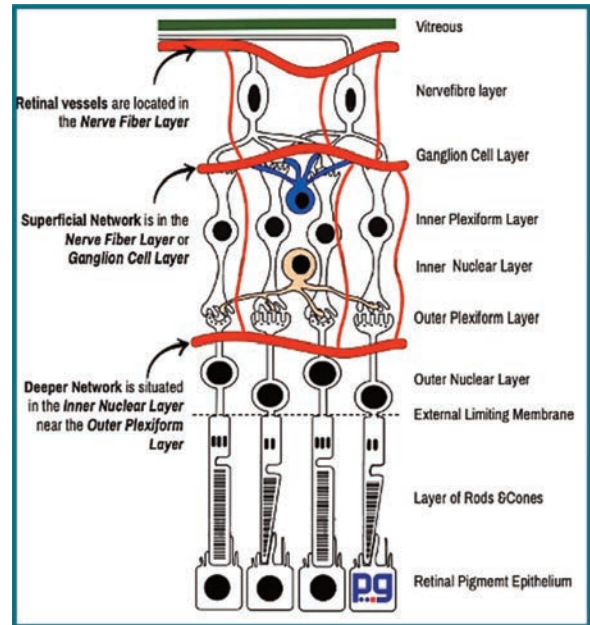


Fig. 12 - Schema della struttura retinica con sistemi vascolari (by www.eophtha.com).

ONL e con le loro sinapsi nello strato plessiforme esterno Outer Plexiform Layer OPL, in collegamento con orizzontali, bipolari e amacrine. Le sinapsi delle cellule bipolari e amacrine, a loro volta, sono dislocate nello strato plessiforme interno IPL Inner Plexiform Layer in rapporto con le gangliari retiniche [14] (figg. 2a,2b).

La cellula di Müller, come riferito, è il principale elemento gliale retinico dei vertebrati. Sono cellule radiali specializzate che coprono l'intero spessore della retina. Prendono contatto e/o inguainano i corpi di tutti i neuroni retinici o i loro processi. Ciascuna di queste cellule può essere considerata il "core" di un'unità anatomica colonnare, una "micro-unit" strutturale e funzionale [15]. Le Müller glial cells MGCs sono dotate, infatti, nella loro membrana citoplasmatica di diversi canali ionici, recettori, ligandi, molecole trasportatrici transmembrana ed enzimi ad elevata conduttanza di

ioni potassio. Le MGCs formano stretti contatti con i neuroni retinici e penetrano tra le sinapsi delle cellule gangliari e bipolari [15]. La loro funzione sta subendo una continua revisione e valorizzazione. La fovea, il sito della visione nitida, è priva di astrociti e microglia. La componente gliale è rappresentata da due popolazioni diverse di cellule del Müller: un gruppo con cellule a forma conica presenti nell'area foveolare, e un altro con cellule allungate a Z nelle aree extrafoveolari. Entrambe queste popolazioni hanno differenze oltre che morfologiche anche funzionali. Le Müller nella foveola in particolare forniscono stabilità strutturale e migliorano la trasmissione dell'impulso luminoso dei fotorecettori [58].

Studi intensivi su animali adulti ne stanno evidenziando le loro molteplici capacità, come l'eliminazione dei rifiuti metabolici, la regolazione della vasocostrizione dei capillari retinici, la mo-

dulazione dell'attività dei neuroni e del passaggio dell'impulso luminoso [15].

Rinnovato interesse si è concentrato negli ultimi tempi sui mitocondri di queste cellule e sul loro ruolo in differenti patologie retiniche. Più di una evidenza scientifica rileva, infatti, la relazione tra la disfunzione con l'età di questi organuli citoplasmatici e le alterazioni neurodegenerative a carico dello strato retinico interno, come riscontrato in corso di retinopatia diabetica e nel glaucoma [44].

Altre numerose ricerche saranno tuttavia necessarie perché si verifichi il passaggio definitivo da un'imaging strutturale e segmentale di "strato" o "slab", ad un'imaging "high definition in live", per approdare infine al "live cell imaging", efficacemente funzionale, evoluzione qualitativa diagnostica preconizzata già nel 2010, tra gli altri, da M. Baker e H. Landecker (fig. 13) [47, 48].

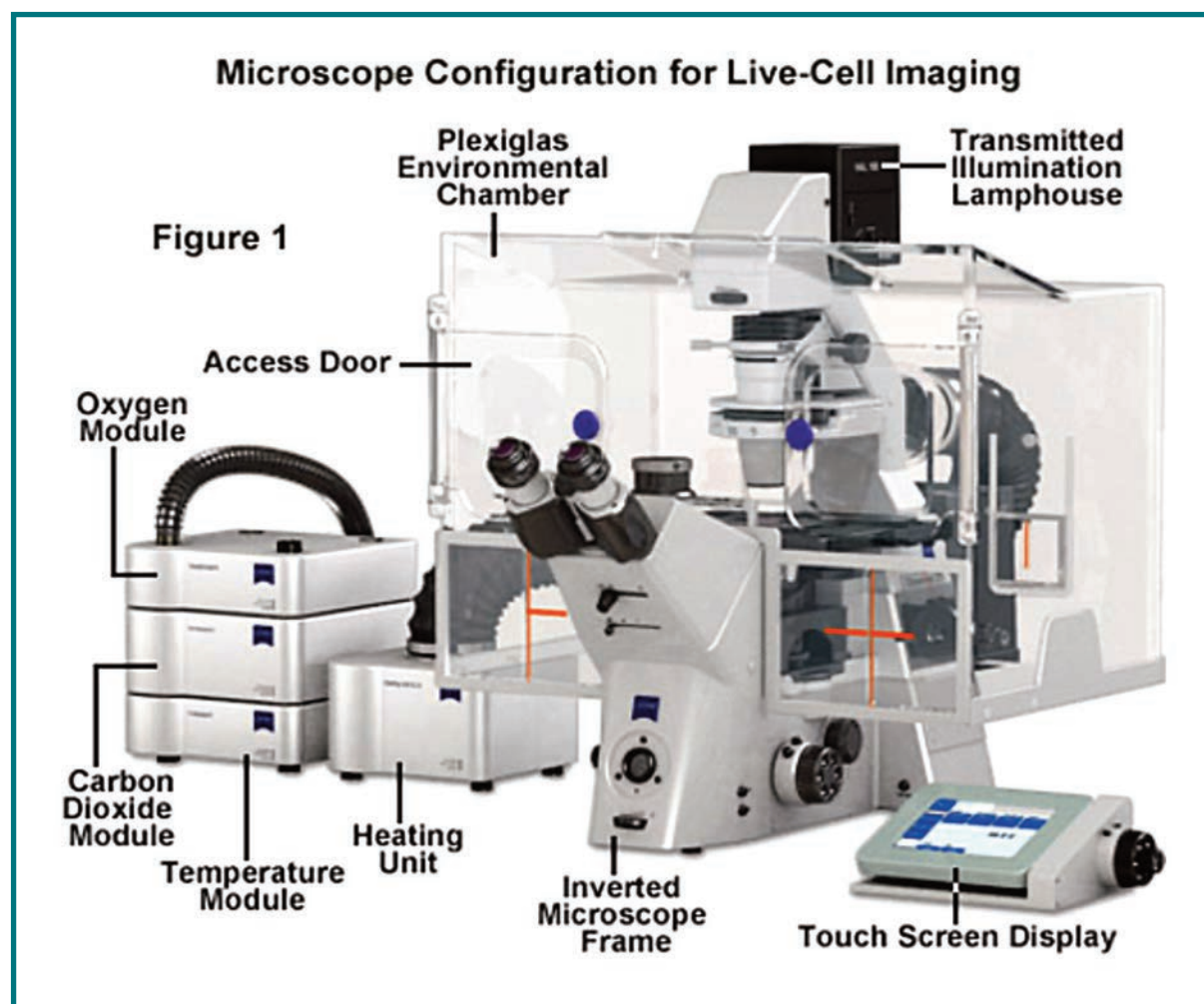


Fig. 13 - Microscopio Live-Cell imaging della Zeiss.

MEMBRANA LIMITANTE INTERNA

La ILM è una struttura acellulare molto sottile e trasparente, aderente alla superficie interna della retina. Svolge un ruolo importante nelle prime fasi dello sviluppo embrionale; tuttavia la sua funzione negli adulti non è ancora pienamente compresa (fig. 14) [16].

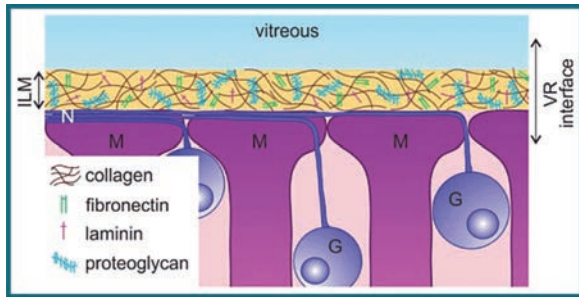


Fig. 14 - Disegno schematico dell'interfaccia vitreoretinica. G: Ganglion cell; ILM: Inner Limiting Membrane; M: Müller cell; N: nerve fiber; VR: VitreoRetinal (by Karen Peynshaert).

È una struttura istologica PAS positiva (Periodic acid Schiff) con uno spessore medio di 1-2 μm . Secondo misurazioni effettuate con la microscopia a forza atomica AFM Atomic Force Microscopy, come riportato in ricerche di *J. Candiello et al.*, il suo spessore varia da 100 nm/0,1 μm (1nm nanometro = 0.001 μm micron) in area foveale a 3 μm circa in area parafoveale [17,21].

L'utilizzo dell'AFM ha portato più precise informazioni rispetto alla microscopia elettronica TEM Transmission Electron Microscopy, che necessita di fissazione chimica e deidratazione dei tessuti, con possibilità di artefatti. Il sottile spessore della ILM in fovea e vicino ai grandi vasi sanguigni, nello strato delle fibre nervose, predispone queste aree alla migrazione e/o proliferazione di elementi cellulari/vascolari retinici, e all'ingresso dal vitreo di macromolecole e virus nella retina [17,21,30].

La ILM deriva dalle terminazioni delle membrane basali delle cellule di Müller. Queste si combinano con pacchetti di fibrille collagene della ialoide vitreale insieme alle terminazioni degli astroцити [17,18]. Tutti i componenti descritti sono immersi in una matrice extracellulare di connessione, da *S. Heegaard et al.* definita come "regione di confine vitreoretinica" [17,19].

Fu *Salzmann* a dare a questa struttura il nome di membrana limitante interna per la sua similitudine con le altre membrane basali Basement Membrane BM [17,18,20]. Nel bulbo oculare in-

contriamo ben sei BM del tutto simili:

- a) BM della capsula del cristallino, la più spessa dell'organismo;
- b) BM della ialoide vitreale;
- c) BM della cornea;
- d) BM della ILM;
- e) BM dell'epitelio pigmentato;
- f) BM della Bruch.

Sempre *S. Heegaard* ha descritto che l'ILM umana aumenta notevolmente di spessore durante i primi mesi/anni di vita nelle regioni equatoriali e in macula; in seguito, dal secondo decennio, resta pressoché stabile, invariata negli anni successivi. Negli occhi umani adulti l'ILM è più spessa nella regione maculare extrafoveale [17,19]. Tutte le proteine che compongono la MLI sono molecole multidominio, polimerizzate (laminine, collagene tipo IV), cross-linkate (tipo collagene IV), o che si legano tra loro (laminina, agrina, nidogeno/entactina, perlecan, collagene tipo IV) [17]. Delle circa 20 proteine identificate predominano il collagene tipo IV, la laminina 521, il perlecano, l'agrina e il collagene XVIII [17,28].

ASPETTI FISIOPATOLOGICI DELLA ILM

Il peeling della ILM è un'efficace procedura chirurgica da tempo adottata nella chirurgia del foro maculare idiopatico Idiopathic Macular Hole IMH [20,45], nell'edema maculare diabetico diffuso Diabetic Macular Edema DME [22], nell'edema maculare in corso di occlusione della vena centrale della retina Central Retinal Vein Occlusion CRVO [23], nell'occlusione venosa di branca Branch Retinal Vein Occlusion BRVO [24], così come nei casi di persistente edema cistoide dopo chirurgia della cataratta Cystoid Macular Edema CME o per uveiti croniche recidivanti [25]. Numerosi studi rilevano un ruolo attivo dell'ILM nel decorso di differenti patologie al polo posteriore.

Tra queste patologie, le trazioni vitreo-maculari e l'edema intraretinico sono sicuramente legate all'ispessimento di questa struttura [26,27]. Tranne nei casi di CRVO, nelle ILM studiate con TEM in corso di DME, di CME e in occhi con foro maculare traumatico Traumatic Macular Hole TMH si sono trovati elementi cellulari commisti alla più abbondante componente amorfa [17]. La presenza di membrane epiretinali prive di cellule presenti nelle maculopatie da CRVO potrebbe es-

sere dovuta alle sequele dell'ischemia acuta degli strati retinici; il reperto di ILM ispessite con elevata cellularità in corso di diabete potrebbe essere invece correlato alla cronica attivazione delle MGCs [17,18]. Con l'aumento dell'età, oltre ad un lento aumento di spessore, la ILM diventa anche più rigida [21]. È probabile che il progressivo cambiamento nella composizione proteica, con più elevati contenuti di collagene IV e diminuzione di laminina, possa essere responsabile dell'aumento di spessore e rigidità della ILM [21].

Ulteriore prova del cambiamento istochimico della ILM con l'età è l'evidenza, nelle fasi fetali, di una struttura strettamente trilaminare, simile ad altre BM, con uno spessore di circa 100 nm [21,29]. Con il tempo questa struttura diventa più amorfa; si sviluppano, sul lato retinico, evidenti e pronunciate rientranze (fig. 15) [21,29]. Inoltre, l'aumento di spessore, propria negli esseri umani

longevi, non è presente in altri primati con minore speranza di vita (fig. 16) [29]. Tutte le BM aumentano di spessore in corso di diabete cronico. Questo vale anche per la ILM nei pazienti con diabete di tipo 1 e di tipo 2 [30,31].

Come questo dato istologico possa predisporre o agevolare le alterazioni vascolari retiniche nel diabete non è ancora stabilito. D'altra parte, la proliferazione cellulare sull'interfaccia vitreoretinica gioca un ruolo importante nella progressione della retinopatia diabetica proliferativa, in diverse Vitreo-Retinopathy PVR e nella formazione di pucker maculare [32]. In condizioni normali la superficie vitreale è priva di cellule [16]. Il termine membrane epiretinali venne attribuito nel 1972 da RY Foos a quelle proliferazioni che superavano il limite della MLI. Questo ricercatore individuò e descrisse la migrazione cellulare dalla retina attraverso l'ILM [33,34].

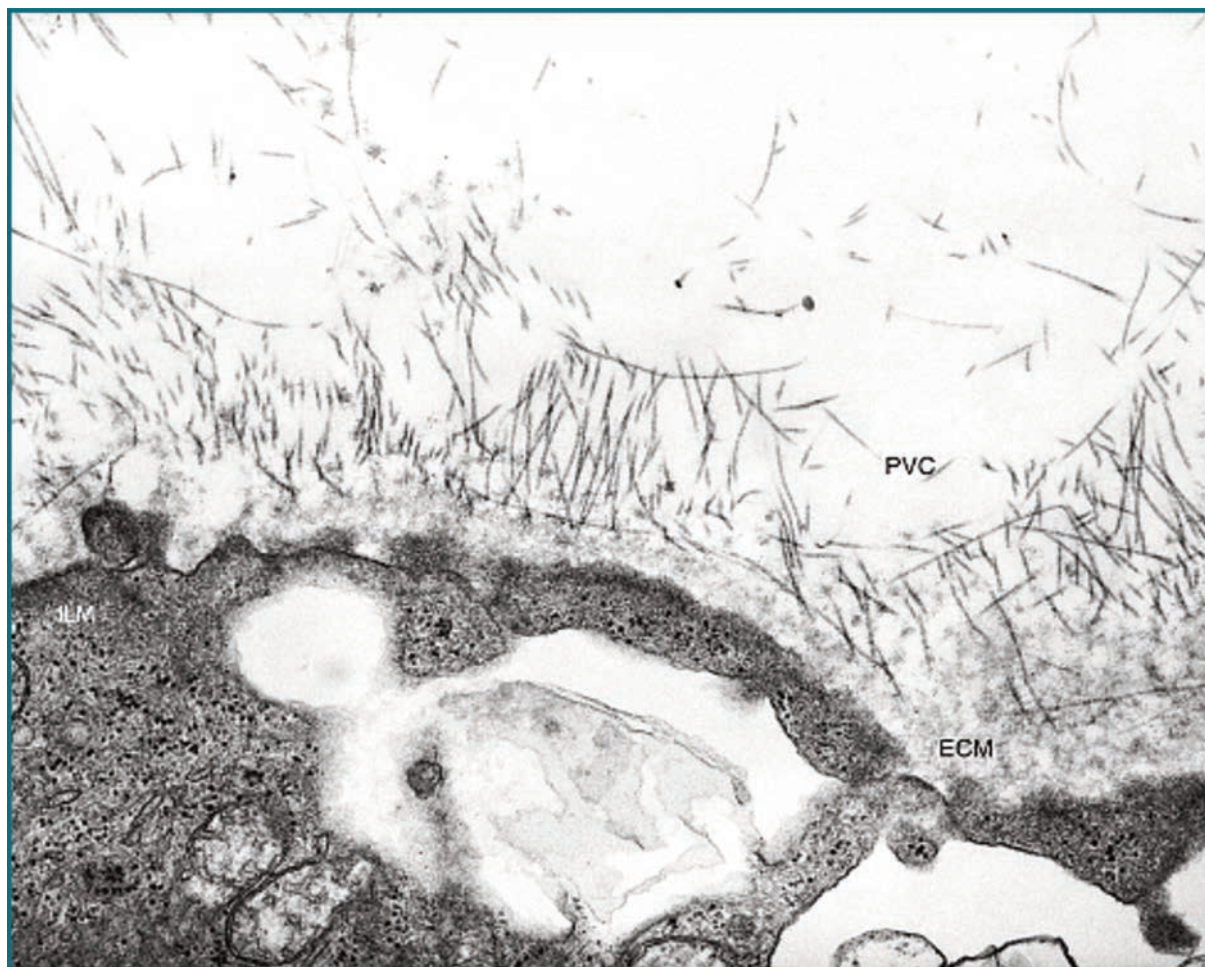


Fig. 15 - Interfaccia vitreoretinica umana. Nella parte superiore si evidenziano le fibrille collagene addensate nella corticale posteriore del vitreo (PVC) che ricopre la ILM. Tra queste due strutture è interposta la matrice extracellulare ECM, denominata da Heergaard "vitreoretinal border region" (by Willi Halfter, J. Sebag, and Emmett T. Cunningham Jr.).

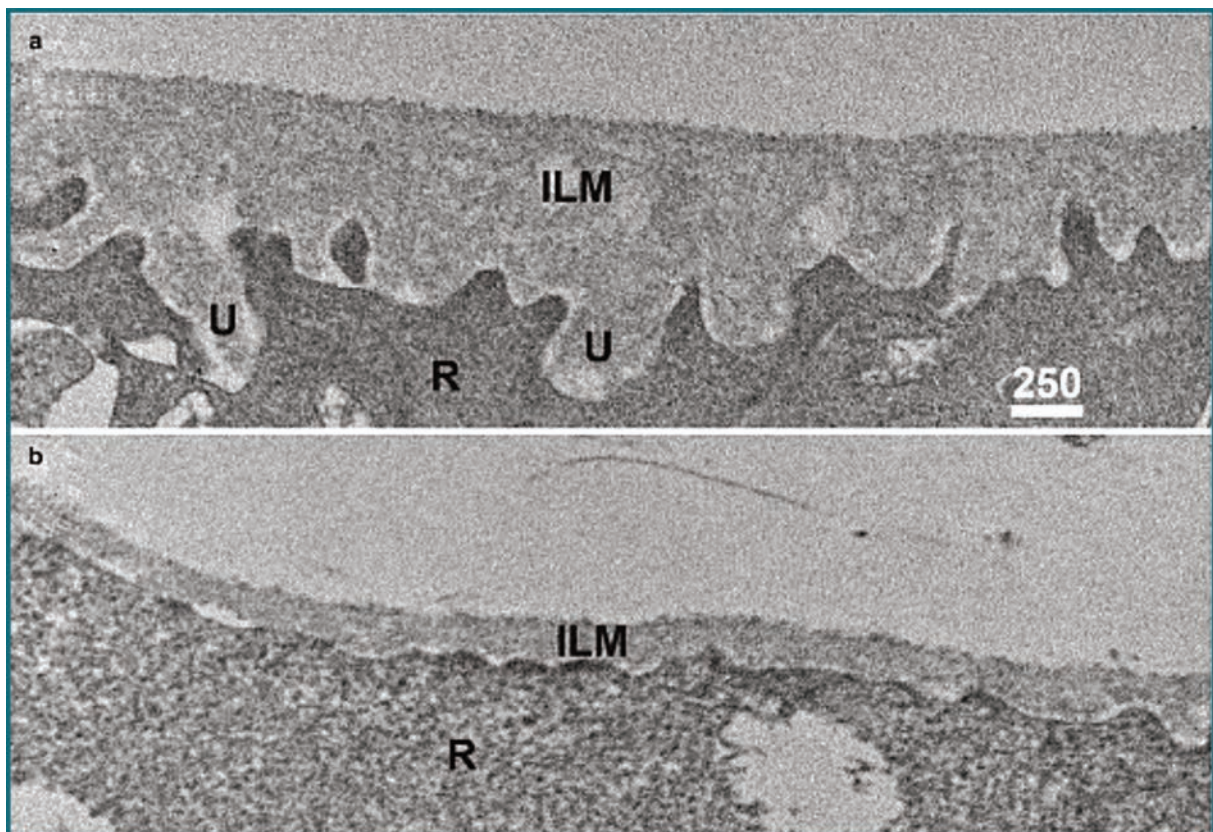


Fig. 16 - Variazioni della ILM. (a) Immagine al microscopio elettronico della ILM al polo posteriore di uomo di 27 anni con ondulazioni a U della ILM che riempie le fessure tra le cellule retiniche R sottostanti (Bar = 250 nm). (b) immagine con microscopio elettronico della ILM nella periferia retinica nello stesso occhio in (a), con l'aspetto simile continuo della ILM al polo posteriore ma con minime ondulazioni (Bar = 250 nm) (by Willi Halfter, J. Sebag, and Emmett T. Cunningham Jr.).

Questo meccanismo fisiopatologico è presente nella retinopatia diabetica proliferante dove è presente la migrazione e neoformazione di cellule endoteliali dei vasi retinici e nella PVR, in cui le giunzioni serrate tra le cellule dell'epitelio pigmentato contrastano la proliferazione verso gli strati retinici interni [35]. Nel pucker maculare, invece, patologia dove è più frequente la presenza di membrane, la proliferazione è secondaria ad un distacco del vitreo posteriore anomalo con vitreoschisi [36-38]. Le membrane che formano il pucker, adeso alla corteccia vitreale posteriore attaccata alla retina, incorporano ialociti. La migrazione di monociti dai vasi retinici e di cellule gliali retiniche favoriscono il consolidamento di tali neo-membrane; i fenomeni di trazione e contrazione sono tuttavia da attribuire principalmente ai ialociti presenti nel loro contesto [17,39].

In tutto questo l'ILM gioca il suo ruolo in diversi modi non pienamente stabiliti. La formazione e la proliferazione delle membrane cellulari sulla superficie retinica richiede comunque sempre la mi-

grazione di cellule e la loro adesione a un substrato [17,39]. Anche la migrazione dei monociti, importanti nella formazione del pucker, sarebbe agevolata da alterazioni della ILM, anche se non ci sono prove certe della sua destrutturazione [17,39]. L'adesione cellulare alle superfici normali o patologiche è mediata dalla laminina [40]. È stato dimostrato che la laminina ha un ruolo critico anche nello sviluppo vascolare retinico; sembrerebbe ragionevole estrapolare ruoli simili anche per la neovascolarizzazione retinica patologica [41].

Utilizzando specifici anticorpi si è riscontrato che la laminina è più abbondante sul lato retinico della ILM, e che il collagene IV manca sul lato vitreale. Queste caratteristiche istochimiche, in corso di patologie proliferative, faciliterebbero l'adesione cellulare sul lato vitreale della ILM. La presenza di corteccia vitreale posteriore residua sulla ILM, come si riscontra nel distacco posteriore anomalo del vitreo Posterior Vitreous Detachment PVD associato a vitreoschisi, potrebbe funzionare come substrato favorente l'adesione cellulare, e

innescare la loro proliferazione [41,42]. La cosiddetta regione di confine vitreoretinica, descritta come matrice extracellulare di connessione da S. Heergaard, già citata, agevolerebbe ulteriormente questa condizione patologica [17,42]. L'ILM è il sito di transizione patologica a livello dell'interfaccia vitreoretinica.

Le forze di trazione epiretينية inizialmente sono state individuate e descritte essenzialmente come assiali, con secondaria deformazione retinica antero-posteriore. Mutuando dalla biomeccanica possiamo definire queste forze di carico sulla struttura come “*stress di struttura*”. Allorché queste forze (stress) determinano un aumento degli spessori retinici facilmente rilevati dall'OCT, avvengono deformazioni tissutali che possiamo definire “*strain di struttura*” (strain = deformazione). JDM Gass fu il primo a proporre nel 1987 l'esistenza di forze trazionali non solo assiali ma anche tangenziali. Sempre in ambito biomeccanico lo stress in definitiva è la forza applicata sui tessuti; lo strain è la deformazione che il tessuto subisce a causa dello stress. Nel pucker e nel foro maculare, sulla struttura retinica possono agire forze assiali e/o tangenziali [43,46,49].

ULTIMATE GOAL

Le ricerche sulle capacità funzionali delle cellule retiniche della glia non cessano di offrirci interessanti dati, confermando e ampliando i campi di loro competenza. Ad esempio il danno e l'eventuale perdita delle cellule ganglionari retiniche RGCs Retinal Ganglion Cells in corso di Atrofia Ottica Dominante Dominant Optic Atrophy DOA [50] e nella Neuropatia Ottica Ereditaria di Leber Leber's Hereditary Optic Neuropathy LHON [51] sono causate dalla progressiva compromissione della catena ossidativa mitocondriale, con mancanza di produzione di energia sotto forma di ATP. Le mutazioni individuate nella LHON colpiscono, infatti, i geni che codificano l'enzima NADH mitocondriale, in specifico l'ubichinone ossidoreduttasi (MTND1, MT-ND4, MT-ND5 e MT-ND6) [52]. La disfunzione mitocondriale in entrambe le malattie porta all'apoptosi delle RGCs e perdita progressiva della vista [53]. Le cellule del Müller forniscono un supporto trofico ed energetico alle RGCs [54,55]. Uno dei loro ruoli più importanti è l'assorbimento del neurotrasmettitore glutammato, prevenendo eventuali tossicità alle RGCs [56].

La capacità protettiva delle Müller nei confronti delle RGCs è in queste patologie chiamata in causa, evidenziata altresì da studi di laboratorio con cellule in coltura. Le ricerche hanno accertato una maggiore sopravvivenza delle RGCs se coltivate insieme alle Müller [57]. Più di un risultato scientifico correla alcune malattie neurodegenerative retiniche caratterizzate dal depauperamento delle RGCs alla disfunzione metabolica delle cellule del Müller. Se queste ipotesi saranno ulteriormente verificate, si renderà necessario approntare nuove strategie terapeutiche indirizzate alla tutela delle cellule gliali retiniche, in particolare delle Müller, per rallentare e prevenire più efficacemente la perdita delle RGCs [55-58]. La riprova che l'imaging retinico sia incamminato verso la risoluzione cellulare in live è testimoniata, tra l'altro, da un recente lavoro di Daniel X. Hammer et al. del novembre 2020 [59].

Questi autori, utilizzando le ottiche adattive associate ad un SD-OCT AO-OCT, hanno ottenuto un'alta risoluzione dell'imaging tagliando le aberrazioni ottiche del percorso intrabulbare del raggio di scannerizzazione. L'Ottica Adattiva o Adattativa AO è una tecnologia che consente di migliorare la qualità di un sistema ottico agendo attivamente sul fronte d'onda del fascio luminoso. La correzione dei disturbi indotti come i disallineamenti, le microvibrazioni del device, le aberrazioni, gli effetti del calore e le turbolenze atmosferiche con l'utilizzo delle AO vengono in modo significativo attutiti [60]. Gli autori hanno inoltre rivolto la loro attenzione sulle cellule della microglia con sorprendenti ed importanti risultati in vivo. Queste cellule retiniche, del tutto simili ai macrofagi, erano particolarmente visibili in live a livello della ILM, mentre lo studio non è riuscito a dimostrarne la presenza negli strati IPL e OPL, normalmente popolati da queste cellule. Queste ricerche seguono le iniziali osservazioni di Liu et al. che con l'utilizzo di AO-OCT, riuscirono a visualizzare macrofagi nella ILM [61].

A queste osservazioni sono seguite altre, delineando le caratteristiche biologiche delle cellule microgliali in condizioni fisiologiche e in corso di patologie retiniche. Tra i risultati emerge che i macrofagi retinici hanno una distribuzione non omogenea nel contesto retinico, invecchiano in modo differente, e che la loro densità nella ILM diminuisce con età (~2% di cellule all'anno). Inoltre si è visto che negli occhi glaucomatosi i macrofagi

nel contesto della ILM, in caso di danno gangliolare o assonale, svolgono fagocitosi precoce sulle strutture biologiche in apoptosi avanzata[59]. Gli autori al termine del loro lavoro si interessano degli ialociti, cellule vitreali anch'esse con funzioni macrofagiche. Riferiscono che tali cellule sono distinte in sottogruppi morfologici in relazione alla loro posizione: nel vitreo anteriore, vicino al corpo ciliare, assumono forma ovoidale, con microvilli e brevi protrusioni citoplasmatiche; nel vitreo posteriore, vicino all'ILM, hanno maggiore dimensione, forma allungata, e sono dotati di spessi processi citoplasmatici.

Queste differenze morfologiche fanno pensare a diversi ruoli non ancora pienamente compresi. Indipendentemente dalla forma assunta, gli autori sottolineano il loro ruolo nella formazione delle membrane epiretinali [59]. Queste e altre ricerche fanno emergere con forza l'importanza delle cellule della glia nel trofismo e funzionalità delle cellule retiniche con attività visive, oltre che nelle condizioni patologiche descritte. Penso che l'indagine della componente gliale diventerà nel tempo sempre più necessaria, obbligatoriamente opportuna. In condizioni fisiologiche, e maggiormente nelle disfunzioni retiniche, uno studio di tutte le componenti cellulari retiniche sarà necessariamente da perseguire. Individuare in live con mezzi non invasivi i prodromi delle alterazioni cellulari retiniche sarà il vero obiettivo per l'imaging del futuro, la vera svolta per migliorarne la capacità diagnostica, il decisivo passo avanti per il management da adottare nel variegato mondo delle maculopatie.

REFERENCES

- 1) Lucente A. Biomarkers & Spessore Retinico. *www.ofthalmologiadomani*, Anno XI – 2020.
- 2) del Rio-Hortega P. Microglia, in *Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System*, 1937, pp. 481–534.
- 3) Cajal S.R. (1894). The Croonian lecture: la fine structure des centres nerveux. *Proceedings of the Royal Society of London*, 55: 444-468.
- 4) Somjen GG, Nervenkit: notes on the history of the concept of neuroglia. *Glia*. 1, 2–9 (1988).
- 5) A Newman. Retinal Glia. 2009 Elsevier Ltd. *Encyclopedia of Neuroscience* (2009), vol. 8, pp. 225-232.
- 6) Mitch Glickstein. Golgi and Cajal: The neuron doctrine and the 100th anniversary of the 1906 Nobel Prize. *Current Biology Vol 16 No 5*.
- 7) von Bartheld CS, Bahney J, Herculano S Houzel. The search for true numbers of neurons and glial cells in the human brain: A review of 150 years of cell counting. *J. Comp. Neurol* 524, 3865–3895 (2016).
- 8) Franze, K., Grosche, J., Skatchkov, S.N., Schinkinger, S., Foja, C., Schild, D., Uckermann, O., Travis, K., Reichenbach, A., Guck, J. (2007). Müller cells are living optical fibers in the vertebrate retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 8287–8292.
- 9) Fenge Li, Danye Jiang and Melanie A. Samuel. Microglia in the developing retina. *Neural Development* (2019) 14:12 <https://doi.org/10.1186/s13064-019-0137-x>.
- 10) E A Newman. Retinal Glia. *Encyclopedia of Neuroscience* (2009), vol. 8, pp. 225-232.
- 11) Nicola J. Allen, David A. Lyons. Glia as Architects of Central Nervous System Formation and Function. *Science*. 2018 October 12; 362(6411): 181–185. doi:10.1126/science.aat0473.
- 12) Andreas Bringmann, Thomas Pannicke, Jens Grosche, Mike Francke, Peter Wiedemann, Serguei N. Skatchkov, Neville N. Osborne, Andreas Reichenbach. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Progress in Retinal and Eye Research* 25 (2006) 397–424.
- 13) Boycott BB, Hopkins JM. Microglia in the retina of monkey and other mammals; its distinction from other types of glia and horizontal cells. *Neuroscience*. 1981;6:679–688.
- 14) Fenge Li, Danye Jiang, Melanie A. Samuel. Microglia in the developing retina. *Neural Development* volume 14, Article number: 12 (2019).
- 15) Andreas Bringmann, Thomas Pannicke, Jens Grosche, Mike Francke, Peter Wiedemann, Serguei N. Skatchkov, Neville N. Osborne, Andreas Reichenbach. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Progress in Retinal and Eye Research* 25 (2006) 397–424.
- 16) Chai L, Morris JE. Heparans sulfate in the inner limiting membrane of embryonic chicken retina binds basic fibroblast growth factor to promote axonal outgrowth. *Exp Neurol*. 1999; 160:175-185. REFERENCES31 *oftalmologia-domani Anno XII - 2021*

- 17) Willi Halfter, J. Sebag, and Emmett T. Cunningham Jr. Vitreoretinal Interface and Inner Limiting Membrane. Vitreous: in Health and Disease, DOI 10.1007/978-1-4939-1086-1_11, ©Springer Science+Business Media New York 2014.
- 18) Mozghan Rezaei Kanavi, Masoud Soheilian. Histopathologic and Electron Microscopic Features of Internal Limiting Membranes in Maculopathies of Various Etiologies. *J Ophthalmic Vis Res* 2014; 9 (2): 215-222.
- 19) Heegaard S. Morphology of the vitreoretinal border region. *Acta Ophthalmol Scand Suppl.* 1997; 222:1–31.
- 20) Salzmann as cited by Hogan MJ, Alvarado JA, Weddel JE. Histology of the human eye: an atlas and textbook. Philadelphia: WB Saunders; 1971. 488 p.
- 21) Candiello J, Cole GJ, Halfter W. Age-dependent changes in the structure, composition and biophysical properties of a human basement membrane. *Matrix Biol.* 2010; 29:402–10. PMID: 20362054.
- 22) Da Mata AP, Burk SE, Foster RE, Riemann CD, Petersen MR, Nehemy Má, et al. Long-term follow-up of indocyanine green-assisted peeling of the retinal internal limiting membrane during vitrectomy surgery for idiopathic macular hole repair. *Ophthalmology* 2004; 11: 2246-2253.
- 23) Stefaniotou M, Aspiotis M, Kalogeropoulos C, Christodoulou A, Psylla M, Ioachim E, et al. Vitrectomy results for diffuse diabetic macular edema with and without inner limiting membrane removal. *Eur J Ophthalmol* 2004; 14: 137-143.
- 24) Mandelcorn MS, Mandelcorn E, Guan K, Adatia FA. Surgical macular decompression for macular edema in retinal vein occlusion. *Can J Ophthalmol* 2007; 42:116-122.
- 25) Krásnik V, Strmen P, Stefanicková J, Krajcová P. [Arteriovenous decompression for branch retinal vein occlusion with internal membrane peeling for macular edema]. *Cesk Slov Oftalmol* 2008; 64:57-61. [Article in Slovak].
- 26) Radetzky S, Walter P, Fauser S, Koizumi K, Kirchhof B, Joussen AM. Visual outcome of patients with macular edema after pars plana vitrectomy and indocyanine green-assisted peeling of the internal limiting membrane. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004; 242:273-278.
- 27) Matsunaga N, Ozeki H, Hirabayashi Y, Shimada S, Ogura Y. Histopathologic evaluation of the internal limiting membrane surgically excised from eyes with diabetic maculopathy. *Retina* 2005; 25:311-316.
- 28) Uechi G, Sun Z, Schreiber E, Halfter W, Balasubramani M. A proteomic view of basement membranes from human retinal blood vessels, inner limiting membranes and lens capsules. *J Proteomic Res.* 2014 Aug 1;13(8):3693-3705.
- 29) Matsumoto B, Blanks JC, Ryan SJ. Topographic variations in the rabbit and primate internal limiting membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1984; 1:71–82.
- 30) Matsunaga N, Ozeki H, Hirabayashi Y, Shimada S, Ogura Y. Histopathological evaluation of the inner limiting membrane surgically excised from eyes with diabetic maculopathy. *Retina.* 2005;25:311–6. PMID: 15805908.
- 31) To M, Goz M, Camenzind L, Oertle P, Candiello J, Sullivan M, Henrich PB, Loparic M, Safi F, Eller A, Halfter W. Diabetes-induced morphological, biomechanical and compositional changes of ocular basement membranes. *Exp Eye Res.* 2013; 116:298–307.
- 32) Sonia Mehta, Rui Zhang Hans, E. Grossniklaus. III.J. Cell Proliferation at the Vitreoretinal Interface in Proliferative Vitreoretinopathy and Related Disorders. *Vitreous in Health and Disease*; by J. Sebag. pp 395-405. Springer, New York, NY. First Online: 13 September 2014.
- 33) Foos RY. Posterior vitreous detachment. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 1972; 76: 480.
- 34) Foos RY. Vitreoretinal juncture over retinal vessels. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 1977; 204:223–34. PMID:304681.
- 35) Foos RY. Vitreoretinal juncture over retinal vessels. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 1977; 204:223–34. PMID:304681.
- 36) Sebag J. Vitreous anatomy, aging, and anomalous posterior vitreous detachment. In: Dartt DA, Besharse JC, Dana R, editors. *Encyclopedia of the eye*, vol. 4. Oxford: Elsevier; 2010. p. 307–15.
- 37) Sebag J, Gupta P, Rosen R, Garcia P, Sadun AA. Macular holes and macular pucker: the role of vitreoschisis as imaged by optical coherence tomography/scanning laser ophthalmoscopy. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2007; 105:121–31.

- 38) Sebag J. Vitreoschisis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2008; 246:329–32.
- 39) Takeshi Kita, Taiji Sakamoto, Tatsuro Ishibash. II.D. Hyalocytes: Essential Vitreous Cells in Vitreoretinal Health and Disease. Vitreous pp 151-164. First Online: 13 September 2014. by J. Sebag. pp 395-405. Springer, New York, NY. First Online: 13 September 2014.
- 40) Yurchenco PD. Basement membranes: cell scaffoldings and signaling platforms. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011;3.
- 41) Edwards MM, Lefebvre O. Laminins and retinal vascular development. Cell Adh Migr. 2013; 7(1):82–9.
- 42) Loparic M, Henrich PB. The bi-functional organization of human basement membranes. PLoS One. 2013; 8:e 67660. PMID: 23844050.
- 43) Gass JDM. Vitreous maculopathies. In:Stereoscopic atlas of macular diseases. St Louis: Mosby; 1987. p. 676–713.
- 44) Anne Katrine Toft-Kehlerab, Dorte Marie Skytt, Alicia Svare, Evy Lefevere, Inge Van Hove, Lieve Moons,Helle S. Waagepetersen, Miriam Kolko. Mitochondrial function in Müller cells - Does it matter? Mitochondrion Vol 36, September 2017, Pages 43-5, Elsevier B.V. and Mitochondria Research Society.
- 45) Schumann RG, Schaumberger MM, Rohleder M, Haritoglou CH, Kampik A, Gandorfer A. Ultrastructure of the vitreomacular interface in fullthickness idiopathic macular holes: a consecutive analysis of 100 cases. Am J Ophthalmol 2006; 141:1112-1119.
- 46) Mun Y. Faria, David C. Sousa, Bruna C. Almeida, Andreia L. Pinto, and Nuno P. Ferreira. Morphology of Peeled Internal Limiting Membrane in Macular Hole Surgery. Hindawi Journal of Ophthalmology Vol 2019, Article ID 1345683, 6 pages <https://doi.org/10.1155/2019/1345683>.REFERENCES32 oftalmologiadomani Anno XII - 2021
- 47) Baker M. “Cellular imaging: Taking a long, hard look”. Nature. 466 (7310): 1137–40. August 2010.
- 48) Landecker H (October 2009). “Seeing things: from microcinematography to live cell imaging”. Nature Methods.
- 49) Lucente A. La tonometria biomeccanica. oftalmologiadomani - N. 1 - Anno 2015. A.
- 50) Yu-Wai-Man P, Bailie M, Atawan A, Chinnery PF, Griffiths PG. Pattern of retinal ganglion cell loss in dominant optic atrophy due to OPA1 mutations. Eye (Lond) 2011; 25: 596-602.
- 51) Majander A, Robson AG, João C, Holder GE, Chinnery PF, Moore AT, Votruba M, Stockman A, Yu-WaiMan P. The pattern of retinal ganglion cell dysfunction in Leber hereditary optic neuropathy. Mitochondrion. 2017; 36: 138-149.
- 52) Dai Y, Wang C, Nie Z, Han J, Chen T, Zhao X, Ai C, Ji Y, Gao T, Jiang P. Mutation analysis of Leber’s hereditary optic neuropathy using a multi-gene panel. Biomed Rep 2018; 8: 51-58.
- 53) Chun BY, Rizzo JF 3rd. Dominant Optic Atrophy and Leber’s Hereditary Optic Neuropathy: Update on Clinical Features and Current Therapeutic Approaches. Semin Pediatr Neurol 2017; 24: 129-134.
- 54) Bringmann A, Iandiev I, Pannicke T, Wurm A, Hollborn M, Wiedemann P, Osborne NN, Reichenbach A. Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis: neuroprotective and detrimental effects. Prog Retin Eye Res 2009; 28: 423-451.
- 55) Vecino E, Rodriguez FD, Ruzafa N, Pereiro X, Sharma SC. Glia-neuron interactions in the mammalian retina. Prog Retin Eye Res 2016; 51: 1-40.
- 56) Bringmann A, Grosche A, Pannicke T, Reichenbach A. GABA and Glutamate Uptake and Metabolism in Retinal Glial (Müller) Cells. Front Endocrinol (Lausanne) 2013; 4:48.
- 57) Skytt DM, Toft-Kehler AK, Brændstrup CT, Cejvanovic S, Gurubaran IS, Bergersen LH, Kolko M. GliaNeuron Interactions in the Retina Can Be Studied in Cocultures of Müller Cells and Retinal Ganglion Cells. Biomed Res Int 2016; 2016: 1087647.
- 58) Reichenbach A, Bringmann A. Glia of the human retina. Glia 2020 Apr;68(4):768-796-. doi: 10.1002/glia.23727. Epub 2019 Dec 3.
- 59) Daniel X. Hammera, Anant Agrawal, Ricardo Villanueva, Osamah Saeedi, and Zhuolin Liu. Label-free adaptive optics imaging of human retinal macrophage distribution and dynamics. Article in Proceedings of the National Academy of Sciences. November 2020.
- 60) A. Lucente. L’evoluzione degli OCT. Oftalmologia domani - N. 3 - Anno 2010.
- 61) Z. Liu, K. Kurokawa, F. Zhang, J. J. Lee, D. T. Miller, Imaging and quantifying ganglion cells and other transparent neurons in the living human retina. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 114, 12803–1280.

Finito di stampare nel mese di Maggio 2021
dal Centro Stampa La Tipografica di Palermo
per conto della Edizioni Danaus