

A retina szerkezet, valamint a retinális neurodegeneráció vizsgálata optikai koherencia tomográfiával

Doktori tézisek

Dr. Varga Boglárka Enikő

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Somfai Gábor Márk, Ph.D., egyetemi adjunktus

Konzulens: Delia DeBuc, Ph.D., Associate Professor, Bascom Palmer Eye Institute, University of Miami, USA

Hivatalos bírálók: Dr. Dégi Rózsa, Ph. D., egyetemi docens
Dr. Szabó Antal, Ph. D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Kempler Péter, az MTA tagja, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Arányi Zsuzsanna, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Gombos Katalin, Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest
2018

1. Bevezetés

Az optikai koherencia tomográfia (OCT) a szemészetben az egyik leggyakrabban alkalmazott képalkotó-eljárás, mely az elülső és hátsó szegmentum vizsgálatában is kiemelt jelentőségű, számos esetben terápiás döntést befolyásoló szereppel is bír. Ez a non-invazív vizsgálati módszer az alacsony koherenciájú interferometrián alapul és a retinaszövet reflektancia különbségei alapján kb. 2-3 mikron mélységi felbontással a retina keresztmetszeti leképezésére (B-scans képalkotásra) ad lehetőséget. A B-scanelek szegmentációja a retina rétegekre bontott feltérképezését teszi lehetővé, ami a retina szövetét felépítő különböző sejtek, sejtrétegek közötti információcsere megértésében is segítséget nyújthat. A retina és retinarétegek vastagságának objektív mérésén túl, a módszer lehetőséget ad a vizsgált szövet textúrájának, optikai tulajdonságbeli változásának a kimutatására és mérésére is a B-scanelek alapján. Ilyen paraméter lehet többek között a teljes retinaszövet vagy egy adott retinaréteg reflektivitása, kontrasztja, fraktáldimenzió értéke. Bizheva és munkatársai 2006-ban közölt munkája alapján ismert, hogy a retina rétegek OCT-vel kimutatható optikai tulajdonságai a sejtek metabolikus aktivitása következtében változhat, Huang és kutatócsoportja pedig a retinális idegrostréteg (RNFL) reflektanciájának korai változásait figyelte meg a glaucoma patkánymodelljében. A retinarétegek vastagságának és az optikai paraméterek változásának megismerésével lehetőség nyílt a patológias folyamatok kimutatására, az egészséges szemektől való elkülöníthetőségre. Mindez nagyban elősegíthetné egyes retinabetegségek diagnosztikáját, követését, a kezelés hatékonyságának megítélését, valamint támaszt nyújthatna a terápiás döntések esetében is.

Az eddig széles körben alkalmazott time-domain OCT-k (TD-OCT) helyét egyre inkább átveszik a jóval gyorsabb és pontosabb eredményt adó spectral-domain OCT-k (SD-OCT). A kereskedelmi forgalomban jelenleg elérhető készülékek a retina teljes vastagságának mérésére, valamint a rétegek korlátozott mértékű szegmentációjára alkalmasak. A gyári szoftverek automatikus mérései azonban a műtermékek jelenléte miatt számos esetben hibásak lehetnek. Ezen műtermékek lehetnek az optikától függőek vagy a gyári szoftverből eredőek, illetve a TD és SD-OCT-k jellemző műtermékei is eltérhetnek egymástól. Ismert az is, hogy patológias állapotokban, mint például a diabeteses macula oedema, az időskori macula degeneratio, az uveitis vagy a súlyos myopia, az automatikus vastagságmérésben alkalmazott határkijelölés gyakrabban ejt hibát. Az OCT vizsgálat során fontos a vizsgált

szem távolságát megfelelően beállítani, azonban ennek a pontos szerepét a műtermékek jelenléte kapcsán korábban nem vizsgálták.

A TD-OCT esetében a gyári szoftver nem volt alkalmas a retina rétegeinek elkülönített méréseire, az SD-OCT készülékeknél pedig a mért rétegmérési adatok külső feldolgozásra csak nehezen hozzáférhetőek. Emiatt a munkacsoportok vizsgálataikhoz kezdetben az OCT képek feldolgozásához a jelenleg is arany standardnak számító manuális szegmentációt alkalmazták. Ezen szegmentációs formának hiányossága, hogy rendkívül időigényes, jelentős különbségek tapasztalhatóak két különböző operátor kiértékelése között is, valamint kis mennyiségű adat feldolgozását teszi csak lehetővé. Az automatikus szegmentációs módszerek ezen tényezők kiküszöbölésével jelentős segítséget nyújthatnak. A TD-OCT leképezéseinek automatikus szegmentációjával több kutatócsoport is foglalkozott, többek között Dr. DeBuc és munkatársai is. Vizsgálatainkban ezen, a Miami Egyetem Bascom Palmer Eye Institute munkatársai által fejlesztett OCT Retinal Image Analysis (OCTRIMA) elnevezésű OCT képfeldolgozó szoftvert alkalmaztuk. Ez az A-scan alapú szegmentációs szoftver félautomatikusnak mondható, mivel a gépi szegmentáció után lehetőség és szükség is van a szegmentáció esetleges hibázása esetében a kijelölés kézi finomítására is. Az SD-OCT széleskörű klinikai alkalmazása azonban a gyorsabb és nagyobb mennyiségű adat kinyerésével újabb feladat elé állította a szegmentációs szoftverek fejlesztőit. A jelenleg alkalmazott automatikus szegmentációs módszerek számára a kép zajossága, a retinális erek, illetve a különböző patológiás állapotok még mindig nehézséget okoznak. Mindezen kihívásoknak egyaránt eleget tevő algoritmus jelenleg nem elérhető sem kutatási célú, sem pedig kereskedelmi célú alkalmazásban.

Az OCT kép szegmentáció eredményének megértésével közelebb kerülhetünk nem csupán a retina kórélettanának, hanem a központi idegrendszer kórállapotainak a megértéséhez is. Mivel a retina a központi idegrendszer része, felépítése sokban tükrözi az agyi struktúrákat. A szisztémás idegrendszeri betegségek a retinában okozott változásainak megismerésével egy jóval könnyebben mérhető és követhető, a betegségre jellemző paraméter meghatározására adna lehetőséget, melyet később, a klinikai gyakorlatban is alkalmazni lehetne.

A sclerosis multiplex (SM) a központi idegrendszer krónikus gyulladáshoz vezető folyamata, ami az idegrostok demyelinisatióval és axondegenerációval jár. A leggyakoribb fiatalkorban kezdődő neurológiai megbetegedés, amely a kereső korú lakosság körében maradandó

rokkantsághoz és idő előtti nyugdíjazáshoz vezethet. Az esetek 20%-ában a betegség először a látóideg akut gyulladása formájában jelenik meg, azonban a gyulladás a betegek mintegy 50%-ában a SM lefolyása folyamán is kialakul. A betegség diagnosztikája és terápiájának követése jelenleg a klinikai, laboratóriumi (liquor), radiológiai (MRI) és elektrofiziológiai (vizuális kiváltott válasz) kép alapján történik.

A látóideg-gyulladás (ON) akut szakát követően az idegrostréteg (RNFL) vastagságában és a ganglionsejt–belső plexiformis réteg komplexum (GCL+IPL) vastagságában csökkenést tapasztaltak a gyulladás kezdetétől számított 3 hónap, illetve 5 hét után. A GCL+IPL szignifikáns csökkenését nem csupán az érintett, hanem a társszemekben is megfigyelték, egészséges szemekhez képest. Green és munkatársai post mortem vizsgálatában szövettani változásokat nem csak a ganglionsejt rétegben, hanem a belső nukleáris rétegben (INL) is találtak. A SD-OCT képek szegmentációjával a belső és a külső retinarétegek vékonyodását is leírták sclerosis multiplexben, és a retina szerkezeti változásai és a központi idegrendszerben bekövetkező változások között is összefüggést láttak. Több vizsgálat korrelációt talált a GCL+IPL vastagság és a látóélesség között, a GCL+IPL vastagság és az EDSS értékek között, de kapcsolatot fedeztek fel a GCL+IPL vastagsága, az elektrofiziológiai és MRI paraméterek között is. Mindez arra utal, hogy ezen réteg változásának követése a neurodegeneráció követésében is fontos szerepet játszhat a jövőben.

A diabetes mellitus (DM) egy krónikus anyagcsere-betegség, mely a fejlett, nyugati világ, de egyre inkább a fejlődő világ népbetegségévé is kezd válni. A betegség kialakulásának folyamatos növekedésével egyre nagyobb egészségügyi kihívást, gazdasági és társadalmi terhet jelent. A DM szövődményeként kialakuló diabeteses retinopathia (DRP) a felnőttkori látásvesztés vezető okát jelenti a fejlett országokban.

Az OCT alkalmazásával a cukorbetegség hátsó pólust érintő szövődményei, leginkább a diabeteses macula oedema jelenléte és változása válik kimutathatóvá, néha olyan esetekben is, amikor a biomikroszkópia és az angiográfia még nem mutatnak eltérést. Az OCT képek szegmentációjával lehetővé válik a retinában zajló szöveti szintű változások kimutatása, elsősorban a maculát érintő elváltozások korai szakaszában. Korábbi vizsgálatok a teljes retina elvékonyodását írták le 1-es típusú DM betegek enyhe, nem proliferatív diabeteses retinopathiával (MDR) érintett szemeiben, az egészséges kontrollokhoz képest. Ezen csökkenés mögött a retina belső rétegeinek elvékonyodását találták. Ezenkívül kimutatták a GCL elvékonyodását a macula pericentrális területén, cukorbetegben, és ezzel összefüggésben a látófunkció csökkenését is. Munkacsoportunk egy korábbi tanulmánya DRP

nélküli, valamint MDR-t mutató szemek összehasonlításával az MDR csoportban csökkent RNFL vastagságot mutatott a macula pericentrális és a perifériás régióiban, valamint csökkent GCL+IPL vastagságot a macula pericentrális régiójában. Akshikar és mtsai a külső retinarétegek elvékonyodását tapasztalták azonos korú egyének macula vastagságának összehasonlításával. Ezek a vizsgálati eredmények arra utalnak, hogy OCT vizsgálattal már a korai, enyhe DRP esetében is kimutatható a neurodegeneratív folyamatok jelenléte a retinában.

2. Célkitűzések

1. A retina rétegeiben bekövetkező vastagságbeli és optikai tulajdonságbeli változások vizsgálata 1-es típusú cukorbetegség esetén.

Vizsgálatunk céljával az 1-es típusú DM esetében feltételezett neurodegenerációs folyamatok lehetséges hatásainak feltérképezését tűztük ki a retinában. A macula szerkezetében tapasztalható vastagságbeli változások mellett a különböző optikai paraméterek segítségével kimutatható változásokat is meg szeretnénk volna figyelni. A vizsgálatunkban alkalmazott optikai tulajdonságok a retina rétegeinek reflektivitása alapján számítható rétegindex, valamint a szöveti változások leírásában fontos szerepet játszó fraktáldimenzió paraméterek voltak. Emellett célul tűztük ki az enyhe non-proliferatív DRP-ben kialakuló szerkezeti eltérések összehasonlítását DRP-ben nem szenvedő, cukorbeteg alanyok szemeivel.

2. A retina rétegeiben bekövetkező vastagságbeli és optikai tulajdonságbeli változások vizsgálata sclerosis multiplexben.

Célunk az SM következtében a maculában kialakuló rétegvastagságbeli, valamint optikai tulajdonságbeli változások megismerése volt a retinarétegek teljes reflektivitásának, az ezen alapuló rétegindex, a kontraszt, valamint a fraktáldimenzió paraméterek mérésén keresztül. Vizsgálatainkat látóideg-gyulladásos átesett és át nem esett szemekben végeztük.

3. A vizsgálati távolság szerepe SD-OCT készülékkel végzett retina határkijelölés és vastagság mérés hibáiban

Vizsgálatunk célja annak megfigyelése volt, hogy a vizsgálati távolsági beállítások mennyiben lehetnek befolyással a felfogott SD-OCT kép minőségére, valamint az eszköz beépített szoftverének retinahatár kijelölési hibáira. Kutatásunkat egészséges, valamint DME-

ben és az időskori macula degeneratio (AMD) nedves formájában szenvedő szemekben is elvégeztük.

4. A macularis régió SD-OCT képeinek automatikus szegmentációját végző szoftver tesztelése.

Az SD-OCT készülék által generált leképezések feldolgozására a korábbi képelemző szoftverünk után létrehoztuk az OCTRIMA 3D képelemző szoftvert. Célunk az új alkalmazás automatikus határkijelölési eredményeinek összehasonlítása volt az arany standardnak tekintett manuális szegmentációs módszerrel, illetve ugyanazon mintán megvizsgáltuk a feldolgozási sebességet más, hasonló szoftverek esetében is.

3. Módszerek

1. A retina rétegeiben bekövetkező vastagságbeli és optikai tulajdonságbeli változások vizsgálata 1-es típusú cukorbetegség esetén.

Prospektív vizsgálatunkba 58, 1-es típusú cukorbeteg egyént vontunk be, akiknél a retinopathia nem volt diagnosztizálható vagy enyhének volt minősíthető (az ETDRS által megállapított 35-ös szint alattinak megfelelően, szemfenék tükrözéses vizsgálattal csak microaneurysmák voltak láthatóak, kemény exsudátumok, gypottépés gócok és/vagy enyhe retinális vérzés már nem). Kizárási kritériumnak tekintettük a proliferatív retinopathiát, a klinikailag szignifikáns diabetese macula oedemát (CSME), valamint a macula struktúrájának megítélését befolyásoló szembetegségeket, mint a glaucoma, vitreo-retinális trakció vagy az epiretinális membrán. A vizsgált szemeket két részre osztottunk az alapján, hogy enyhe retinopathia érintette-e a szemüket. Az érintett csoportot (MDR) 29 egyén 43 szeme alkotta (nők aránya:49%, átlag életkor: 43 ± 17 év), míg a nem érintett csoportba (DM) 29 egyén 38 szeme tartozott (nők aránya: 53%, átlagéletkor: 35 ± 10 év). Kontroll csoportnak (H) 41 egészséges egyén 74 szemét választottuk (nők aránya:70%, átlag életkor: 34 ± 12 év), akiknek látóélessége jobb volt, mint 0,8; szemészeti vagy szisztémás betegségük az anamnézisük alapján nem volt, valamint a maculájuk egészségesnek látszott a szemfenék tükrözéses vizsgálata alkalmával.

A vizsgálatban résztvevő alanyok részletes szemészeti vizsgálatban részesültek, mely a szemészeti anamnézis felvételét, a legjobb korrigált látóélesség vizsgálatát, a réslámpás vizsgálatot, szemnyomásmérést Goldmann tonométerrel, szemfenék tükrözését, valamint 2 standard területű (macula- és papillacentrál) sztereoszkópikus fundusfotó készítését

tartalmazta. A fundusképeket az ETDRS protokollokon alapuló nemzetközi klinikai DRP és DME súlyossági besorolás alapján osztályoztuk. Ezután került sor a macula vizsgálatára Stratus OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) készülék „Macular Thickness Map” protokolljának alkalmazásával. A nyers OCT képeket az OCTRIMA szoftverrel dolgoztuk fel. Ezután minden szem esetében meghatároztuk az RNFL, GCL+IPL, INL, a külső plexiformis réteg (OPL), a külső nukleáris réteg és a fotoreceptor belső szegmentum komplexum (ONL+IS), fotoreceptor külső szegmentum (OS), a retinális pigmentepithelium (RPE) és a teljes retina vastagságát, a rétegindeks és fraktáldimenzió paraméterek értékét, egy e célra fejlesztett szoftver segítségével. A számításokat a teljes macula, valamint a macula három koncentrikusan elhelyezkedő területére (fovea, parafovea és perifovea) vonatkozóan is elvégeztük.

A csoportok vastagsági, rétegindeks és fraktáldimenzió értékeinek összehasonlításához egy szempontú ANOVA-t, majd Newman-Keuls post-hoc analízist végeztünk, illetve AUROC értéket számítottunk az MDR betegek elkülönítésére a másik két csoporttól, minden esetben. A statisztikai szignifikancia határának a $p < 0,001$ -et tekintettük. A vastagsági, rétegindeks és fraktáldimenzió értékek esetén ROC görbét alkottunk, a DRP betegeket elkülönítendő a H és az MDR csoportoktól. Az AUROC számításához és a statisztikai analízishez az SPSS 16 és 17 verzióit (SPSS Inc, Chicago, Illinois) alkalmaztuk.

2. A retina rétegeiben bekövetkező vastagságbeli és optikai tulajdonságbeli változások vizsgálata sclerosis multiplexben.

A keresztmetszeti eset-kontroll vizsgálatunkban a McDonald kritériumok alapján diagnosztizált, SM remisszáló-remittáló (RRMS) formájába tartozó betegek szemeinek vizsgálatát végeztük, egészséges kontroll csoport alkalmazásával. A betegek szemeit két vizsgálati csoportba osztottuk a 6 hónapnál korábbi anamnézisükben szereplő látóideggyulladás klinikai diagnózisa alapján. Az MSON- csoportot 25 beteg 31 szeme alkotta (nők aránya: 56%, átlag életkor: 34 ± 9 év, betegségstartam: 71 ± 51 hónap), akiknek szemét látóideggyulladás nem érintette. A másik, a gyulladással érintett MSON+ csoportot 26 beteg 36 szeme alkotta (nők aránya: 73%, átlag életkor: 34 ± 9 év, betegségstartam: 72 ± 51 hónap). A kontroll csoportot 24 egészséges, kor és nem szerint megfeleltetett egyén 29 szeme alkotta (nők aránya: 62,5%, átlag életkor: 33 ± 9 év.), akiknek legjobb korrigált látóélessége 1,0, valamint általános vagy szemészeti betegségük nem volt.

A vizsgálatban résztvevő alanyok részletes szemészeti vizsgálatban részesültek, mely a szemészeti anamnézis felvételét, a legjobb korrigált látóélesség vizsgálatát, a réslámpás

vizsgálatot, szemnyomásmérést Goldmann tonométerrel, szemfenék tükrözését és kritikus fúziós frekvencia (CFF) vizsgálatot tartalmazta. Ezután került sor a macula vizsgálatra Stratus OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) készülék „Macular Thickness Map” protokolljának alkalmazásával. A nyers OCT képeket az OCTRIMA szoftverrel dolgoztuk fel. Minden szem esetében meghatároztuk az RNFL, a GCL+IPL, a ganglionsejt (GCC, RNFL+GCL+IPL), az INL, az OPL, az ONL+IS, az OS, az RPE és a teljes retina vastagságát, a teljes reflektivitási, kontraszt, fraktáldimenzió és rétegindex paraméterek értékét az előző vizsgálat esetében is alkalmazottak szerint.

A vastagsági és optikai paraméter értékeket a csoportok között „mixed model ANOVA” analízissel hasonlítottuk össze, az SM-betegek mindkét szemének bevonásából adódó hibák kizárása érdekében. A szignifikancia határának a $p < 0,001$ értéket tekintettük, a nagyszámú összehasonlítások miatt. A statisztikai analízishez az SPSS 16 verzióját alkalmaztuk.

3. A vizsgálati távolság szerepe SD-OCT készülékkel végzett retina határkijelölés és vastagság mérés hibáiban

Keresztmetszeti (cross-sectional) vizsgálatunkban 30 személy 30 szemének RTVue OCT-100 (Optovue, Fremont, CA, USA) SD-OCT készülékkel nyert eredményeit hasonlítottuk össze két vizsgálati távolság esetében. A szemeket három vizsgálati csoportba osztottuk: a Normál csoportot 10 egészséges egyén 10 szeme alkotta, a DME csoportot 10 cukorbeteg egyén 10 macula oedemával érintett szeme, az AMD csoportot pedig 10 időskori macula degeneratio nedves típusába tartozó beteg 10 érintett szeme. Mindkét szem érintettsége esetében véletlenszerűen választottuk ki valamelyiket a vizsgálati csoportba.

A vizsgálatban résztvevő alanyok részletes szemészeti vizsgálatban részesültek: a legjobb korrigált látóélesség vizsgálata, a macula OCT vizsgálata, a réslámpás vizsgálat, szemnyomásmérés Goldmann tonométerrel és végül a szemfenék tükrözése pupillatágítással. A kontakt szemnyomásmérést az OCT vizsgálat után végeztük el, az ebből adódó esetleges szaruhártya borússág elkerülése céljából.

A macula SD-OCT vizsgálatát a készülék MM5 módú leképezésével végeztük, minden egyén esetében két eltérő beállítással, a pupilla tágítása nélkül, a szemfenék vizsgálatát megelőzően. Az első, szuboptimális beállítás esetén a gépet 3,5 cm-re állítottuk a szemfelszíntől, amikor a funduskép még hiányosan jelent meg, a perifériás árnyékolás miatt. A második, optimális beállítás mellett a gép 2,5 cm távolságra helyezkedett el a

szemfelszíntől, ahonnan minden esetben jó minőségű funduskép volt kinyerhető. A két vizsgálatot legalább 5 perc különbséggel végeztük el. A vizsgálati tulajdonságok a beépített szoftver „Optimize” gombjának a megnyomásával lettek optimalizálva a leképezés előtt, mindkét esetben.

Minden szem esetében dokumentáltuk a jelerősségi indexet (SSI) és a regionális vastagsáértékeket. A retina határainak kijelölésében tapasztalt hibák (RBDE) osztályozását a Satta et al. 2006-os közleményén alapuló, átdolgozott protokoll alapján végeztük. Minden szem esetében 5 vertikális és 5 horizontális scan pontozását végeztük el, és ezek összértékével jellemeztük az adott leképezést. Az SSI és az RBDE értékek közötti összefüggés vizsgálatára lineáris korrelációt alkalmaztunk, valamennyi vizsgálati csoport és beállítás bevonásával. Wilcoxon teszt segítségével végeztük el az SSI, RBDE és regionális retinavastagság összehasonlítását a két beállítás között. A teljes vizsgálati csoport és az egyes betegcsoportok esetén osztályon belüli korrelációs koefficiens (ICC, 95%-os konfidencia intervallum) számítását, majd a konfidencia intervallumok direkt összehasonlítását végeztük el. A statisztikai analízishez Statistica 8.0-t (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA) és SPSS 19 szoftvereket alkalmaztuk. A szignifikancia határának $p < 0,05$ -ot tekintettük.

4. A maculáris régió SD-OCT képeinek automatikus szegmentációját végző szoftver vizsgálata.

Tanulmányunkat több vizsgálati csoport bevonásával végeztük, manuális és négy automatikus szegmentációs szoftver alkalmazásával.

A szegmentációk közötti eltérések objektív leírásához három mérőszámot határoztunk meg: a jelzett hibát (SE), az átlagos nem jelzett hibát (MUE) és a nem jelzett hiba 95%-át (E95). A SE az automatikus szegmentáció a manuálistól való eltérésének eredményei közötti torzítást és variabilitást mutatja az átlagértéken (MSE) és annak standard deviációján (SSE) keresztül. Az MUE az automatikus és a manuális szegmentáció közötti különbség abszolútértékének átlagát mutatja. Az E95 a nem jelzett hibák felső határát jelzi, a legmagasabb értékek 5%-ának eltávolítása után.

A statisztikai számításokban minden esetben párosított t-próbát alkalmaztunk. A szignifikancia határának $p < 0,001$ -et tekintettük. A számításokat az SPSS 19-es verziójával végeztük.

A vizsgálat *első részében* 10 egészséges egyén 1-1 szemének térfogati scanjeit dolgoztuk fel. A beválasztási kritériumok a következők voltak: legjobb korrigált látóélesség

legalább 0,8, szisztémás és szemészeti betegségek hiánya, valamint szemtükrözéses vizsgálattal egészségesnek látszó macula. Az alanyok vizsgálatát a Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) IR+OCT 30° felvételi módjával végeztük, a TruTrack™ active eye tracking technológia alkalmazása mellett (leképezésenként 5 B-scan értékeinek átlagolásával, ART=5) a kép kontrasztjának növelése és a háttérzaj csökkentése céljából.

A manuális szegmentációt két független operátor végezte, minden egészséges szem esetében a térfogati leképezésből (61 B-scan) véletlenszerűen kiválasztott 10 scanen, melyek közül legalább kettő a foveális területen futott át. A két kézi szegmentáció összehasonlításánál az 1.operátor szegmentációját tekintettük alapnak és a 2. operátor szegmentációjának, valamint az OCTRIMA3D rétegekijelölésének ettől való eltérését vizsgálatuk.

Az OCTRIMA3D, az IOWA referencia algoritmus, valamint a Dufour-féle szoftver szegmentációjának összehasonlítását az OCTRIMA 3D-nek megfelelő ILM, az RNFL_o, az IPL-INL, az OPL_o, az IS-OS és az RPE-CH határvonalak/határfelületek szegmentációs eredményének felhasználásával végeztük, a manuális szegmentáció kijelölését használva arany standardként. A különbségeket a 9 ETDRS régióban hasonlítottuk össze, kvalitatív és kvantitatív értékek alapján.

A vizsgálat *második részében* az OCTRIMA 3D és az alapjául szolgáló Chiu-féle algoritmus összehasonlításához ugyanazon, 10 egészséges egyén Bioptigen SD-OCT (Bioptigen Inc., Morrisville, Észak-Karolina, USA) alkalmazásával nyert 100 B-képének szegmentációját végeztük el, mint amelyet Chiu munkacsoportja is elemeztek saját algoritmusuk tesztelésekor. A 2010-es tanulmányukban közölt manuális szegmentációt alkalmaztuk az összehasonlítás alapjául, mellyel algoritmusunk működési idejének potenciális javulását kívántuk értékelni.

A kutatás *harmadik részében* két kóros elváltozást mutató SD-OCT térfogati scant használtunk az OCTRIMA 3D szegmentációs képességének teszteléséhez patológias állapotok esetében. Ehhez egy diabeteses macula oedemás és egy száraz típusú időskori macula degeneratios beteg OCT adatait dolgoztuk fel algoritmusunkkal. Az OCTRIMA 3D szegmentációját az első esetben a Spectralis OCT beépített Spectralis 6.0 automatikus szegmentációs szoftverének eredményéhez, a második esetben a Dufour-féle algoritmus eredményéhez hasonlítottuk.

4. Eredmények

1. A retina rétegeiben bekövetkező vastagságbeli és optikai tulajdonságbeli változások vizsgálata 1-es típusú cukorbetegség esetén.

1.1. A retina rétegeiben bekövetkező vastagságbeli változások vizsgálata

Az átlagos rétegvastagság MDR és az egészséges csoport között szignifikáns csökkenést mutatott a teljes retina vastagságot vizsgálva, valamint a GCL+IPL, az OPL és az OS rétegekben. A foveális régióban a GCL+IPL, INL rétegek nagyfokú vastagodását, míg az OPL réteg vékonyodását láttuk, ugyanezen összehasonlításban. A parafoveális régióban az RNFL és a GCL+IPL, míg a perifoveális régióban az RNFL és az OS szignifikáns változását találtuk az MDR csoportban.

Az MDR csoportban szignifikánsan kisebb értékeket kaptunk a DM csoporthoz képest a teljes retina, az OPL, az OS és RPE rétegek átlagos vastagságának az esetében. Mindhárom vizsgálati régióban az RNFL és OS szignifikáns csökkenését láttuk; a foveális régióban ezen kívül az OPL, míg a parafoveális régióban a GCL+IPL csökkenését is találtuk, az előbbi összehasonlításban.

Az AUROC vizsgálat alapján az MDR és egészséges csoport elkülöníthetőségére leginkább alkalmas paraméter a teljes maculaterület esetében és a foveális régióban az OPL. Az MDR és DM közötti legjobb elkülöníthetőségre minden régióban az OS réteget láttuk, kivéve a foveális régiót, ahol az RNFL-t találtuk az alkalmasabbnak.

1.2. A retina rétegeiben bekövetkező optikai tulajdonságbeli változások vizsgálata a rétegindex paraméteren keresztül

A rétegindex paraméterek jelentős különbségét találtuk az MDR csoport és az egészséges csoport összehasonlításakor az RNFL, GCL+IPL, INL, OPL és OS rétegekben, valamennyi régióban, a foveális INL kivételével. Ezen kívül a parafoveális régió ONL+IS rétegében is kifejezett csökkenést mértünk.

A rétegindex értékek szignifikáns különbséget mutattak az MDR szemekben a DM szemekhez képest a GCL+IPL, INL, OPL és OS rétegekben a teljes, foveális és parafoveális régióban, az RNFL rétegben a parafoveális és perifoveális régióban, valamint az INL, OPL és OS rétegekben a perifoveális régióban.

Az AUROC vizsgálat alapján az MDR és egészséges csoport elkülöníthetőségére leginkább alkalmas paraméter a GCL+IPL az összes vizsgált területen, a perifoveális

kivételével; illetve az OPL a teljes maculát és a foveális régiót tekintve. Az MDR és DM közötti elkülönítésre minden régióban az OS réteg tűnt a legerősebbnek.

1.3. A retina szerkezetében bekövetkező változások vizsgálata a fraktáldimenzió keresztül

A fraktáldimenzióknak a macula teljes területére számított átlagértéke szignifikánsan különbözött az MDR csoportban az egészséges csoporthoz képest a GCL+IPL, INL, OPL, OS rétegekben a teljes macula és a foveális régió esetében. Emellett még jelentős növekedést tapasztaltunk az RNFL rétegben a teljes maculára vetítve és a parafoveális régióban, illetve az OS rétegben a parafoveális és perifoveális régiókban.

Az MDR csoport a DM csoporthoz képest szignifikáns különbséget mutatott az RNFL, GCL+IPL, OPL, OS rétegekben a macula teljes területét és a foveális régiót vizsgálva. A teljes maculaterületen ezen kívül az RPE is kifejezetten eltért. A parafoveális régióban az RNFL, GCL+IPL és OS, míg a perifoveális régióban az OS és RPE rétegek mutattak szignifikáns változást a két csoport között.

Az AUROC vizsgálat alapján az MDR és az egészséges csoport elkülöníthetőségére a teljes maculaterület és a foveális régió esetén a GCL+IPL; míg a DM és az egészséges csoport esetén a teljes maculaterületre és a fovea területére vonatkoztatott INL vastagság adtak lehetőséget.

2. A retina szövettani rétegeiben bekövetkező vastagságbeli és optikai tulajdonságbeli változások vizsgálata sclerosis multiplexben.

Az RNFL, GCL+IPL és GCC rétegek szignifikáns elvékonyodását találtuk minden összehasonlításban, az összes vizsgált régióban, a foveoláris és a foveális régió kivételével. A foveális régió esetében az MSON+ csoport szignifikáns különbséget mutatott az egészséges és MSON- csoportokhoz képest a GCL+IPL és a GCC rétegekben, illetve az egészséges csoporthoz képest az RNFL rétegben is.

A teljes maculára vonatkoztatott átlagos kontrasztértékeket szignifikánsan magasabbnak láttuk az MSON+ csoportban az RNFL, GCL+IPL, GCC, INL, OPL rétegekben a másik két csoporthoz képest. Kifejezetten magasabb értékeket mértünk a foveális régió GCL+IPL és GCC rétegeiben az MSON+ csoport szemében a másik két vizsgálati csoporthoz képest, valamint az INL rétegben az MSON+ csoportban az egészséges csoporthoz képest. A GCL+IPL kontrasztértéke a parafoveális régióban mindhárom csoport között szignifikáns különbséget mutatott, míg az RNFL és GCC rétegek is szignifikánsan különböztek az MSON+ és az egészséges csoport között. A perifoveális régióban az RNFL,

GCL+IPL és GCC rétegek esetén jelentős különbséget tapasztaltunk mindhárom vizsgálati csoport szemei között.

A fraktáldimenziót szignifikánsan nagyobbak mértük az MSON+ csoportban az egészséges csoporthoz képest a teljes macula területén a GCL+IPL és INL rétegekben, a foveális régió INL rétegében, valamint a perifoveális régió GCL+IPL rétegében. A MSON- és H csoport között pedig a parafoveális régióban az OPL mutatott jelentős különbséget

A rétegindex és teljes reflektivitás értékek is szignifikáns különbséget mutattak az RNFL, GCL+IPL és GCC rétegekben három csoport között a teljes, a parafoveális és perifoveális régiókban. A foveális régióban az MSON+ szemekben mindkét paraméternek alacsonyabb értéket mértünk a GCL+IPL és GCC rétegekben, valamint az MSON+ szemekben az MSON- csoporthoz képest a GCL+IPL rétegben.

3. A vizsgálati távolság szerepe SD-OCT készülékkel végzett retina határkijelölés és vastagság mérés hibáiban

Az SSI szignifikánsan alacsonyabb volt a szuboptimális beállítások mellett az optimálisban látottakhoz képest ($63,9 \pm 12,0$ vs. $68,3 \pm 12,2$, $p=0,001$). Az RBDE-k száma szignifikánsan magasabb volt a szuboptimális, mint az optimális beállításnál a teljes scant tekintve, az "Összes szem", a Normál és DME csoportokban ($9,1 \pm 6,5$ vs. $6,8 \pm 6,3$, $p = 0,007$, $4,4 \pm 2,6$ vs. $2,5 \pm 1,6$, $p = 0,035$ és $9,7 \pm 3,3$ vs. $5,1 \pm 3,7$, $p = 0,008$). A periféria szelektív vizsgálatok az "Összes szem" csoportban és a DME csoportban az optimális beállítás mellett ($2,7 \pm 2,6$ vs. $4,2 \pm 2,8$, $p = 0,001$ és $1,4 \pm 1,7$ vs. $4,1 \pm 2,2$, $p = 0,007$) szignifikánsan kevesebb RBDE volt látható.

Az RBDE-k ICC értéke az egészséges és a DME csoportok esetében különbséget mutatott mindhárom vizsgálati területen (teljes scant, centrális és perifériás rész rendre 0,337; 0,476; 0,206 valamint 0,281; 0,432; 0,253), míg az összes szem csoportját tekintve csak enyhe különbség volt tapasztalható a perifériális régió és a teljes scant esetében (0,591; 0,718)

Az SSI és az RBDE-k száma között szignifikáns negatív korrelációt találtunk az előző három csoport esetében, a teljes scant, valamint annak centrális 3 mm-es területét tekintve.

Az AMD csoportban az RBDE-k száma jelentősen magasabb volt a többi csoporthoz képest, számukban nem volt különbség az optimális és a szuboptimális beállítások között. A hibák SSI-től függetlennek bizonyultak. Az SSI értékek ICC értéke alapján az AMD csoport mutatta a két vizsgálati távolságból adódó különbséget.

A két vizsgálati távolságból készült leképezéseken számolt regionális retinavastagságok csupán két régióban mutattak jelentős különbséget: az összes szem

esetében az ETDRS R6 ($303,9 \pm 54,9$, $303,6 \pm 55,5$, $p=0,023$), míg a DME csoport esetében az R2 és R6 régiókban ($398,5 \pm 108,7$, $405,8 \pm 122,7$, $p=0,042$, $347,6 \pm 73,7$, $343,3 \pm 77,2$, $p=0,008$) A regionális retinavastagságok mérési eredményei között minden esetben korrelációt találtunk.

4. A maculáris régió SD-OCT képeinek automatikus szegmentációját végző szoftver tesztelése.

A két obszerver közötti, valamint az OCTRIMA 3D és a manuális szegmentáció közötti különbséget egyaránt igen alacsonynak találtuk valamennyi réteg esetében. Az automatikus szegmentáció kevesebb, mint 1 pixel ($\sim 4\mu\text{m}$) eltérést mutatott a manuális szegmentáláshoz képest. Az ILM, IS-OS és RPE-Ch határvonalak kijelölése esetében találtuk a legkevesebb eltérést a két szegmentáció között. A MUE szinte valamennyi réteg esetében közel 1 pixel eltérést mutatott a kézi szegmentációhoz képest.

A térfogati scan feldolgozása az OCTRIMA3D esetében jóval kevesebb időt vett igénybe (26,15 s) mint a Dufour-féle szoftver és az IOWA referencia algoritmus esetén (60 s, 75 s). Az átlagos UE minden határfelület esetében szignifikánsan kisebb volt az OCTRIMA 3D alkalmazásával, mint a másik kettő algoritmusnál ($p<0,001$). Az ILM, IS-OS és RPE-CH felületek szegmentációi megbízhatóbbak voltak a másik három felülethez képest.

Az OCTRIMA 3D és a Chiu-féle algoritmus összehasonlításához az OCT B-scaneket önállóan dolgoztuk fel, amelyhez az OCTRIMA 3D-nek átlagosan 1,15 s-ra volt szüksége. Ez jelentős javulást jelenthet a Chiu és mtsai közleményében megfogalmazott 9,74 s alatti feldolgozási idejéhez képest. A két algoritmus szegmentációjának eredményei hasonlóságot mutattak, egyedül az árnyékok területén észleltünk különbséget. A Chiu és mtsai munkájában alkalmazott kézi szegmentációhoz hasonlítva az OCTRIMA 3D a hibák enyhe emelkedését mutatta, ugyanis alkalmazásunk jobban követte a határvonal kisebb kiemelkedéseit, mint a kézi kijelölés.

A vitreoretinális tractióval társuló diabeteses macula oedema esetén az OCTRIMA 3D szegmentációja mind az ILM, mind pedig az RPE esetében felülmúlta a Spectralis SD-OCT beépített algoritmusát, ami több hibát is ejtett.

A nedves AMD-s szem esetében a Dufour-féle szoftver az IS-OS határkijelölésében két területen is hibázott. Az OCTRIMA 3D ezzel szemben képes volt az összes réteg helyes szegmentálására, a drusen területét kivéve, ahol a program finom hangolására volt szükség az IS-OS és az OS-RPE határok pontos kijelöléséhez.

5. Következtetések

1. Enyhe non-proliferatív DRP esetében a GCL+IPL, OPL és OS rétegek elvékonyodása látható, ami a betegség által okozott kezdeti eltérésekre hívja fel a figyelmet. A szemek egészségéstől való elkülönítésében a GCL+IPL réteget találtuk a leginkább alkalmasnak.
2. Az enyhe non-proliferatív DRP szemekben az OCT kép alapján mérhető optikai tulajdonságok közül a fraktáldimenzió és a rétegindex változása a belső retina rétegekben, illetve az OPL és OS rétegekben esetében mutatott az egészséges szemekhez képest szignifikáns különbséget. A szemek egészségéstől való elkülönítésében a GCL+IPL réteg mutatkozott megfelelőnek.
3. A cukorbetegség esetében a DRP-vel érintett és nem érintett szemek elkülöníthetőségére az OS réteg változásait találtuk alkalmasnak.
4. Sclerosis multiplexben kimutattuk a retina optikai tulajdonságain keresztül a belső retina rétegek szignifikáns változását látóideg-gyulladással érintett szemekben az egészséges és a társszemekhez képest, illetve a rétegindex és teljes reflektancia esetében az egészséges és a társszemek között is. Ez utóbbi alapján felmerül, hogy az optikai tulajdonságok a korai neurodegeneráció kimutatására is alkalmasak lehetnek sclerosis multiplexben.
5. A vizsgálati távolság pontos beállításának fontosságát mutattuk ki RTVue SD-OCT alkalmazásával a perifériás artefaktumok csökkentése céljából. Neovascularis AMD esetében találtuk a legtöbb kijelölési hibát, a leképezési távolságtól függetlenül, míg DME esetében is jelentős számú hibát láttunk, leginkább a szuboptimális beállítás esetében.
6. OCTRIMA3D egy B-scan alapú SD-OCT térfogati scan szegmentációja céljából létrehozott, legrövidebb út gráf keresés modellen alapuló szoftver, mely a jelenlegi legújabb szegmentációs szoftverekhez képest gyorsabb és pontosabb működésre képes.

6. Publikációk jegyzéke

1. A doktori értekezés alapjául szolgáló publikációk jegyzéke

1. DeBuc, D., Tátrai, E., Laurik, L., Varga, B.E., Olvedy, V., Somogyi, A., Smiddy, W.E., Somfai, G.M. (2013) Identifying Local Structural and Optical Derangement in the Neural Retina of Individuals with Type 1 Diabetes. J Clin Exp Ophthalmol 4: 289.
2. Somfai, G.M., Tátrai, E., Laurik, L., Varga, B.E., Ölvedy, V., Smiddy, W.E., DeBuc, D.C. (2014). Fractal-based analysis of optical coherence tomography data to quantify retinal tissue damage. BMC bioinformatics, 15(1), 295. IF: 2,576
3. Varga, B., Tátrai, E., DeBuc, D.C., Somfai, G.M.(2014): The effect of incorrect scanning distance on boundary detection errors and macular thickness measurements by spectral domain optical coherence tomography: a cross sectional study. BMC Ophthalmology, 14(1), 148 IF: 1,020
4. Tian, J., Varga, B., Somfai, G.M., Lee, W.H., Smiddy, W.E., DeBuc, D.C. (2015). Real-time automatic segmentation of optical coherence tomography volume data of the macular region. PloS one, 10(8), e0133908 IF: 3,057
5. Varga, B.E., Gao, W., Laurik, K.L., Tátrai, E., Simó, M., Somfai, G.M., DeBuc, D.C. (2015). Investigating tissue optical properties and texture descriptors of the retina in patients with multiple sclerosis. PloS one, 10(11), e0143711. IF:3,057

2. A doktori értekezés alapjául nem szolgáló publikációk jegyzéke

1. Gao, W., Tátrai, E., Ölvedy, V., Varga, B., Laurik, L., Somogyi, A., Somfai, G.M., DeBuc, D.C. (2011). Investigation of changes in thickness and reflectivity from layered retinal structures of healthy and diabetic eyes with optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Science and Engineering*, 4(10), 657.
2. Somfai, G. M., Tátrai, E., Laurik, L., Varga, B., Ölvedy, V., Jiang, H, DeBuc, D. C. (2014). Automated classifiers for early detection and diagnosis of retinopathy in diabetic eyes. *BMC Bioinformatics*, 15(1), 106. IF: 2,576
3. Szigeti, A., Tátrai, E., Varga, B.E., Szamosi, A., DeBuc, D.C., Nagy, Z.Zs, Németh, J., Somfai, G. M. (2015). The effect of axial length on the thickness of intraretinal layers of the macula. *PloS one*, 10(11), e0142383. IF: 3,057
4. Tian, J., Varga, B., Tatrai, E., Fanni, P., Somfai, G.M., Smiddy, W.E., Debuc, D.C. (2016) Performance evaluation of automated segmentation software on optical coherence tomography volume data. *Journal of Biophotonics* 9:(5) pp. 478-489.
(A folyóirat IF értéke a megjelenés évében 4,328, mely a közlemény típusa miatt nem kerül feltüntetésre)