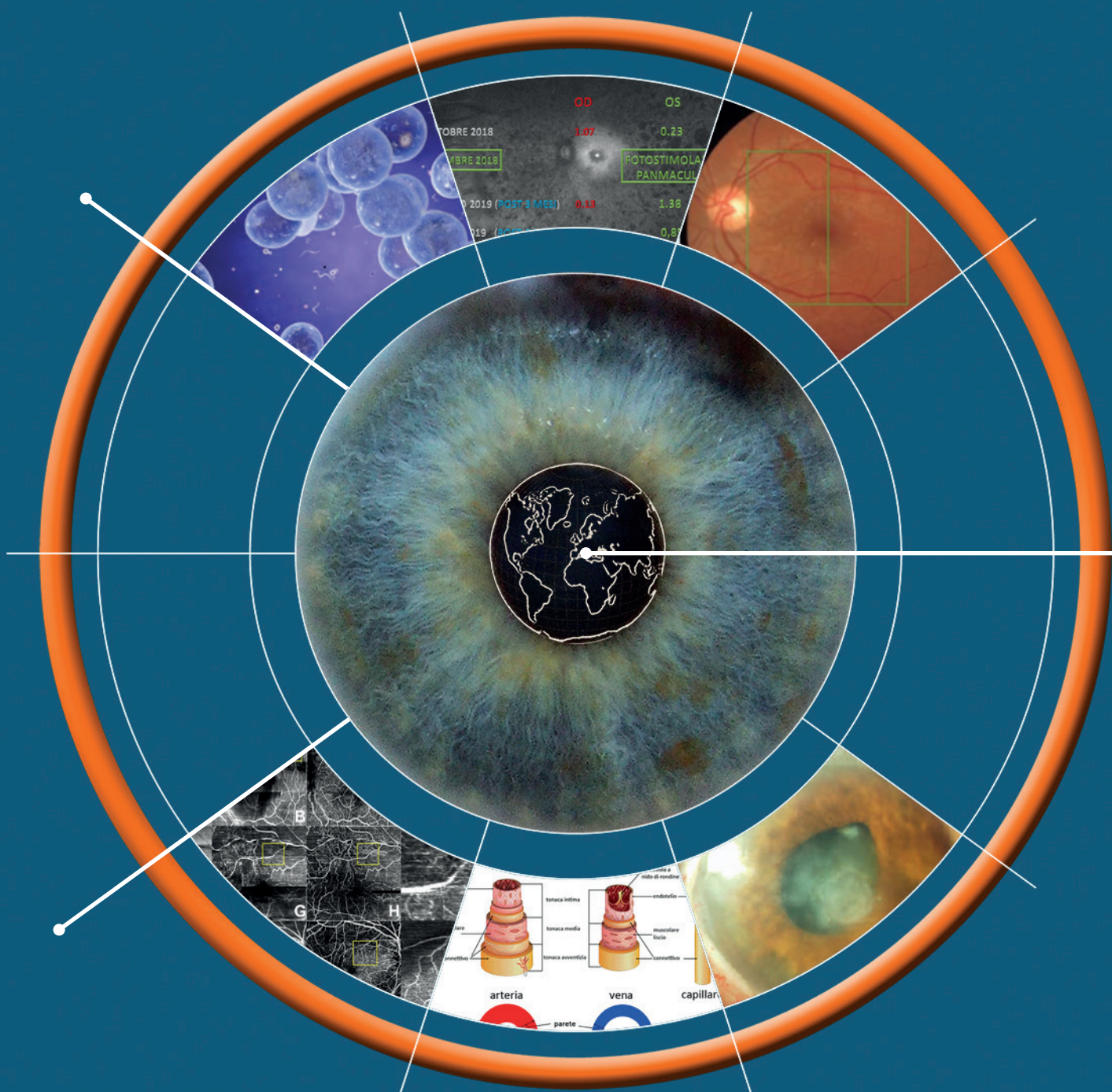


oftalmologia

Anno X - 2019

domani

II Quadrimestre
Maggio-Agosto 2019



s o m m a r i o

COSA LEGGERETE P. 3

Antonio Rapisarda

LE INTERVISTE DI OFTALMOLOGIA DOMANI P. 5

Intervista al Dott. Massimo Pedrotti

Amedeo Lucente

STRABISMO P. 10

Anestesia topica nella chirurgia dello strabismo

Massimo Pedrotti

ASPETTI LEGALI P. 13

Gli oculisti e la pubblicità

Avv. Raffaele la Placa

LASER MICROPULSATO P. 15

Dalla fotocoagulazione alla fotostimolazione: trattamento delle patologie retiniche con laser micropulsato sottosoglia

Pier Luigi Esposti, Giulia Esposti, Francesco Costantino

ANGIO-OCT & INTELLIGENZA ARTIFICIALE P. 21

Anatomia vascolare retinica Angio-OCT, Slabs di decorrelazione & Intelligenza artificiale

Amedeo Lucente

CASE REPORT P. 36

Edema maculare da Fingolimod: Case Report

Pierangelo Pintore, Pierpaolo Patteri, Pierpaolo Pintore

CHERATITI INFETTIVE P. 39

Le cheratiti micotiche

Pasquale Aragona, Giovanni William Oliverio

oftalmologiadomani

Anno X - II Quadrimestre

Maggio-Agosto 2019

Direttore

Scientifico:

Antonio Rapisarda

Fondatori:

Costantino Bianchi

Antonio Rapisarda

Comitato

Editoriale:

Romeo Altafini

Michele Figus

Daniela Lombardo

Amedeo Lucente

Tommaso Salgarello

Redazione

Scientifica:

Paolo Angeletti

Aldo Caporossi

Odile Correnti

Stefano Fichera

Emilia Gallo

oftalmologiadomani@jaka.it

**Progetto grafico
e impaginazione:**

Jaka
CONGRESSI

Jaka Congressi

Via della Balduina, 88

00136 Roma

www.jaka.it

Art

Simona Pelosi

s.pelosi@jaka.it

Cosa leggerete in questa edizione

Un anno di gestione on line di Oftalmologia Domani. Un percorso scelto con determinazione per avvicinare maggiormente la Rivista ai lettori, offrire migliore fruibilità di lettura anche al di fuori del luogo di lavoro, essere più diretti, aperti al mondo della medicina e non solo. Quest'edizione settembrina 2019 propone un panorama molto vario di temi e interessanti argomenti. Gli sforzi della Redazione nel rendere la Rivista sempre più rispondente alle esigenze dei lettori, con temi di ampio interesse, riflessioni su patologie emergenti e insoliti Case Report, anche questa volta, mi sembrano abbiano prodotto un buon risultato.

Massimo Pedrotti, oltre all'interessante intervista, ci propone la possibilità di eseguire gli interventi di strabismo in anestesia loco-regionale. La casistica presentata acquista un rilevante valore proprio per tale esclusiva modalità d'approccio in sala operatoria. A volte, forse erroneamente, si crede che la bravura del chirurgo può essere misurata dal numero di anestesie generali. E' molto raro trovare strabismi operati in topica. Massimo è un chirurgo a 360 gradi, con grande esperienza di sala operatoria; la sua passione per la chirurgia dello strabismo lo ha reso però particolarmente conosciuto in questo settore, sicuro riferimento per tanti colleghi. Certamente i tempi d'esecuzione dell'atto chirurgico in anestesia topica/locale, specie nella chirurgia dei muscoli estrinseci, devono essere molto rapidi, senza incertezze. L'esperienza accumulata da Massimo negli anni con migliaia d'interventi rende possibile questa opzione anche per lo strabismo, non consigliabile per chirurghi meno esercitati ed esperti. Grazie Massimo per l'intervista e l'interessante articolo.

L'Avvocato Raffaele La Placa propone un'attenta riflessione giuridica sul tema della responsabilità personale in tema di pubblicità. Consulente di fiducia della SOI, Raffaele ha l'esperienza per fornirci un panorama completo su ogni possibile evenienza legalmente contestabile, per dottrina e per l'ampia personale casistica. L'aspetto pubblicitario particolarmente sentito

è un nuovo campo di possibili contestazioni legislative, con grave decremento dell'etica professionale, che ciascuno è tenuto a difendere. Grazie Raffaele per le delucidazioni ricevute, la vicinanza al mondo dell'Oftalmologia, il taglio diretto dei tuoi interventi, circostanziati, estremamente esaustivi, sempre efficacemente utili per tutti noi lettori.

Pierluigi Esposti introduce un argomento relativamente nuovo nel panorama dei trattamenti laser. L'epopea della laserterapia in Oftalmologia degli anni Settanta e Ottanta sembra un lontano ricordo. Ogni azione terapeutica sulla retina aveva, in quegli anni, nel laser un sicuro riferimento. La commercializzazione degli Argon, subito dotati di filtro verde, e degli Yag laser, per trattamenti inizialmente vitreali, e dopo diffusamente per le capsulotomie posteriori con l'introduzione delle IOL, ha portato una larga diffusione di questi efficaci e utili device. Oltre che per la retinopatia diabetica, le occlusioni vascolari retiniche, il trattamento delle rotture periferiche, l'argon laser era spesso utilizzato per molte lesioni della periferia retinica ritenute potenzialmente regmatogene. Un'ampia revisione della letteratura ha nel tempo alquanto ridimensionato molte lesioni periferiche relegandole alla sola osservazione; i trattamenti fotocoagulativi sono così diminuiti, e con essi il business legato a questi device. Una nuova ventata d'entusiasmo è arrivata negli anni Novanta con il day laser, il duplicato di frequenza e, da qualche tempo, con il laser giallo micropulsato a 577nm. Le lesioni centrali, diversamente che per i laser a gas "caldi", sono il campo d'azione elettivo di questi recenti laser allo stato solido: si passa dalla fotocoagulazione alla fotostimolazione selettiva dell'epitelio pigmentato retinico. Pierluigi e i suoi collaboratori nel loro articolo ci avvicinano a questa nuova terapia, quasi di nicchia, erroneamente reputata semplice, suggerendo spunti tecnologici e presentando casi clinici trattati con successo. La lettura dell'articolo ben documentato, ci convince. L'efficacia del micropulsato è testimoniata, oltre che dai casi riportati, dalla disamina della

letteratura. Le nuove opportunità terapeutiche in patologie croniche centrali fortemente invalidanti ci rendono speranzosi, e ci avvicinano a questi nuovi laser. Grazie Pierluigi e ai tuoi collaboratori.

Amedeo Lucente ci propone un'ampia Review sugli OCTA, argomento da lui trattato altre volte su questa Rivista. Amedeo questa volta pone l'accento sulle reti vascolari retiniche che la tecnologia OCTA permette di evidenziare, e descrive le nuove proposte che arrivano dalla più recente e accreditata letteratura. Le Slabs, differenziate determinate dai device in commercio, sono la chiave per individuare le reti vascolari corio-retiniche. Esiste purtroppo però scarso agreement nell'imaging proposto, con possibili confusioni e facili incertezze interpretative. L'autore, appassionato sull'argomento e con il vezzo della matematica, ci introduce senza troppi scossoni in un campo spesso minato per le scarse nozioni d'informatica possedute. L'Intelligenza Artificiale AI trattata nell'articolo, è la nuova frontiera di confronto culturale, forse di scontro, da affrontare. La lettura del testo riesce a offrire, anche ai neofiti, un terreno di discussione agevole, sminuisce gli inevitabili ostacoli dovuti alla difficoltà dei temi trattati, favorisce l'incontro tra OCTA e AI, e traccia un panorama tecnologico sempre comprensibile, di facile lettura. L'articolo di Amedeo, che accompagna ogni numero della Rivista, irrobustisce la qualità finale della nostra Rivista. Grazie Amedeo, continua così.

Pierangelo Pintore e Pier Paolo Patteri dell'Ospedale di Alghero ci propongono un singolare caso di distacco bilaterale del neuroepitelio in area maculare con edema cistoide in una giovane paziente affetta da sclerosi multipla e diabete mellito. L'utilizzo del Fingolimod, primo farmaco a somministrazione orale approvato dalla FDA per tale patologia, è stato prescritto alla paziente dal neurologo per migliorare la sua ingravescente sintomatologia, una volta accertata l'assenza di patologie retiniche. Dopo 90 giorni dall'inizio della terapia, la paziente sviluppava bilateralmente un distacco del neuroepitelio in macula con edema intraretinico evidente in fovea, con alterazioni minime del visus e al test di Amsler. La terapia iniziata immediatamente ha previsto l'uso d'indometacina 0,50% a collirio e la sospensione della terapia con Fingolimod. Il quadro retinico migliorava rapidamente. Il caso, ampiamente documentato con fotografia e OCT (la paziente ha rifiutato la fluoroangiografia), presenta caratteristiche peculiari per il coinvolgimento retinico bilaterale, la diminuzione lieve del visus nonostante le importanti alterazioni strutturali all'OCT, e la rapida ripresa funzionale del visus dopo soli

35 giorni, con ripristino strutturale della regione retinica al polo posteriore. La scarsa letteratura a disposizione apre interessanti discussioni sui protocolli da seguire in questi casi. Le nuove ed efficaci terapie proposte per queste difficili malattie sistemiche, possono spesso provocare alterazioni retiniche in macula. Se la risoluzione delle problematiche intercorse dalla paziente sia dovuta alla sospensione del farmaco per bocca, come sembra più probabile, all'uso dei fans topici, oppure a entrambe le procedure terapeutiche messe in atto, è argomento tutto da discutere, da ulteriormente studiare. Interessante perciò è questo contributo che ci allerta sugli effetti collaterali di alcuni farmaci in commercio per patologie sistemiche autoimmuni sempre più frequenti, e giustifica la nostra particolare attenzione sulla funzione visiva, specie in presenza di patologie multifattoriali concomitanti in questi sfortunati pazienti. Grazie ai colleghi di Alghero.

Pasquale Aragona nel suo articolo tratta le infezioni micotiche della cornea. L'argomento viene affrontato con estrema competenza nella diagnosi, negli aspetti semeiologici e nelle proposte terapeutiche. Pasquale Aragona che dirige con successo da anni la Clinica Oculistica di Messina con lungimirante visione scientifica e progetti innovativi di ricerca, ci offre uno spaccato "crudo" su queste temibili e subdole infezioni corneali, che impongono attenta osservazione e rapide decisioni terapeutiche. La diagnosi, tutt'altro che facile, si avvale oggi dei test specifici di campionamento tissutale, strisci a fresco, colorazioni appropriate, terreni di coltura agar-sangue, agar-cioccolato o agar Sabouraud-destrosio, e per individuare la terapia dell'anti-micogramma. Una novità sono i nuovi e rapidi test diagnostici, molto sensibili, come il PCR, Polimerase chain reaction, illustrati nell'articolo. L'ampia disamina dei presidi terapeutici completa il lavoro proposto; la sua lettura sarà di sicuro aiuto per tutti noi. La nostra Rivista ha ospitato tanti illustri colleghi; il tuo articolo ci inorgoglisce, e stimola tutta la Redazione ad innalzare ancora il livello culturale degli elaborati da sottoporre all'attenzione dei colleghi che sapranno valutare, condividere, e far proprie le indicazioni riportate nel tuo brillante articolo. Grazie Pasquale.

Buona lettura!

Antonio Rapisarda

Insieme al Direttore Antonello Rapisarda abbiamo sentito l'esigenza di aprire questa nuova rubrica "Le interviste di Oftalmologia Domani" con lo scopo di far conoscere come si svolge nel quotidiano la vita professionale di alcuni protagonisti dell'Oftalmologia in Italia, e di fotografare, per quanto è possibile, le diverse realtà esistenti sul nostro territorio.

I colleghi che incontreremo rispondono alle esigenze sanitarie emergenti in campo oftalmologico con la loro attività e dell'equipe che dirigono, e la loro personalità spesso caratterizza tutta la struttura dove operano.

La vita professionale di ciascuno ha superato tutte le tappe del percorso ospedaliero, universitario o nella libera professione, raggiungendo posizioni apicali e di prestigio. Il fine di queste inchieste lungo la nostra penisola non è quello di esaltare questo o quel collega, ma di offrire in modo diretto uno spaccato della loro esperienza professionale ed umana, che possa aiutare le nuove generazioni nelle difficoltà che li attendono.



Attraverso le domande conosceremo differenti realtà sanitarie non sempre sotto la luce dei riflettori, e la risposta offerta alle patologie oftalmologiche, semplici e più complesse. La struttura sanitaria resta l'elemento prioritario. Le capacità organizzative dei singoli dirigenti determinano la qualità finale delle prestazioni offerte, e questa rispondenza si ritrova nelle valutazioni di gradimento degli utenti.

Oneri ed onori per il nostro intervistato, oltre ad una grande responsabilità.

Gli aspetti umani e professionali che di volta in volta emergeranno vanno oltre la semplice curiosità.

Siamo fiduciosi che questa nuova rubrica risconterà il favore dei lettori, potrà essere di monito alle nuove generazioni nel fare di più e meglio, e di incoraggiamento nell'affrontare gli ostacoli della loro vita di oculisti. Non per ultimo conoscere i percorsi di vita professionale di tanti illustri colleghi offrirà, per chi è più avanti negli anni, un personale confronto sia nel condividere i momenti comuni che nel rilevarne le inevitabili differenze.

Intervista al Dott. Massimo Pedrotti

Libero Professionista

Dottor Massimo Pedrotti la ringrazio a nome di tutta la Direzione, e in particolar modo del Direttore Antonello Rapisarda, per la disponibilità a concedere quest'intervista ai lettori di Oftalmologia Domani. Iniziamo a conoscere il suo percorso professionale.



Prima di arrivare a dirigere la Divisione di Oculistica a Vicenza, è stato primario in alcune Città del Triveneto, Villafranca, Este e infine Trento. Cosa ricorda di questi rapidi passaggi, dal 1987 al 1992, anno d'approdo al San Bortolo di Vicenza? Quali migliorie ha apportato alle unità operative dove ha svolto la sua attività? L'ambiente e l'equipe di lavoro sono veramente tanto importanti? Il successo della sua attività in realtà sanitarie geograficamente vicine, sempre suggestive nel paesaggio, ma differenti per

organizzazione, da cosa è stato favorito? Qual è stata l'evoluzione della sua chirurgia durante queste tappe?

Mi sono laureato a Parma il 20 Luglio 1969, giorno dello sbarco di Neil Armstrong sulla luna e 25 giorni prima del famoso concerto di Woodstock.

Frequentavo come studente interno l'Istituto di Clinica Medica con una tesi di laurea su argomento di cardiologia.

La Clinica Medica era un Istituto di riferimento molto vivace; uno degli assistenti, con cui collaboravo, era stato chiamato in quel periodo come Primario di Cardiologia all'Ospedale di Legnago.

Tre giorni dopo la laurea cominció così il mio lungo cammino di medico, aspirante cardiologo presso l'Ospedale di Legnago. Nell'arco di un paio di mesi capisco che non potevo rinunciare al mio sogno di fare il chirurgo, e abbandono la Cardiologia. Mi trasferisco

poco lontano, a Verona, dove mi viene offerta una borsa di studio presso la Clinica Oculistica Universitaria, istituita nell'autunno del 1969 come sede distaccata per la didattica dell'Università di Padova.

Il cattedratico incaricato era il Prof. M. Mecca, Primario degli Istituti Ospedalieri di Verona.

L'anno successivo arriva da Padova, come Direttore del neonato Istituto di Oftalmologia il Prof. L. Bonomi. Rimasto "orfano" mi trasferisco all'Ospedale di Vicenza, dove rimarrò per 17 anni fino al 1987. In quell'anno infatti vinco il concorso come Primario sia all'Ospedale di Villafranca (VR) che a quello di Este (PD).

Preferisco l'Ospedale di Este; mi stimolava l'idea di creare dal nulla un reparto di Oculistica. Ho impiegato quasi un anno perché il reparto fosse operativo. E' stato quel periodo molto formativo; confrontarsi ed affrontare i molteplici problemi amministrativi ed organizzativi con cui inevitabilmente ogni responsabile di reparto deve ogni giorno districarsi, è compito altrettanto arduo della pratica chirurgica. Ad onor del vero bisogna dire che in quel periodo la figura del primario godeva di maggior autonomia, autorevolezza ed influenza rispetto a tempi più recenti.

Giusto il tempo di aprire la sala operatoria ad Este che vinco un nuovo concorso e mi trasferisco all'Ospedale S. Chiara di Trento.

Qui ho trovato un grande Ospedale, collaboratori molto preparati clinicamente che praticavano però una chirurgia un po' datata.

Abbiamo traghettato la nuova chirurgia della cataratta verso le più recenti metodiche (IOL nel sacco), iniziato il trapianto di cornea e la vitrectomia, che cominciava a diffondersi in quegli anni.

Poi nel 1992 sono tornato all'Ospedale di Vicenza dove, come responsabile, ho potuto realizzare tutte le mie aspirazioni chirurgiche, in particolare nel campo della strabologia.

Le personali inclinazioni clinico-chirurgiche si sviluppano certamente durante la specializzazione. La prestigiosa Università di Padova, con sede nel Palazzo Bo, il suo Teatro Anatomico, primo esempio di struttura permanente per l'insegnamento dell'anatomia, è stata fondamentale per le scelte della sua carriera? Vuole raccontare ai nostri lettori qualche particolare di questo periodo? Come si viveva da specializzando negli anni Settanta? Quali le difficoltà, le differenti opportunità rispetto a oggi?

Di fatto non ho mai frequentato una Clinica

Universitaria. Mi sono iscritto nel 1969 all'Università di Padova, ma frequentavo prima l'Ospedale di Verona e poi l'Ospedale di Vicenza; mi recavo a Padova solo per fare gli esami con Prof. F. Dermo, allora Direttore della Clinica Oculistica. In quegli anni era possibile specializzarsi pur frequentando un reparto ospedaliero. Debbo dire che essere sempre in prima linea come succedeva in un Ospedale con organico ridotto mi ha fatto crescere rapidamente in esperienza. Certo che in più di un'occasione avrei voluto confrontarmi con colleghi più esperti per meglio capire e gestire certi casi clinici complessi.

Negli anni Settanta e Ottanta gli Ospedali erano meno attrezzati rispetto alle Cliniche Universitarie, e per un giovane che voleva crescere gli eventi formativi erano più rari.

Trovavo in quel tempo molto ben organizzati e stimolanti i convegni della Società Oftalmologica Francese mentre, in ambito nazionale, erano interessantissimi i seminari che il Prof. V. De Molfetta organizzava a Monza sulla chirurgia del trapianto corneale e della vitreoretina.

Il soggiorno all'estero è un passaggio obbligato per ogni professionista con respiro internazionale. Lei ha frequentato la Clinica Universitaria di Gand in Belgio, la Fondazione Rothschild a Parigi e il Mass Eye and Ear Infirmary a Boston. Ne ha tratto insegnamenti? E' sempre così importante confrontarsi con realtà straniere?

Dopo qualche anno che ero a Vicenza ho capito che la chirurgia, pur eseguita con successo, doveva evolvere ed ammodernarsi; non operavamo ancora con il microscopio e, volendo conoscere più da vicino le nuove realtà, sono stato in tempi successivi per alcuni mesi a Gand (Belgio), dove responsabile era il Prof. Jule Francois, a Parigi, alla Fondazione Rothschild, e poi a Boston (USA) al MassEye and Ear, con responsabile il Prof. Charles Schepens, dove operava anche T. Hirose, pioniere del trattamento chirurgico della ROP.

Soprattutto gli ultimi due soggiorni sono stati fondamentali: ho avuto l'occasione di vedere all'opera molti grandi chirurghi dai quali ho imparato moltissimo. Mi piace ricordare un episodio divertente. Alla fine degli anni Settanta si cominciava a parlare sempre più delle lenti intraoculari nell'intervento di cataratta. A Boston quando andai nel 1978 era già la regola per ogni operazione di cataratta impiantare o in camera anteriore o in camera posteriore un cristallino artificiale. Al

mio ritorno riferii questa nuova realtà ed insistevo con il mio Primario Amidei per iniziare anche nel nostro ospedale.

Per farmi contento, ma non convinto, Amidei mi autorizzò ad inserire il cristallino solo per i pazienti oltre i 90 anni; era convinto che nell'arco di qualche anno avremmo dovuto inevitabilmente rimuoverlo per sopravvenute complicanze.

Superfluo dire che nel giro di un paio di anni abbiamo progressivamente abbassato e poi tolto quella prudente soglia dei 90 anni, arbitrariamente decisa dal mio "vecchio" Primario.

In quel periodo avevo anche frequentato per qualche settimana l'Ospedale Oftalmico di Roma, responsabile era il Prof. F. Pintucci. Stare in quella sala operatoria è stata una miniera preziosa di insegnamenti.

Oggi ritengo che sia più facile aggiornarsi rispetto ad un tempo: ci sono più Congressi, c'è la chirurgia in diretta, è più facile acquistare libri stranieri, c'è PubMed e tanto altro. A tal proposito ricordo che quando volevo fare qualche pubblicazione dovevo sempre andare nella biblioteca della Clinica Oculistica di Padova per consultare la letteratura scientifica.

A proposito di Padova mi piace ricordare che oltre ad essere l'Università di Galileo e della scienza medica è anche l'Università della prima donna laureata al mondo.

In Italia ci sono attualmente molti centri di eccellenza ma è solo dal confronto con altre realtà che si riesce a capire quali sono le scelte migliori. È a mio avviso molto formativo entrare in contatto con altre scuole ed altri sistemi organizzativi.

Molti specialisti, e gli Oftalmologi non si sottraggono a questa regola, sono associati indissolubilmente a una particolare branca della loro disciplina, anche con casistiche operatorie di tutto rispetto in più settori. Nel mondo dell'Oftalmologia è riconosciuto come insigne strabologo, e a giusta ragione. Ha curato la monografia SOI "Tecniche Chirurgiche dello Strabismo", considerata un indispensabile vademecum per avvicinarsi, con il giusto passo, al mondo dello strabismo. Questo settore della chirurgia resta di nicchia non solo dell'Oftalmologia italiana. Un argomento spinoso è il timing chirurgico del bambino strabico. Può darci un parere sull'argomento? Dirimere le tante incertezze ancora così largamente diffuse?

Il mio ex Primario Amidei era un grande esperto di

strabismo e questa chirurgia è sempre stata appannaggio suo. Io mi dedicavo oltre che alla chirurgia della cataratta soprattutto alla chirurgia del distacco di retina e del trapianto di cornea. Poi quando sono diventato il responsabile del reparto, a poco a poco mi sono sempre più avvicinato a questo settore dell'oculistica anche perché nel frattempo il Prof. L. Bonomi dell'Università di Verona mi aveva affidato, come Professore a contratto, l'insegnamento appunto della chirurgia dello strabismo.

Oggi l'ambizione di ogni giovane apprendista oculista è prima di operare la cataratta e successivamente di affrontare la vitreoretina.

Ai nostri giorni, grazie all'uso precoce degli occhiali, i bimbi strabici sono diminuiti, gli interventi di strabismo meno frequenti, e così è più difficile maturare un'esperienza su questa chirurgia di nicchia. E' una chirurgia che presuppone una solida preparazione clinica ma che può offrire, se ben gestita, grandi soddisfazioni professionali per chi vi si dedica.

Alla domanda circa il timing chirurgico dell'esotropia convergente ci sono alcuni punti fermi. Una volta che si è riusciti a fare una buona schiascopia (fondamentale la padronanza di tale tecnica!), prescritto l'occhiale adatto e il bambino alterna, prima si interviene meglio è, diciamo al massimo tra i 2 e i 3 anni.

Lei ha vissuto da ospedaliero con una salda formazione universitaria. Molte sue energie sono state spese a favore della formazione e divulgazione scientifica. Lo testimoniano le oltre 120 pubblicazioni anche su riviste internazionali, l'attività di Professore a contratto all'Università di Verona, i numerosissimi Corsi e Congressi organizzati non senza partecipazione emotiva e insolita generosità, condividendo risorse personali per la loro riuscita. Ricordo ancora con piacere il suo invito ad esporre la problematica su IOP e spessore corneale al Congresso "Glaucoma Review" nel 2004 a Vicenza, avendo appreso del mio brevetto depositato all'EPO, European Patent Office, e in seguito conseguito. La cena di gala di quell'evento, con tutte le autorità e corale plauso, si svolse nella sua splendida Villa del Palladio, messa a disposizione dei relatori senza alcuna esitazione. La scelta ospedaliera è stata una strada obbligata o avrebbe preferito, come suo figlio Emilio, la carriera universitaria a tempo pieno? Ha dovuto fare qualche rinuncia? Per il prossimo futuro ha obiettivi ancora da raggiungere?

Non ho avuto una formazione universitaria (e me ne dolgo), ma ho avuto la fortuna di aver avuto un Primario che mi ha sempre voluto bene, dandomi spazio in sala operatoria, e consigliato su come indirizzare la mia carriera. A differenza di quella che era allora quasi la norma per tanti giovani ospedalieri di non cimentarsi in nessuna ricerca, ho cominciato, fin dagli inizi, a pubblicare i risultati dell'enorme casistica che solo una grande realtà ospedaliera poteva offrire. E poi mi sono proposto come relatore in moltissimi convegni. Ad un certo punto avevo un curriculum professionale che mi ha aperto le porte per vincere numerosi Primariati.

Poi da Primario, prima a Trento ma ancora di più a Vicenza, ho avuto la possibilità di organizzare molti Convegni che hanno permesso a me e ai miei collaboratori di confrontarci con altre scuole, arricchendo il nostro bagaglio culturale e stimolandoci a fare sempre meglio per il bene del paziente.

Per anni con l'aiuto prezioso delle mie ortottiste, in particolare della Dottoressa D. Drago, attuale Presidente AIOrAO, Associazione Italiana Ortottisti Assistenti in Oftalmologia, abbiamo organizzato a Vicenza Corsi di chirurgia dello strabismo a numero chiuso. Il primo giorno veniva sviluppata da me e dai miei assistenti la parte clinica, mentre il secondo giorno era dedicato alla chirurgia. I partecipanti erano invitati direttamente in sala operatoria per meglio capire le varie fasi dell'intervento, e si discuteva sulle possibili opzioni chirurgiche. Centinaia di oculisti ed ortottisti hanno frequentato i nostri corsi, ed è frequente e gratificante che ancora oggi, in occasione di qualche Convegno, mi capitò di ricevere il ringraziamento di chi aveva partecipato con soddisfazione ai simposi da noi organizzati.

Un tempo era anche possibile organizzare eventi senza gravare economicamente sui partecipanti, ed ho l'orgoglio di non aver mai chiesto un costo d'iscrizione; oggi è diverso perché gli sponsor hanno le mani più legate. L'Ospedale mi ha concesso lunghi periodi di aggiornamento all'estero, anche supportandomi economicamente; non so se oggi sarebbe ancora possibile. Fondamentale è stato anche lo stimolo di crescere professionalmente senza farmi travolgere dalla routine.

Certo che l'Università, sotto questo punto di vista, è più formativa. C'è un ambiente culturale più elevato che ti permette di affrontare e approfondire meglio certi argomenti. Purtroppo la mentalità e la routine ospedaliera spesso non sono altrettanto stimolanti.

Le inclinazioni caratteriali indirizzano spesso scelte

future, e incidono sulla qualità dell'atto chirurgico. Ripropongo a lei una domanda già fatta: bravi chirurghi si nasce o si diventa? Può delineare i passaggi più decisivi della sua formazione? Com'è andata la prima cataratta? Il primo trapianto di cornea? Qual è stato il momento più fulgido e quello di maggiore sconforto nella sua carriera?

Sono convinto che bravo chirurgo si può diventare, lo testimonia il fatto che certi illustri Maestri dell'oftalmologia siano riusciti a creare squadre di eccellenti chirurghi. Però talentuosi, per me, si nasce. Solo certuni hanno una "marcia in più", frutto più di testa che di mano.

Personalmente ho sempre avuto una buona manualità; ricordo che da giovane costruivo macchinine di plastica, pitturando, incollando e assemblando centinaia di pezzi minutissimi. Altresì mi mettevo con pazienza a sbrogliare, senza mai usare forbici, metri e metri di fili ed ami che, da appassionato pescatore quale ero, inevitabilmente ogni tanto mi si presentavano. Mi piace raccontare un aneddoto. Ero strettamente destrimano e quando ho cominciato ad operare ho capito l'importanza di poter usare disinvoltamente anche la mano sinistra. Per almeno 2-3 anni ho allora cominciato a mangiare afferrando cucchiaio e forchetta con la mano sinistra. Debbo dire che è stato un utilissimo training per la mia più completa attività chirurgica bimanuale.

La prima cataratta la ricordo benissimo: agitato e tremante (era ancora la tecnica intracapsulare) mi sbloccò col suo fare affettuoso e provocatorio il mio Primario che mi disse "Pedrotti perché tremi? Non è il tuo l'occhio che stai operando!"

Momenti di sconforto? Sicuramente più di uno soprattutto quando ero giovane. In sala operatoria non mi fermavo quasi mai e mi sono ritrovato talvolta con problemi enormi. Crescendo ho capito che il bravo chirurgo è proprio quello che sa fermarsi. Molto spesso dietro un insuccesso chirurgico c'è un errore di percorso.

Momenti emozionanti? Sicuramente quando ho vinto il concorso di Primario a Trento dove mi era stato sconsigliato di partecipare perché c'era già un vincitore in pectore, i giochi si rimescolarono perché quel candidato non riuscì a superare la prova scritta. Ma forse l'emozione maggiore l'ho provata quando ad un convegno mi è capitato di operare in contemporanea su due letti diversi con mio figlio Emilio.

Per dare un ampio ventaglio di autorevoli opinioni su una problematica largamente sentita, non per

ultimo le pongo la stessa domanda con cui ho deciso di terminare le mie interviste per Oftalmologia Domani. Le sembra giusto il metodo scelto per l'ingresso alla Facoltà di Medicina e Chirurgia? E per la Scuola di Specializzazione? Si selezionano veramente i giovani migliori? Lei com'è messo con i quiz? Entrerebbe oggi in Medicina e in Oftalmologia?

È giusto che ci sia una selezione all'ingresso del percorso accademico. Bisogna che le istituzioni sappiano regolare la domanda con l'offerta nei riguardi delle differenti competenze e professionalità richieste dalla società seguendo criteri di merito ed appropriatezza.

Forse l'attuale selezione è un sistema troppo burocratico che non è in grado di comprendere e quindi orientare il valore reale degli aspiranti studenti in medicina. A mio avviso dopo una prima selezione a quiz, auspicarei una prova rigorosa di due giorni davanti ad una

commissione "super partes" che valuti compiutamente le capacità di ragionamento logico, matematico e verbale degli aspiranti. Ma che sappia pure capire l'empatia e la sensibilità che si richiede a chi si appresta a fare un'attività così particolare qual è quella del medico.

Si dovrebbero reperire più borse di studio per le specialità mediche in modo che tutti quelli che si laureano possano entrare nelle scuole di specialità. Ma se da un lato bisogna certo aumentare gli ingressi alla facoltà di medicina dall'altro vi deve essere la garanzia però che le strutture didattiche siano in grado di formare medici di assoluto primo ordine.

Grazie Amedeo per l'intervista concessa, alla Redazione di Oftalmologia Domani che leggo sempre con interesse, e all'amico Direttore Antonello Rapisarda, che stimo e conosco da anni.

Anestesia topica nella chirurgia dello strabismo



Massimo Pedrotti

Riassunto

Viene descritta la nostra procedura di anestesia topica nella chirurgia dello strabismo ed i risultati ottenuti su 128 pazienti. Tale metodica consentendo un controllo intraoperatorio mediante cover test, permette una percentuale più elevata di successo.

Introduzione

Riportiamo la nostra esperienza su 128 pazienti (74 femmine e 54 maschi) di età compresa fra i 12 e 74 anni sottoposti a chirurgia dello strabismo in anestesia topica dal 2010 al 2018. La diagnosi preoperatoria era: strabismo paralitico (14 pazienti), exotropia (54 pazienti), esotropia (39 pazienti), strabismo verticale (11 pazienti), strabismo restrittivo (8 pazienti).

46 pazienti erano già stati sottoposti a precedente chirurgia dello strabismo, 28 pazienti lamentavano diplopia.

I pazienti (e i genitori dei giovani pazienti) erano stati informati sui vantaggi dell'anestesia topica (in primis un'augmentata prevedibilità nella correzione dello strabismo) e i limiti (soprattutto dolore intraoperatorio) rispetto ad altri tipi di anestesia.

Tutti i pazienti sono stati operati dallo stesso chirurgo che già possedeva una grande esperienza nella chirurgia dello strabismo in topica e soprattutto una vastissima casistica nella chirurgia della muscolatura extraoculare.

I pazienti sono stati operati ambulatorialmente.

Questo il nostro protocollo per l'intervento in anestesia topica:

- Incannulamento di una vena
- Nei 20 minuti precedenti l'intervento somministrazione di gocce di benoxinato cloruro seguita da instillazione di lidocaina cloridrato in gel
- 10 minuti prima di entrare in sala operatoria

analgesia con Fentanyl (permette al paziente di ottenere una discreta copertura analgesica pur rimanendo lucido)

- Sul letto operatorio all'inizio dell'intervento ed a intervalli variabili di 5-10 minuti instillazione di lidocaina monodose 4%
- I parametri vitali del paziente sono costantemente monitorizzati dall'anestesista e al bisogno somministra altri analgesici tipo FANS
- Quando si prevede, come nei reinterventi o in caso di pazienti particolarmente ansiosi, che la sintomatologia sarà mal tollerata, l'anestesista ricorre al Remifentanyl in pompa continua che permette un'ottima copertura analgesica. Mai viene utilizzato Propofol giacché, anche se a brevissima durata di azione, è un farmaco anestetico generale a tutti gli effetti e secondo noi il paziente al risveglio non è più in grado di fornirci risposte attendibili (elemento che riteniamo fondamentale) durante la fase del controllo intraoperatorio con il cover test.

Materiali e metodi

Utilizzo sempre di suture in Vicryl 6.0 montato su ago da 8/0. Mai sono state utilizzate suture non riassorbibili.

Chirurgia sempre al microscopio con ingrandimento 0,5 X e cambio d'ingrandimento al bisogno (p. es. passaggio sclerare delle suture).

La luce del microscopio deve essere fioca per non abbagliare il paziente.

La cornea del paziente viene protetta con dischetto di metilcellulosa sempre per evitare l'abbagliamento.

Il paziente è la nostra terza mano: gli parliamo di continuo per implementare la sua collaborazione anticipandogli le sensazioni che avverrà durante la chirurgia.

Il passaggio più critico coincide con il caricamento del tendine muscolare sull'uncino (importante è essere molto delicati e non esercitare trazioni perché altrimenti evocano dolore intenso a livello dell'anello tendineo dello Zinn).

TIPO DI STRABISMO ED ANGOLO DI DEVIAZIONE ANGOLO DI DEVIAZIONE			
Angolo di deviazione	Exo	Eso	S. verticale
≤ 20 Δ	12	27	6
21-30 Δ	20	13	3
31-40 Δ	15	9	2
≥ 41 Δ	11	10	0
Totale	58	59	11

L'intervento è lo stesso di quello comunemente praticato in anestesia generale, solo che con l'anestesia topica ogni passaggio chirurgico deve essere effettuato con particolare delicatezza.

L'elemento qualificante della chirurgia in topica è che solo con tale procedura possiamo effettuare un controllo intraoperatorio del risultato motorio e sensoriale fino a quel momento raggiunto.

Tale possibilità riduce al minimo l'imprevedibilità del risultato post-operatorio. La verifica intraoperatoria viene effettuata mediante cover test dopo rimozione del blefarostato e dei telini, lavaggio abbondante della cornea con BSS e instillazione di qualche lacrima artificiale. Dopo un'attesa di 5-6 minuti perché si disabbagli, il paziente viene fatto sedere sul letto operatorio in modo che possa fissare una mira posta sulla parete. Il cover test viene effettuato per vicino e per lontano (con l'aiuto di mire luminose e se necessario morfoscopiche) e nelle posizioni di sguardo secondarie e terziarie in cui sono presenti le eventuali incomitanze da correggere.

La verifica intraoperatoria può essere ripetuta più volte durante l'operazione fino al raggiungimento del risultato ottimale. Durante questi passaggi le suture sono sempre saldamente ancorate alla sclera, ma hanno un annodamento provvisorio a fiocco in modo da poter essere sciolte o confermate al bisogno dopo cover test.

I muscoli operati sono stati rispettivamente: 48 retto mediale, 76 retto esterno, 4 retto inferiore, 8 retto superiore, 4 piccolo obliquo, 11 unione muscolare (8 tipo Jensen tra retto laterale con retto superiore e retto inferiore, 3 tipo Yamada tra retto superiore e retto laterale).

Gli interventi praticati sono stati 124 di indebolimento muscolare (recessione), 31 di rinforzo muscolare

(plicatura, avanzamento, resezione, supplenza mediante unione muscolare).

Procedura chirurgica	n° di muscoli
recessione retto laterale	66
recessione retto mediale	40
resezione retto mediale	2
avanzamento retto mediale	6
plicatura retto esterno	10
recessione retto superiore	8
recessione retto inferiore	3
avanzamento retto superiore	3
recessione piccolo obliquo	4
unione muscolare sec. Jensen	8
unione muscolare tipo Yamada	3

La durata dell'intervento è dipesa naturalmente dal numero dei muscoli da operare. Mediamente il tempo impiegato è stato di 20-25 minuti per ogni muscolo operato.

Risultati

Mai abbiamo dovuto convertire l'intervento da anestesia topica ad anestesia generale. Nel complesso la chirurgia è stata ben tollerata, certo che in qualche caso il paziente si è lamentato di un po' di dolore. Abbiamo avuto 1 caso di bradicardia prontamente risolta con atropina e 2 casi di modesta tachicardia. Mai si sono verificati episodi di nausea e vomito, mai ulcera corneale.

È stato considerato come successo dell'outcome chirurgico una deviazione oculare orizzontale residua inferiore alle 10 diottrie prismatiche, una deviazione verticale inferiore alle 5 diottrie prismatiche e la scomparsa della diplopia preesistente.

Il paziente è stato ricontrollato a 1 settimana, a 1 mese e 6 mesi dopo l'intervento.

Nell'exotropia il tasso di successo dopo 1 settimana è stata del 96% e dopo 6 mesi del 86%.

Nell'esotropia è stato rispettivamente del 86% dopo 1 settimana e del 78% dopo 6 mesi. Nello strabismo verticale è stato del 92% dopo 1 settimana e dell'88% dopo 6 mesi. Tutti i pazienti che hanno ottenuto un risultato insoddisfacente erano di fatto ipocorretti, mai una ipercorrezione.

13 (16%) sono stati rioperati in anestesia topica dopo circa 1 anno.

TASSO DI SUCCESSO

	Dopo 1 settimana	Dopo 6 mesi
exo	55 (96%)	49 (86%)
eso	50 (86%)	26 (78%)
s. verticale	10 (92%)	9 (88%)

Discussione

L'imprevedibilità del risultato chirurgico è il limite classico e maggiore della chirurgia dello strabismo. Ogni intervento è esposto al rischio di una iper o ipocorrezione.

A nostro avviso al di là della variabilità anatomico-istologica dei tessuti, il fattore più imponderabile e che più pesantemente condiziona il successo è la componente innervazionale. La quota di strabismo cioè che dipende dagli impulsi inviati dal SNC in risposta alla fissazione, al fatto cioè che i due occhi siano impegnati a vedere.

La chirurgia praticata in anestesia topica, fornendo un sufficiente controllo del dolore, permette di mantenere pressoché inalterata questa quota innervazionale.

Abbiamo così la possibilità di un dosaggio ottimale

dell'entità di chirurgia da effettuare per correggere al meglio lo strabismo. Le suture sono fissate alla sclera lì dove operatore e operato hanno concordato che fosse più giusto ancorarle (regolazione intraoperatoria).

Il paziente esce dall'intervento con gli occhi allineati dopo che è stato customizzato con lui, mediante cover test intraoperatorio, la migliore delle correzioni possibili

Conclusioni

La chirurgia dello strabismo in anestesia topica è un intervento sicuro che ci permette una percentuale più elevata di successo riducendo così la percentuale di reintervento.

Con tale metodica possiamo inoltre anche affrontare con più tranquillità la chirurgia dei piccoli angoli di strabismo dove c'è sempre il timore di ottenere una ipercorrezione.

Ha minori costi (intervento ambulatoriale con più ridotta convalescenza) ed a nostro avviso è sottoutilizzato nella chirurgia dello strabismo. Un limite è che per essere gestito con sicurezza presuppone una buona manualità ed esperienza in questo particolare tipo di chirurgia. ■

BIBLIOGRAFIA

Jampolsky A. – Tecniche chirurgiche nello strabismo regolabile. *Am J Ophthalmol.* 1979;88: 406 – 418

Wright KW. - *Atlante a colori di chirurgia oftalmica: strabismo.* Filadelfia: JB Lippincott Co; 1991. Pp. 87-124

Wisnicki HJ, Repka MX, Guyton GL. – Percentuale di reintervento nella

chirurgia regolabile dello strabismo. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus,* 1988;25: 112-114

Pedrotti M., Lanzafame F – *Strabismo approccio pratico – Quaderni di oftalmologia, SOI 2008.*

Gli oculisti e la pubblicità



Avv. Raffaele la Placa

Foro di Torino

Solo qualche lustro fa sarebbe stato inconcepibile pensare di pubblicizzare una qualunque professione intellettuale, soprattutto quella medica. Gli ordini professionali avrebbero certamente censurato l'iscritto che si fosse permesso di magnificare la sua capacità di curar denti o vincere cause.

O tempora o mores; I tempi cambiano e i costumi pure. La concorrenza pare essere la panacea di ogni male e, quindi, anche il libero professionista si deve adeguare: ebbene sì, anche i pazienti sono un mercato e la pubblicità consentirebbe di migliorare i servizi ad essi prestati.

Ognuno può legittimamente avere sul punto la sua opinione, ma è qui importante dar conto di come recentemente il legislatore abbia cercato di raddrizzare le cose, che francamente avevano preso una china non condivisibile.

Facciamo però un passo indietro prima di leggere la nuova norma.

La pubblicità in ambito medico era stata sdoganata anni fa (cfr. DL n. 223/2006), sotto forma di informativa di servizi e costi al paziente, e l'Antitrust (Bollettino n. 37 del 24/3/2014) aveva rincarato la dose, allorquando i consigli professionali, in particolare la Fnomceo, avevano cercato di porre un argine a pubblicità selvagge tramite il codice deontologico, imponendo messaggi pubblicitari consoni al decoro professionale e non comparativi. Infatti l'Autorità predetta aveva ritenuto il codice medico, nella parte sulla pubblicità, in violazione delle norme sulla concorrenza. Neppure il ricorso avanti il Giudice amministrativo era servito: il TAR Lazio aveva sancito che "Il divieto di pubblicità promozionale e comparativa imposto dal codice di deontologia medica del 2006, mantenuto in vigore invariato e sostanzialmente riprodotto nelle norme deontologiche adottate nel 2014, è idoneo ad alterare il normale funzionamento del meccanismo concorrenziale degli iscritti all'albo e integra un illecito antitrust con carattere permanente," (T.A.R. Lazio, sez. terza

quater, 1 aprile 2015, sent. n. 4943). Secondo i giudici, dunque, si pone in contrasto con la normativa vigente qualsiasi previsione (sia essa statutaria, deontologica o di altro genere) che stabilisca divieti di pubblicità, anche per attività professionali, ulteriori rispetto a quelli normativamente fissati. Il limite imposto dalla legge era solo apparentemente minimo, poiché non era in alcun modo possibile introdurre disposizioni volte a renderlo più stringente. Si deve concludere, allora, che erano lecite sia la pubblicità promozionale, che quella comparativa, purché non presentassero profili di ingannevolezza, equivocità e non fosse denigratoria.

Ora però è intervenuto il legislatore, vedremo con quali risultati.

Con la Legge di Bilancio 2019 (Legge del 30/12/2018 - N. 145) è stato stabilito al comma 525: "*Le comunicazioni informative da parte delle strutture sanitarie private di cura e degli iscritti agli albi degli Ordini delle professioni sanitarie di cui al capo II della legge 11 gennaio 2018, n. 3, in qualsiasi forma giuridica svolgano la loro attività, comprese le società di cui all'articolo 1, comma 153, della legge 4 agosto 2017, n. 124, possono contenere unicamente le informazioni di cui all'articolo 2, comma 1, del decreto-legge 4 luglio 2006, n. 223, convertito, con modificazioni, dalla legge 4 agosto 2006, n. 248, funzionali a garantire la sicurezza dei trattamenti sanitari, escluso qualsiasi elemento di carattere promozionale o suggestivo, nel rispetto della libera e consapevole determinazione del paziente, a tutela della salute pubblica, della dignità della persona e del suo diritto a una corretta informazione sanitaria.*"

Quindi nessun elemento promozionale o suggestivo nella pubblicità medica! Si potranno, in base al disposto del DL n. 223/2006 pubblicizzare solo: "i titoli e le specializzazioni professionali, le caratteristiche del servizio offerto, nonché il prezzo e i costi complessivi delle prestazioni secondo criteri di trasparenza e veridicità del messaggio il cui rispetto è verificato dall'ordine".

Anche l'Antitrust è chiamata a sorvegliare la reale

applicazione della norma alle forme di pubblicità mediche, che sempre più spesso affollano internet, giornali e muri delle nostre città.

Se è consentito un commento, appare che il decoro della professione medica (e di tutte quelle intellettuali) necessitasse di porre un freno a quella pubblicità che può essere comprensibile e tollerata per la vendita di una merce o di un servizio commerciale, ma stride allorquando in gioco c'è la salute del cittadino, che può essere facilmente attratto dal messaggio pubblicitario, il quale per sua natura è attrattivo e induce al consumo, anche quando non necessario. ■

Dalla fotocoagulazione alla fotostimolazione: trattamento delle patologie retiniche con laser micropulsato sottosoglia



Pier Luigi Esposti*, Giulia Esposti**, Francesco Costantino**

*Studio Oculistico Esposti Siena - ** Scuola di specializzazione in Oftalmologia, Università degli Studi di Siena

Introduzione

La fotocoagulazione retinica tradizionale è stata usata per trattare differenti patologie retiniche per diversi anni^{1,2,3}; è efficace ma è anche distruttiva, in quanto induce l'apoptosi delle cellule dell'epitelio pigmentato e uno shock da calore delle proteine della coriocapillare provocando un danno permanente dei fotorecettori.

Avviene quando la radiazione laser è assorbita principalmente dalla melanina nell'epitelio pigmentato e nella coroide.

L'assorbimento della luce nei tessuti pigmentati converte l'energia laser in calore, il calore diffonde dai tessuti pigmentati irradiati nella retina sovrastante e la retina, danneggiata dal calore, perde la sua trasparenza. Lo sbiancamento retinico che vediamo durante i nostri trattamenti laser è indice del danno termico che abbiamo indotto.

Per circa 70 anni il paradigma è sempre stato che per avere un effetto terapeutico era necessario indurre un danno alla neuroretina; negli ultimi anni si sta accreditando sempre di più l'ipotesi che non è con la distruzione dei fotorecettori che si raggiunge il goal terapeutico ma è con la fotostimolazione dell'epitelio

pigmentato retinico.

La fotocoagulazione crea localizzate elevazioni della temperatura dando origine a lesioni termiche ma anche risposte biologiche che insieme realizzano un effetto terapeutico, si è visto che nell'area fotocoagulata si ha l'apoptosi dei fotorecettori con conseguenti danni collaterali come difetti del campo visivo, fibrosi epiretينية⁴ e neovascolarizzazione coroideale mentre nell'area



Fig. 1 - Nella fotocoagulazione in soglia le attività biologiche terapeutiche avvengono nelle aree circostanti lo spot colpito dove la temperatura è subletale

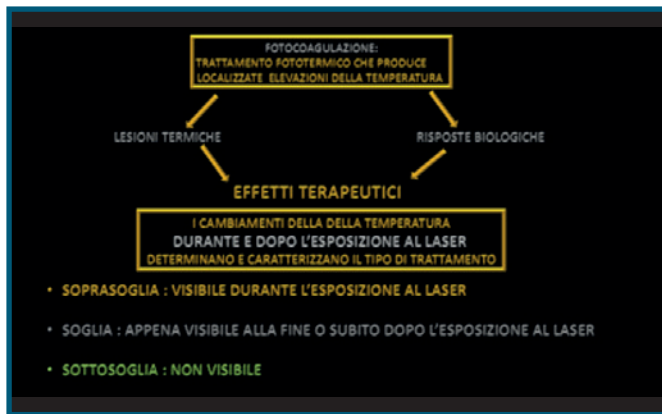


Fig. 2 - Dalla elevazione termica nel tempo ed il tempo stesso che trascorre viene a crearsi un rapporto che andrà a condizionare il tipo di trattamento che stiamo effettuando che potrà essere soprasoglia, in soglia o sottosoglia

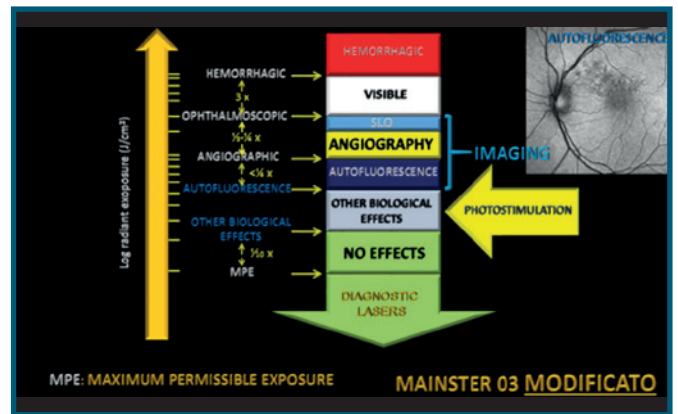


Fig. 3 - Dei vari livelli di sottosoglia il sottosoglia ideale, dove possiamo effettuare la fotostimolazione, è quello compreso tra la soglia di non visibilità in autofluorescenza in alto e la soglia di attivazione degli effetti biologici in basso (risposta positiva al trattamento con risoluzione della patologia retinica)

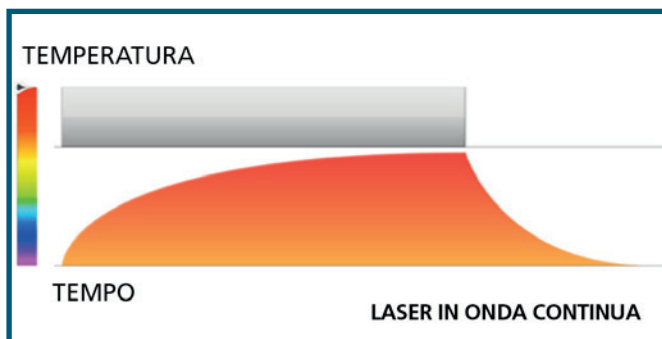


Fig. 4 - Il laser in onda continua emette un flusso costante di energia anche con tempi brevissimi di esposizione e la temperatura ha il tempo di salire

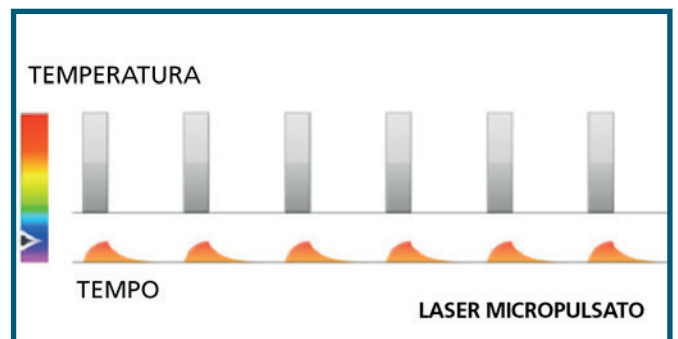


Fig. 5 - Con un laser micropulsato l'impulso è frazionato in un treno di microimpulsi e la temperatura non solo non ha il tempo di salire a livelli letali, ma vi sono intervalli tra i microimpulsi per il raffreddamento tissutale

circostante lo spot laser si attivano benefici effetti biologici cellulari con la sovra e sotto regolazione di vari fattori presenti a livello delle cellule dell'epitelio pigmentato retinico: sovraespressione del PEDF (pigment epithelium-derived factor), sovraespressione di inibitori del vascular endothelial growth factor (VEGF), sottoregolazione degli induttori del VEGF e di fattori di permeabilità⁵ (Fig. 1).

Le cellule dell'epitelio pigmentato retinico distrutte dal calore non sono capaci di indurre questa attività biologica, mentre la stimolazione fototermica subletale nell'area circostante lo spot⁶ induce l'espressione di heat shock protein (HSP)⁷ normalizzando la risposta delle citochine responsabili di numerosi disordini retinici e riducendo l'infiammazione cronica⁸.

I cambiamenti della temperatura tissutale durante e dopo l'esposizione al laser determinano e caratterizzano il tipo di trattamento che stiamo effettuando (Fig. 2) che potrà essere:

- *soprasoglia* (visibile durante l'esposizione al laser)
- *in soglia* (appena visibile al termine a o subito dopo l'esposizione al laser)
- *sottosoglia* (non visibile)

Quando parliamo di trattamenti laser sotto la soglia del visibile dobbiamo tener presente che non esiste un solo sottosoglia poiché se riduciamo progressivamente la potenza del laser ad un certo punto l'effetto non è più visibile all'operatore ma è evidenziabile con tecniche di imaging.

Inizialmente l'effetto del laser continua ad essere visibile con un oftalmoscopio a scansione laser, riducendo ulteriormente la potenza l'effetto è visibile esclusivamente effettuando una fluoroangiografia; riducendo ulteriormente la potenza per vederne l'effetto è necessaria l'autofluorescenza^{9,10}.

Se riduciamo ulteriormente la potenza nessuna tecnica di imaging ci farà vedere l'effetto del laser ma il

laser continua a produrre benefici effetti biologici intracellulari^{11,12,13,14}.

Essi scompariranno quando scendiamo al di sotto della soglia di attivazione degli effetti biologici (Fig. 3).

Il sottosoglia ideale per effettuare la fotostimolazione, e quindi trattare in sicurezza patologie in macula e in fovea, è quello compreso tra la soglia di attivazione degli effetti biologici (soglia inferiore) e la soglia di non visibilità in autofluorescenza (soglia superiore).

La modalità migliore per lavorare all'interno del sottosoglia ideale non è quella di ridurre la potenza o il tempo di esposizione di un laser convenzionale ma di esporre di un laser micropulsato.

Un laser in onda continua emette un flusso costante di energia anche con tempi brevissimi di esposizione e la temperatura ha il tempo di salire (Fig. 4), al contrario in un laser micropulsato l'emissione continua è frazionata in un treno di brevi impulsi la cui durata (on) e l'intervallo (off) possono essere variati dall'operatore (Fig. 5), parliamo pertanto di ciclo operativo (Fig. 6).

Una più breve durata limita il tempo in cui il calore indotto dal laser diffonde nei tessuti adiacenti, un intervallo più lungo fornisce un tempo addizionale per il raffreddamento del tessuto.

Il ciclo operativo oggi più utilizzato nel trattamento



Fig. 6 - Il ciclo operativo è espresso, in percentuale (%), dalla durata di ciascun microimpulso (TEMPO ON) diviso il periodo (TEMPO ON + l'intervallo tra i microimpulsi TEMPO OFF) moltiplicato per 100

delle patologie retiniche è il 5% in cui un impulso di 200 msec è frazionato in 100 microimpulsi di 2 msec in ognuno dei quali il laser è 0,1 msec ON e 1,9 msec OFF ($0,1 \text{ msec} / 2 \text{ msec} [0,1 + 1,9] = 0,05 \times 100 = 5\%$). Numerosi studi confermano l'efficacia e la sicurezza del laser micropulsato senza produrre alcun tipo di danno

SOVRA-REGOLAZIONE DI INIBITORI DI VEGF (PEDF 1 E TSP1) E SOTTO-REGOLAZIONE DI INDUTTORI

- OGATA N, GRAEFES ARCH CLIN EXP OPHTHALMOL 2001; 239:87-95
- OGATA N, AM J OPHTHALMOL 2001; 132:427-8
- WILSON AS, INVEST OPHTHALMOL VIS SCI 2003; 44:1426-34
- BINZ N, FASEB J 2006; 20(2):383-5
- ITO YN, MOL VIS 2006; 12:802-10

SOVRAESPRESSIONE DI SDF1 (STROMAL CELL-DERIVED FACTOR 1) POTENTE CHEMO-ATTRAENTE DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE DEL MIDOLLO, PROMOTORE DI MIGRAZIONE E DIFFERENZIAZIONE PER IL RIPRISTINO DI CELLULE EPITELIALI E/O ENDOTELIALI DISFUNZIONALI

- HARRIS JR, INVEST OPHTHALMOL VIS SCI 2006; 47:2008-13
- WANG HC, VISION RES EPUB 2009
- KAUSHAL S, RELAZIONE ALLA MACULA SOCIETY ANNUAL MEETING 2008, PALM BEACH, FL
- KENT DL, INVEST OPHTHALMOL VIS SCI 2012; 53:ARVO E-ABSTRACT 1652-D883
- YU AK, INVEST OPHTHALMOL VIS SCI 2013; 54:2216-24
- LIN PK, INVEST OPHTHALMOL VIS SCI 2013 ONLINE # 13-10499

SOTTO-REGOLAZIONE DI MMPS CHE DEGRADANO MATRICI EXTRACELLULARI E SOVRA-REGOLAZIONE DEI LORO TIMPS (TISSUE INHIBITORS OF METALLOPROTEINASES) CHE INIBISCONO L'INIZIAZIONE ED IL MANTENIMENTO DI ANGIOGENESI

- FLAXEL JR, RETINA 2007; 27:629-34

SOVRA-ESPRESSIONE DI PROTEINE NEUROPROTETTIVE (HSP)

- DESMETTRE T, INVEST OPHTHALMOL VIS SCI 2003; 44:1426-34

Fig. 7 - Numerosi studi sono stati fatti in vivo ed in vitro per spiegare il meccanismo d'azione del laser micropulsato rilevando nelle aree trattate la sovraespressione di potenti antiangiogenetici, la sovraespressione di fattori che normalizzano la funzione di cellule epiteliali ed endoteliali, la sovraespressione di fattori che inibiscono l'induzione e il mantenimento dell'angiogenesi e la sovraespressione di proteine da shock termico che regolano la produzione di citochine responsabili di numerosi disordini retinici.

ai fotorecettori e all'epr^{9,10}.

La migliore lunghezza d'onda per trattare patologie maculari è di 577 nm (giallo), in quanto ha il picco di assorbimento a livello dell'ossiemoglobina inoltre tale lunghezza d'onda non è assorbita dai carotenoidi presenti a livello foveale, quali luteina e zeaxantina, fattore che rende sicuro il trattamento anche in fovea.

Il laser micropulsato induce dei benefici effetti biologici intracellulari senza alcun danno visibile durante o dopo il trattamento

I principali studi sul meccanismo d'azione del laser micropulsato sono riportati in Fig. 7

Quindi con un laser micropulsato possiamo passare dalla fotocoagulazione in cui l'effetto terapeutico non può prescindere da un danno alla neuroretina a quella che è corretto definire fotostimolazione.

La modalità migliore per evocare quei meccanismi d'azione positivi riportati in Fig. 7 è trattare con spots confluenti tutta l'area patologica

Utilizzando un laser non visibile e dovendo trattare con spots confluenti tutta l'area patologica è utile disporre di un laser multispot che rilascia gli impulsi secondo griglie definite.

Per tutte le patologie retiniche da noi trattate abbiamo un identico protocollo di trattamento:

Midriasi farmacologica con Tropicamide coll 1% e anestesia topica con Benoxinato coll 4%

Applicazione lente a contatto AREA CENTRALIS (FIELD OF VIEW 70/84°, Image Mag. 1.06x, Laser Spot 0.94%, Volk Optical, Mentor, Lake, OH, USA). Fotostimolazione con Laser Diodo Micropulsato giallo, lunghezza d'onda di 577nm (IQ, Iridex Corporation, Mountain View, CA).

I parametri del laser:

- Spots laser: "confluenti" (MULTISPOTS) il trattamento viene eseguito su tutta l'area patologica
- Potenza: 70% della potenza minima necessaria ad ottenere lo sbiancamento retinico, in modalità micropulsata (valutazione con oftalmoscopio a scansione laser dopo venti minuti).
- Diametro spot: 100 µm
- Durata dell'impulso: 200 millisecondi
- Ciclo operativo: 5%.

Applicazioni cliniche principali del laser micropulsato

- Risensibilizzazione della degenerazione maculare neovascolare non più responsiva agli anti vegf^{15,16}
- Corioretinopatia sierosa centrale^{17,18}
- Edema maculare diabetico^{19,20,21}
- Edema maculare post trombosi^{22,23}

- Cronico e residuo distacco retinico subfoveale dopo chirurgia^{24,25}
- Edema maculare da radioterapia²⁶
- Retinite pigmentosa²⁷

Casi clinici

- Degenerazione maculare con membrana neovascolare sottoretinica sottoposta a 11 iniezioni intravitreali di anti-vegf senza risposta (Fig. 8 e 9).
- Corioretinopatia sierosa centrale cronica (Fig. 10 e 11)
- Fotostimolazione panmaculare nella retinite pigmentosa (Fig. 12 e 13).

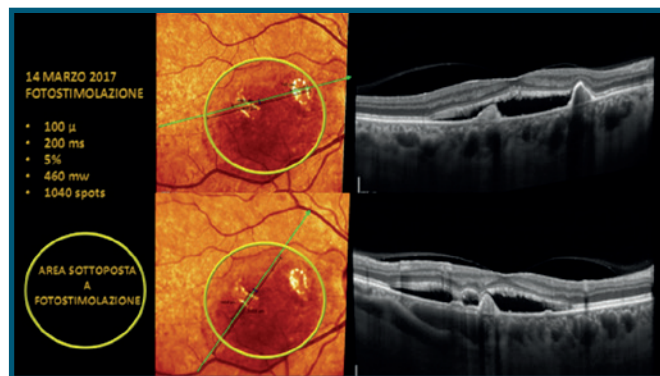


Fig. 8 - Degenerazione maculare neovascolare già sottoposta a 11 iniezioni intravitreali senza risposta all'anti vegf; vengono riportati i parametri della fotostimolazione con laser micropulsato 577 nm, il trattamento con spots confluenti va esteso ad aree di epitelio pigmentato normofunzionante

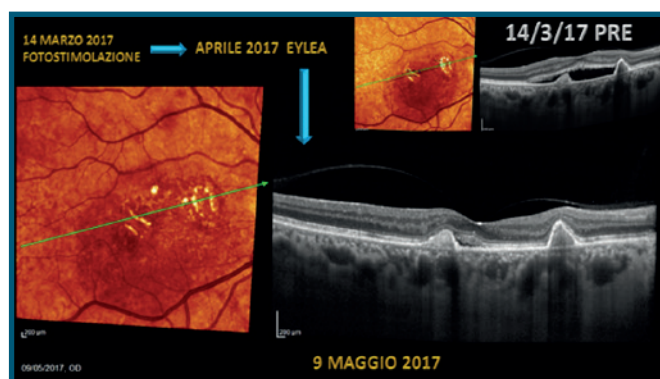


Fig. 9 - Dopo fotostimolazione l'anti-vegf utilizzato più volte in precedenza senza risposta diviene per la prima volta efficace

Conclusioni

A causa delle complicanze e degli effetti collaterali, la terapia laser convenzionale è passata in secondo piano rispetto ai farmaci nel trattamento delle patologie maculari, ma possiamo oggi affermare che il danno

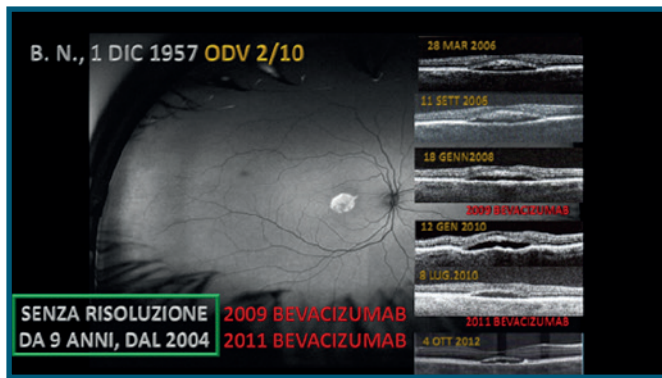


Fig. 10 - Cronico distacco del neuroepitelio datante da 9 anni, senza risoluzione, sottoposto a 2 iniezioni intravitreali di bevacizumab. Sulla destra sequenza degli OCT.

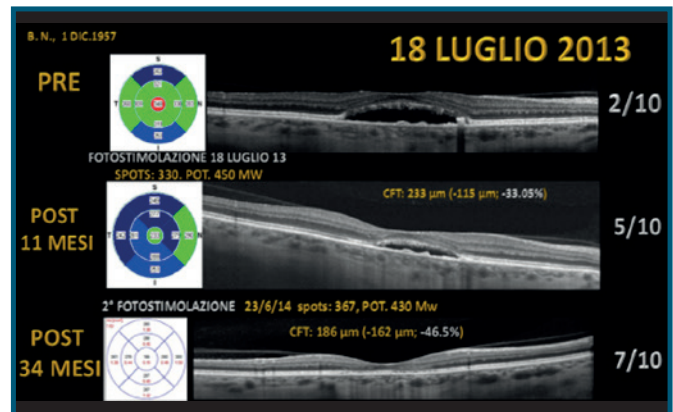


Fig. 11 - Cronico distacco del neuroepitelio datante da 9 anni e parametri del trattamento; dopo una prima fotostimolazione si ha una riduzione del distacco del neuroepitelio ma non la risoluzione, per cui ad 11 mesi viene effettuata una seconda fotostimolazione. Diametro dello spot 100 u, tempo di esposizione 200 msec., ciclo operativo 5%, variano numero degli spots e potenze utilizzate. In basso OCT a 34 mesi dalla prima fotostimolazione

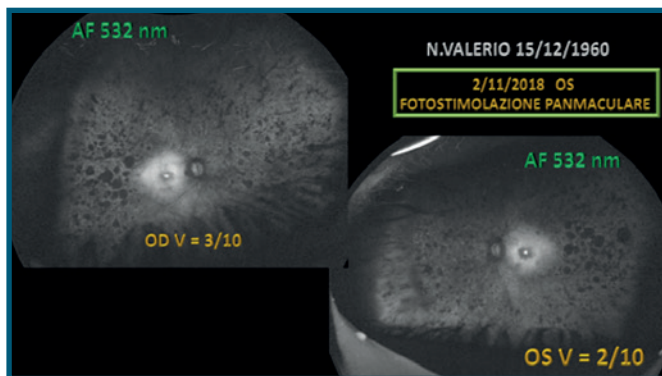


Fig. 12 - Retinite pigmentosa, fotostimolazione panmaculare OS

retinico indotto dal laser non è più necessario per ottenere un effetto terapeutico.

Il laser micropulsato sottosoglia rappresenta una valida alternativa al laser convenzionale a onda continua per il trattamento di molte patologie retiniche e maculari in quanto, a differenza del laser convenzionale, l'effetto terapeutico del laser micropulsato sottosoglia non è accompagnato da danno retinico termico.

Ciò è di particolare importanza quando è richiesto un trattamento di patologie foveali e maculari.

La terapia con il laser micropulsato sottosoglia si sta diffondendo in quanto trattamento non invasivo, sicuro ed efficace.

Ha un'efficacia elevata nella corioretinopatia sierosa centrale e, in tale patologia, potrebbe essere considerato come il trattamento di prima scelta proprio in rapporto alla sicurezza ed alla non invasività, quindi potrebbe diventare la terapia di prima linea, anche nei casi acuti, senza attendere la remissione spontanea.

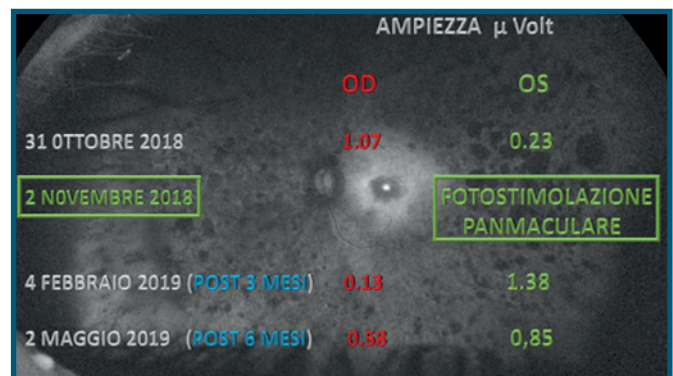


Fig. 13 - Dopo fotostimolazione si riscontra un miglioramento del PERG nell'occhio sinistro trattato a 3 mesi dalla fotostimolazione rispetto all'occhio controlaterale; a 6 mesi anche se in regressione l'ampiezza in μ V è sempre migliore rispetto all'occhio non trattato

Nell'edema maculare diabetico e nell'edema post trombotosi può essere utilizzato in associazione alle terapie intravitreali

Dato l'elevato ed esclusivo profilo di sicurezza del laser micropulsato sottosoglia, rispetto al laser convenzionale, le applicazioni sono in continua espansione.

Va inoltre considerato che abbiamo a disposizione un trattamento facilmente ripetibile e non invasivo se paragonato ad una fotocoagulazione distruttiva o ad una iniezione intravitreale, e comunque trattasi di un'arma in più da associare alle altre terapie. ■

BIBLIOGRAFIA

1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Photocoagulation for diabetic macular edema. Early treatment diabetic retinopathy study report number 1. *Arch Ophthalmol*. 1985;103:1796-806.
2. Robertson DM, Ilstrup D. Direct, indirect, and sham laser photocoagulation in the management of central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol*. 1983;95(4):457
3. The Branch Vein Occlusion Study Group. Argon laser photocoagulation for macular edema in branch vein occlusion. *Am J Ophthalmol*. 1984;98(3):271-82.
4. Smith CW, Guyer DR, D'Amico DJ. Subretinal fibrosis after laser photocoagulation for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol*. 1992;113(6):652-6.
5. Wilson AS, Hobbs BG, Shen W-Y, et al. Argon laser photocoagulation-induced modification of gene expression in the retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(4):1426-34.
6. Dorin G. Evolution of retinal laser therapy: minimum intensity photocoagulation (MIP). Can the laser heal the retina without harming it? *Semin Ophthalmol*. 2004;19(1-2):62-8. Inagaki K, Shuo T, Katakura K, Ebihara N, Murakami
7. A, Ohkoshi K. Sublethal photothermal stimulation with a micropulse laser induces heat shock protein expression in ARPE-19 cells. *J Ophthalmol*. 2015;2015:729792.
8. Flaxel, C.; Bradle, J.; Acott, T.; Samples, J.R. Retinal pigment epithelium produces matrix metalloproteinases after laser treatment. *Retina* 2007, 27, 629-634.
9. Wells-Gray, E.M.; Doble, N.; Ohr, M.P.; Choi, S.S. Structural Integrity of Individual Cone Photoreceptors After Short-Wavelength Subthreshold Micropulse Laser Therapy for Diabetic Macular Edema. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging Retina* 2018, 49, 946-954
10. Inagaki, K.; Ohkoshi, K.; Ohde, S. Spectral-domain optical coherence tomography imaging of retinal changes after conventional multicolor laser, subthreshold micropulse diode laser, or pattern scanning laser therapy in Japanese with macular edema. *Retina* 2012, 32, 1592-1600.
11. Li, Z.; Song, Y.; Chen, X.; Chen, Z.; Ding, Q. Biological Modulation of Mouse RPE Cells in Response to Subthreshold Diode Micropulse Laser Treatment. *Cell Biochem. Biophys*. 2015, 73, 545-552
12. De Cillà, S.; Vezzola, D.; Farruggio, S.; Vujosevic, S.; Clemente, N.; Raina, G.; Mary, D.; Casini, G.; Rossetti, L.; Avagliano, L.; et al. The subthreshold micropulse laser treatment of the retina restores the oxidant/antioxidant balance and counteracts programmed forms of cell death in the mice eyes. *Acta Ophthalmol*. 2018
13. Midena, E.; Bini, S.; Martini, F.; Enrica, C.; Pilotto, E.; Micera, A.; Esposito, G.; Vujosevic, S. Changes of aqueous humor müller cells' biomarkers in human patients affected by diabetic macular edema after subthreshold micropulse laser treatment. *Retina* 2018
14. Palanker, D. Evolution of Concepts and Technologies in Ophthalmic Laser Therapy. *Annu. Rev. Vis. Sci*. 2016, 2, 295-319
15. Luttrull JK, Sinclair SH, Elmann S, Glaser BM. Low incidence of choroidal neovascularization following subthreshold diode micropulse laser (SDM) in high-risk AMD. 2018 Aug 23;13
16. Luttrull JK, Chang DB, Margolis BW, Dorin G, Luttrull DK. Laser resensitization of medically unresponsive neovascular age-related macular degeneration: efficacy and implications. *retina*. 2015 Jun;35(6):1184-94.
17. Luttrull JK. Low-intensity/high-density subthreshold diode micropulse laser for central serous chorioretinopathy. *Retina*. 2016 Sep;36(9):1658-63.
18. Esposti P.L., Fruschelli M., Denaro R., Esposti G. Evaluation of Chronic Central Serous Chorioretinopathy after Subthreshold Yellow Micropulse Diode Laser Photostimulation at a Wavelength of 577 nm. *J Clin Exp Ophthalmol* 2018, 9:4
19. Vujosevic S, Bottega E, Casciano M, Pilotto E, Convento E, Midena E. Microperimetry and fundus autofluorescence in diabetic macular edema: subthreshold micropulse diode laser versus modified early treatment diabetic retinopathy study laser photocoagulation. *Retina*. 2010 Jun;30(6):908-16.
20. Luttrull JK, Sinclair SH. Safety of transfoveal subthreshold diode micropulse laser for fovea-involving diabetic macular edema in eyes with good visual acuity. *Retina*. 2014 Oct;34(10):2010-20.
21. Vujosevic S, Martini F, Longhin E, Convento E, Cavarzeran F, Midena E. Subthreshold micropulse yellow laser versus subthreshold micropulse infrared laser in center-involving diabetic macular edema: morphologic and functional safety. *Retina*. 2015 Aug;35(8):1594-603.
22. Parodi MB1, Spasse S, Iacono P, Di Stefano G, Canziani T, Ravalico G. Subthreshold grid laser treatment of macular edema secondary to branch retinal vein occlusion with micropulse infrared (810 nanometer) diode laser. *Ophthalmology*. 2006 Dec;113(12):2237-42.
23. Inagaki K, Ohkoshi K, Ohde S, Deshpande GA, Ebihara N, Murakami A. Subthreshold Micropulse Photocoagulation for Persistent Macular Edema Secondary to Branch Retinal Vein Occlusion including Best-Corrected Visual Acuity Greater Than 20/40. *J Ophthalmol*. 2014;2014:251257.
24. Esposti PL, Denaro R., Motolese E., Fruschelli M., Esposti G., Dorin G., Frezzotti P. Fotostimolazione con laser giallo in residuo distacco retinico postchirurgico. *Ottica fisiopatologica, Set*. 2014
25. Esposti G., Esposti P.L., Fruschelli M., Hadjistilianou T. Photostimulation with subthreshold yellow micropulsed laser for chronic residual subfoveal rhegmatogenous retinal detachment after surgery. *Acta Ophthalmologica* Sep 2017
26. Wong JG, Nguyen TTH. Yellow Pattern 577-nm Micropulse Laser: Treatment of Macular Edema from Radiation Retinopathy - A Case Report. *Case Rep Ophthalmol*. 2017 Feb 2;8(1):81-86.
27. Luttrull JK. Improved retinal and visual function following panmacular subthreshold diode micropulse laser for retinitis pigmentosa *Eye (Lond)*. 2018 Jun;32(6):1099-1110.

Anatomia vascolare retinica Angio-OCT, Slabs di decorrelazione & Intelligenza artificiale



Amedeo Lucente

Abstract: L'introduzione degli Angio-OCT nella diagnostica strumentale oftalmologica ha apportato indubbi vantaggi per la rapida e non invasiva modalità d'esecuzione, la migliore individuazione delle lesioni neuro-corio-retiniche, e la positiva ricaduta sull'appropriatezza delle scelte terapeutiche. La possibilità di evidenziare le reti vascolari retiniche, oggetto di un interessante e recente studio di Campbell et al., è stata largamente discussa. L'articolo continua offrendo utili considerazioni sull'imaging OCTA, discute la letteratura più recente sulle slabs di segmentazione, evidenzia lo scarso agreement degli OCTA, e prospetta i benefici che l'applicazione dell'intelligenza artificiale potrà avere sulla qualità finale dei plessi vasali.

Keywords and abbreviations: AI Artificial Intelligence, AO-cSLO Adaptive Optics confocal Scanning Laser Ophthalmoscop, BEE Barriera Emato-Encefalica, BER Barriera Emato-Retinica, DCP Deep Capillary Plexus, FA Fluorangiografia, FDA, Food and Drug Administration, FAZ Foveal Avascular Zone, GPU Graphics Processing Unit, GCL Ganglion Cell Layer, ICP Intermediate Capillary Plexus, INL Inner Nuclear Layer, OCTA Optical Coherence Tomography Angiography, NFL Nerve Fiber Layer, RPCP Radial Peripapillary Capillary Plexus, SVP Superficial Vascular Plexus, SS-OCT Swept-Source OCT.

Brevi cenni di anatomia vascolare retinica

L'introduzione degli Angio-OCT nella diagnostica strumentale oftalmologica ha apportato indubbi vantaggi per la rapida e non invasiva modalità d'esecuzione, la migliore individuazione delle lesioni neuro-corio-retiniche, e la positiva ricaduta sull'appropriatezza delle scelte terapeutiche.

Questi evidenti progressi sono il risultato di un'imaging dettagliato che permette una visualizzazione strutturale nella dimensione lineare e tridimensionale.

I molti evidenti benefici della tomografia assiale computerizzata, ora anche angiografica, hanno aperto

interessanti discussioni e favorito utili reinterpretazioni su molti aspetti anatomo-funzionali della corio-retina, in particolare per quanto riguarda la sua struttura vascolare.

La FDA Food and Drug Administration (o USFDA), agenzia governativa statunitense istituita nel 1906 da Theodore Roosevelt con sede Silver Spring nel Maryland, si occupa della regolamentazione dei prodotti alimentari e farmaceutici negli USA. Nella sessione CDRH Center for Devices and Radiological Health, svolge il compito di visionare i nuovi device medicali che le industrie immettono sul mercato.

TABELLA 1
ALCUNE CARATTERISTICHE DEI DEVICE OCTA DISPONIBILI FDA APPROVED O PENDING

Commercial name	Company	Algorithm used	OCTA approach	OCT spectrum	FDA approval
AngioVue™	Optovue, Inc.	SSADA	Intensity decorrelation	Split-spectrum	Approved
AngioPlex™	Zeiss	OMAG-C	Combined intensity and phase variance	Full-spectrum	Approved
SS-OCT Angio™	Topcon Corp.	OCTARA	Intensity ratio analysis	Full-spectrum	Pending
AngioScan	NIDEK CO., L TD		Combined intensity and phase decorrelation		Pending
SPECTRALIS® OCT Angiography	Heidelberg Engineering		Intensity decorrelation	Full-spectrum	Pending

Abbreviazioni: FDA = Food and Drug Administration, OCTA = Optical coherence tomography angiography, OCTARA = Optical coherence tomography angiography ratio analysis, OMAG-C = OCT Microangiography Complex, SSADA = Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography, SS-OCT Angio = Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography (by Ahmed M. Hagag et al. Taiwan J Ophthalmol 2017;7:115-129)

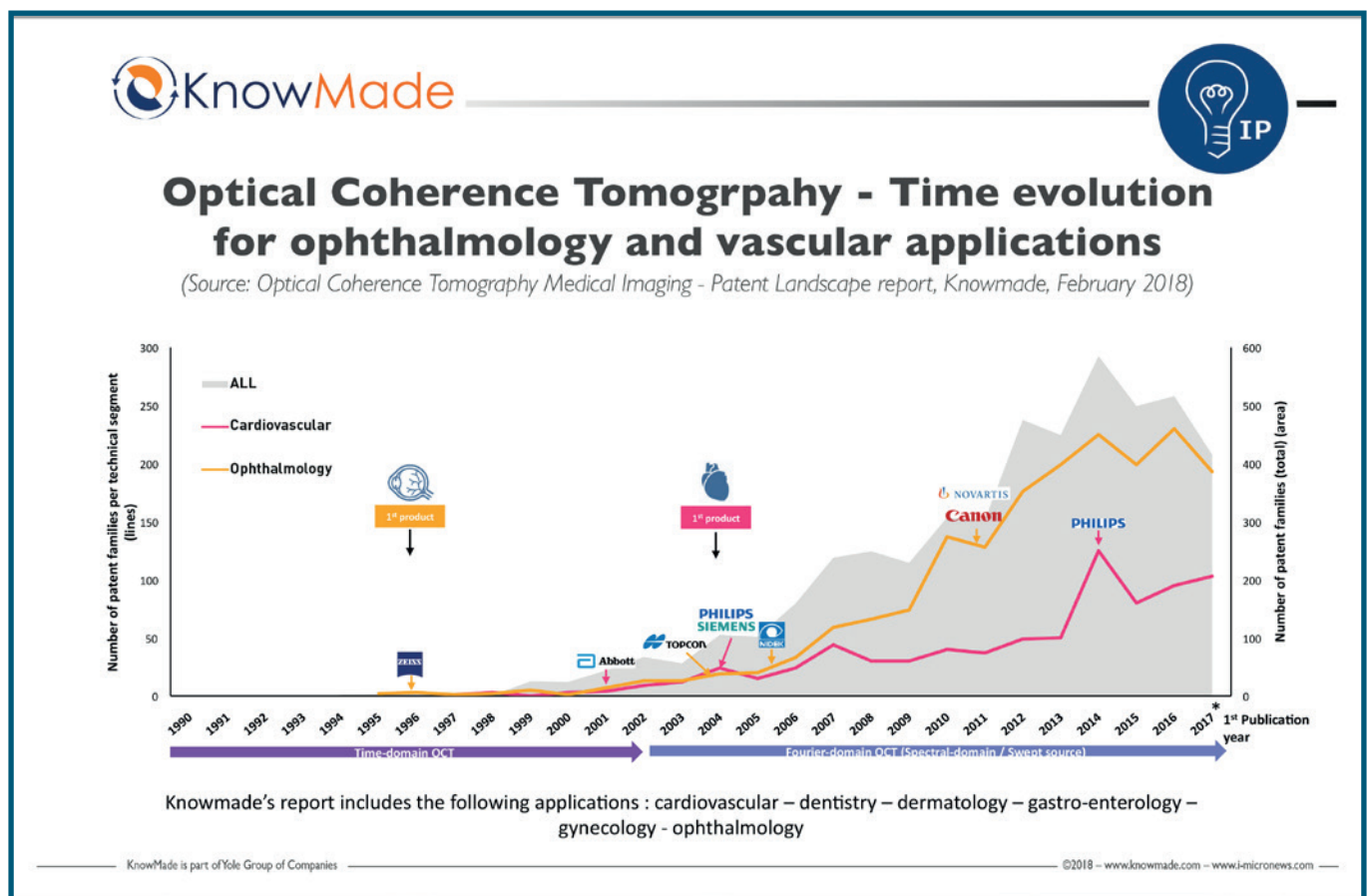


Fig. 1 - Evoluzione degli OCT e loro applicazioni vascolari
 (by <https://www.knowmade.com/medical-imaging-technologies-oct-dynamic-competitive-industry>)

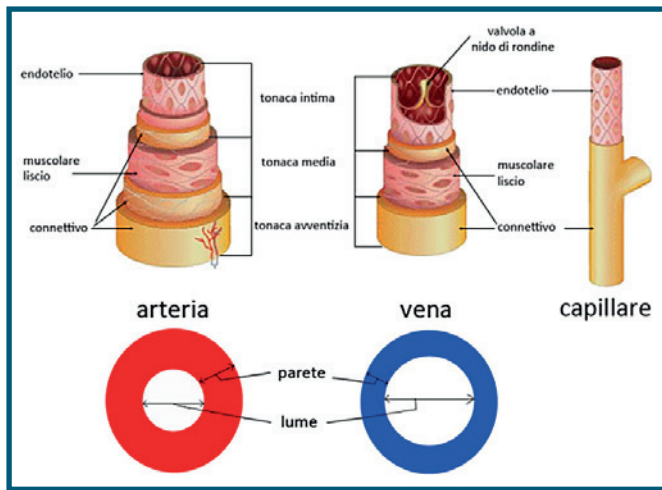


Fig. 2 - Struttura di un'arteria e di una vena rispetto al capillare
(by Medicina on line, <https://medicinaonline.co/2017/01/23/>)

Verso la fine del 2016 ha approvato definitivamente la tecnologia OCTA Optical Coherence Tomography Angiography; i device al 2017 FDA "approved o pending" sono elencati nella Tabella 1.

Lo sviluppo tecnologico degli OCT/OCTA è stato repentino; altrettanto straordinario è stato il loro successo commerciale, che ha registrato inaspettate affermazioni non solo in campo oftalmologico (Fig.1).

Le conoscenze dei networks vascolari della corio-retina hanno basi istologiche consolidate, come si può leggere nei numerosi studi pubblicati in letteratura. *Provis et al.* evidenziano, tra i tanti autori, che la retina umana ha una vascolarizzazione simile ai macachi (*Macaco Rhesus*); poche differenze ci sono con ratti e gatti.

Tali concordanze scaturiscono soprattutto dal confronto delle regioni temporali retiniche per la presenza della fovea, area specializzata nella visione distinta.

Molti dati istologici conosciuti derivano da studi comparati con queste specie animali [1].

Le arterie intorno al nervo ottico, prima di penetrare nella sclera, hanno un diametro di circa 100 μm (0,1 mm) e uno spessore di parete ~ a 18 μm (Fig. 2).

Queste dimensioni diminuiscono progressivamente verso la regione equatoriale; nella retina periferica si trovano diametri dieci volte inferiori ~ a 15 μm .

La parete delle arterie retiniche è composta di un unico strato di cellule endoteliali, uno strato sub-endoteliale elastico, uno medio di cellule muscolari lisce e, all'esterno, da una sottile lamina elastica, con un'avventizia ricca di fibre collagene [2].

Identica struttura troviamo nelle arterie dei muscoli scheletrici.

Lo strato muscolare delle arterie retiniche al polo posteriore è formato da cinque/sei lamine di cellule

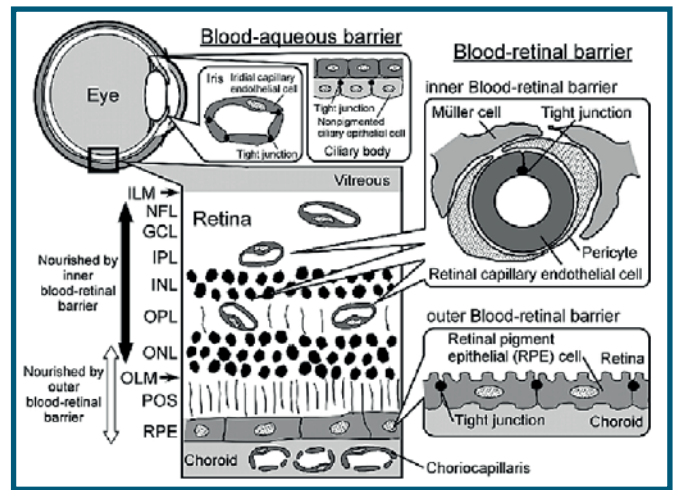


Fig. 3 - Schema della Blood-Ocular Barrier.
Abbreviazioni: RPE, retinal pigment epithelium; POS, photoreceptor outer segments; OLM, outer limiting membrane; ONL, outer nuclear layer; OPL, outer plexiform layer; INL, inner nuclear layer; IPL, inner plexiform layer; GCL, ganglion cell layer; NFL, nerve fiber layer; ILM, inner limiting membrane
(Modificato by <https://www.researchgate.net>)

muscolari lisce, che nella regione equatoriale si riducono a tre lamine e, nella periferia retinica, a due [2].

Questa complessa struttura muscolare serve a mantenere e garantire un flusso ematico regolare, capace di rispondere prontamente a stimoli chimici o pressori differenti. In condizioni fisiologiche l'ossigenazione tissutale è così sempre adeguata.

La parete interna dei capillari retinici è composta di cellule endoteliali, membrana basale e periciti intramurali. Il loro lume ha un diametro ~ 3,5 μm / 6 μm .

Il diametro medio dei globuli rossi è ~ 7,5 μm ; per tale motivo le emazie nei capillari retinici scorrono "in fila indiana".

I periciti (cellule murali o cellule di Rouget), distribuiti tra lamina basale ed endotelio svolgono, non solo in ambito retinico, un importante ruolo nel regolare il flusso ematico [2,3].

Il loro profilo d'azione interviene infatti nella regolazione della BEE, barriera emato-encefalica (BEE o BBB, blood-brain barrier). La BEE ha funzioni complesse, dinamiche nel controllo del diametro dei capillari, del flusso ematico e, in modo non ancora ben compreso, nell'angiogenesi [3].

Simile funzione i periciti svolgono nella circolazione corio-retinica.

A differenza della coriocapillare, l'endotelio dei capillari retinici non è però fenestrato.

Le cellule endoteliali dei capillari retinici mostrano infatti zone occludens che impediscono il libero transito delle molecole in entrambe le direzioni. Queste

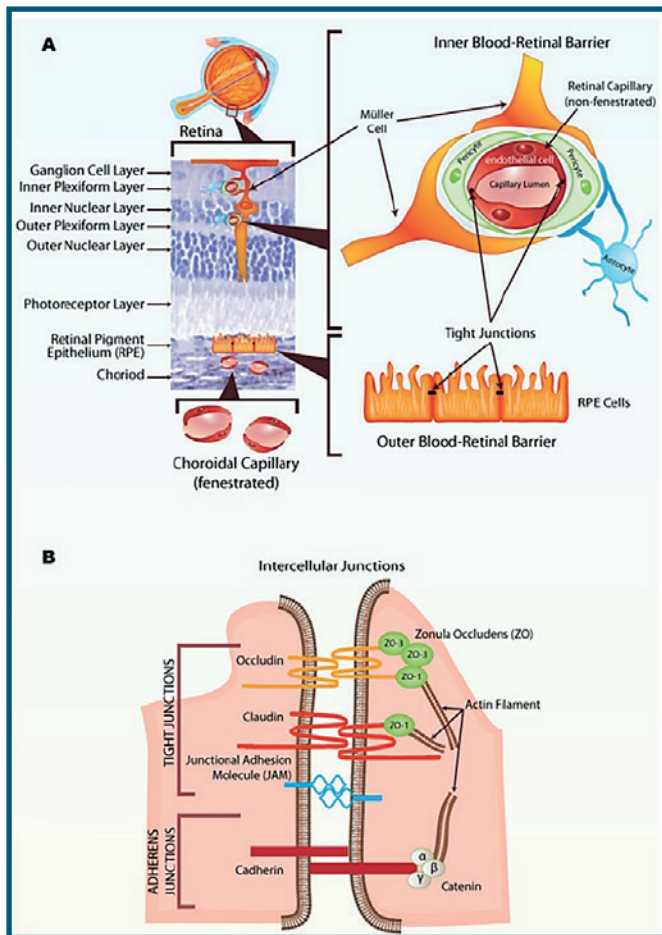


Fig. 4 - Blood-Retinal Barrier
(by <https://www.researchgate.net>)

giunzioni strette sono l'elemento fondante della barriera emato-retinica interna.

La BER Barriera Emato-Retinica è formata infatti, in modo del tutto esclusivo, da un doppio sbarramento cellulare a perfetta tenuta, uno strettamente intraretinico, e l'altro retino-coroideale (Fig. 3) [4]. I capillari intraretinici, insieme alle cellule del Müller e agli astrociti, non meno importanti per garantire una perfetta tenuta, costituiscono la barriera emato-oculare interna (Inner Blood-Retinal Barrier); le cellule dell'epitelio pigmentato retinico, provviste anch'esse di giunzioni occludenti (tight junction), formano la barriera emato-oculare esterna (Outer Blood-Retinal Barrier) (Fig. 4) [5].

Le vene retiniche, in prossimità del disco ottico, hanno un diametro ~ a 200 μm (0,2 mm), circa doppio delle arterie.

La loro parete è composta di un unico strato di cellule endoteliali, una membrana basale, una tunica media di fibre elastiche, e 3/4 strati di fibre muscolari lisce, che in periferia sono rimpiazzate da periciti; all'esterno la loro parete termina con un'avventizia.

La minore presenza di cellule muscolari lisce rende le pareti delle vene retiniche relativamente più deboli e

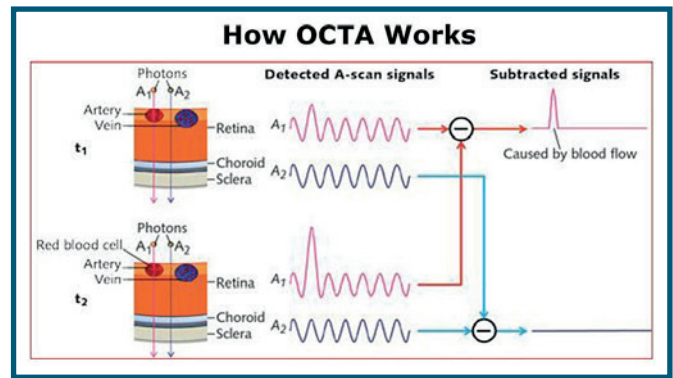


Fig. 5 - Schema di funzionamento degli OCTA
(by CHIEH-LI CHEN 11/13/2015 Bio Optics World)

maggiormente suscettibili agli insulti pressori e/o metabolici [2].

Vascularizzazione retinica & Angio-OCT

Gli OCTA, dopo l'approvazione della FDA, hanno avuto una rapida e favorevole diffusione (Fig.1).

L'imaging OCTA trova origine dal variabile backscattering della luce nel tessuto neuro-corio-retinico.

Il segnale tomografico ritorna senza interferenze dalle strutture istologiche che nel tempo non presentano variazioni morfologiche; se il segnale intercetta i vasi tissutali con flussi rilevabili si modifica, si decorrela [6].

La decorrelazione del segnale, dovuta essenzialmente al movimento delle emazie endovasali, presenta un'intensità variabile in fase e ampiezza proporzionale alla velocità degli elementi figurati endovasali e alla portata del lume intercettato (Fig. 5).

Gli algoritmi utilizzati per leggere il segnale decorrelato escludono ogni rilievo interferometrico di fondo e rilevano il segnale dinamico, il flusso vascolare corio-retinico [6].

L'imaging OCTA, generato dal tessuto in movimento, è possibile leggerlo sulle linee B-scan, cross-sectional images (B-frames), in falsi colori: in rosso per i flussi più evidenti, in verde per i flussi laminari come nella coriocapillare [6].

Le reti vascolari, con maggior impatto nell'imaging en face, sono ricostruite dal software con risultati iconografici non sempre perfettamente sovrapponibili tra i diversi device [23].

Un occhio attento ed esercitato tuttavia riconosce le caratteristiche dei network, e ricollega l'imaging ai device d'origine [6].

Queste differenze morfologiche nell'imaging sono dovute agli algoritmi di decorrelazione utilizzati, agli schemi di selezione correlati al segnale decorrelato, al software che ricostruisce il percorso dei singoli vasi, oltre che allo spessore delle slabs preimpostate.

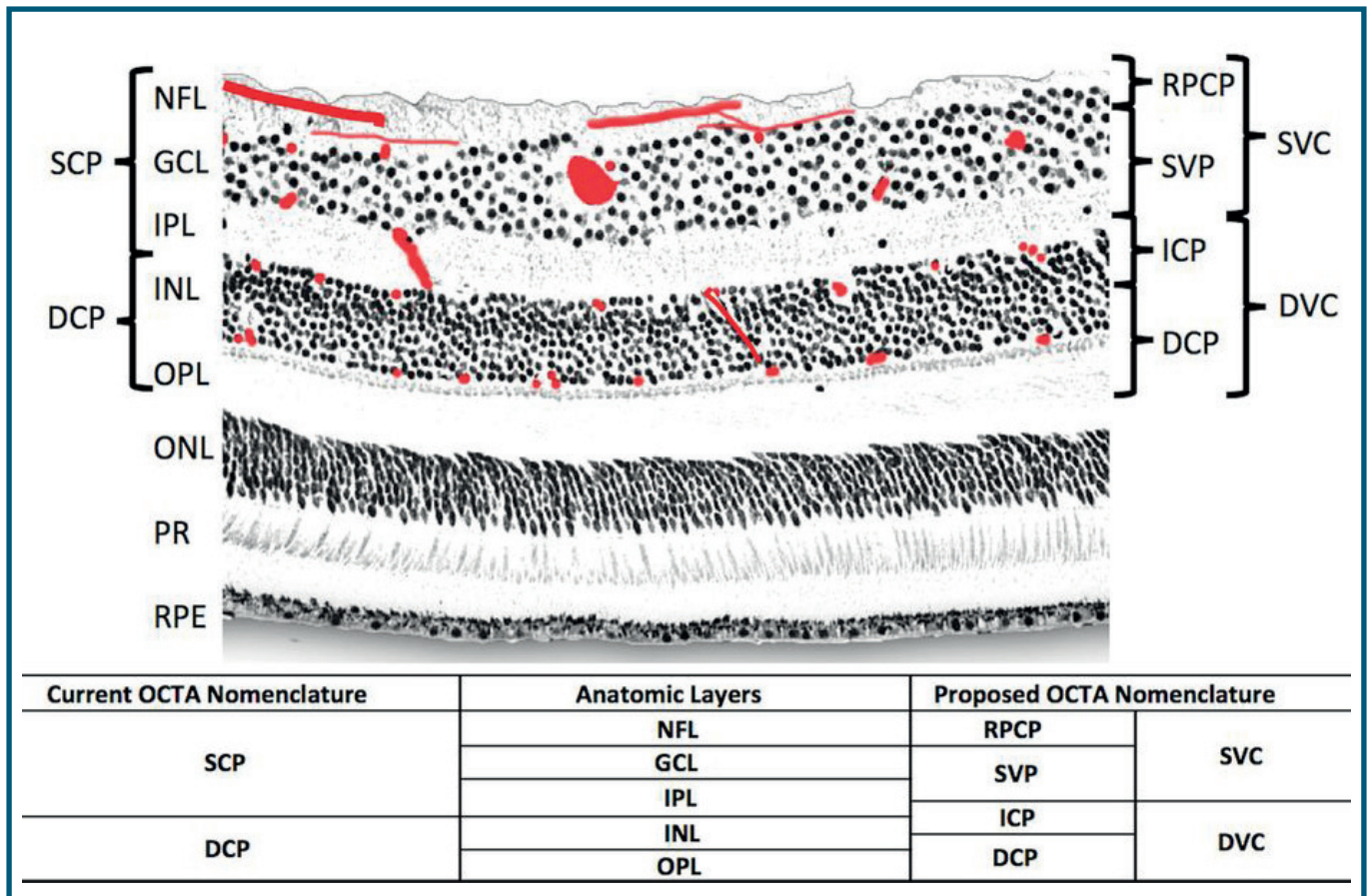


Fig. 6 - Localizzazione dei plessi vascolari retinici con segmentazione secondo Campbell et. al 2017. I plessi vascolari in rosso, disegnati a mano, sono denominati a destra; gli strati retinici sono denominati a sinistra. Confrontabili le due nomenclature vascolari, l'attuale e quella proposta da Campbell et al. (by Scientific Reports | 7:42201 | DOI: 10.1038/srep42201)

Tutte queste caratteristiche possono variare nei device in commercio, spesso frutto di brevetti depositati.

Campbell et al. recentemente propongono una nuova classificazione dei plessi vascolari con OCTA [22].

Gli autori distinguono nell'area papillo-maculare fino a quattro plessi vascolari. Nello strato delle cellule ganglionari GCL Ganglion Cell Layer descrivono il plesso vascolare superficiale SVP Superficial Vascular Plexus alimentato dall'arteria centrale della retina e composto di arterie, arteriole, vene, capillari (Fig. 6) [22].

Anastomosi verticali collegano il SVP a networks più profondi, al di sopra e al di sotto allo strato nucleare interno INL Inner Nuclear Layer [7,8] (Fig. 7).

Questi plessi vascolari capillari, denominati ICP Intermediate Capillary Plexus e DCP Deep Capillary Plexus rispettivamente, meno importanti per estensione, portata di flusso, si sviluppano orizzontalmente [22].

A questi tre plessi vascolari se ne aggiunge un quarto, il RPCP Radial Peripapillary Capillary Plexus.

Di aspetto lobulare, in parallelo agli assoni del NFL Nerve Fiber Layer, il RPCP svolge funzione di

supplenza, necessaria per le particolari esigenze metaboliche e di ossigenazione degli assoni nel tratto intraretinico, fortemente addensati e senza guaina mielinica (Fig. 6).

Questa complessa organizzazione vascolare, non chiaramente messa in evidenza in vivo con la fluorangiografia FA, è supportata da numerose ricerche e studi effettuati con la microscopia confocale ex vivo [9,10], in vivo con lo speckle variance OCT [11], e con l'utilizzo di ottiche adattive AO-cSLO adaptive optics confocal scanning laser ophthalmoscopy [12].

Dalla FA agli OCTA

Tra i molti studi presenti in letteratura, quelli svolti su retine di macaco del 1995 di Weinhaus et al. [13] e le ricerche del 2010 di Mendis et al. [14], più di altri, evidenziano il confronto tra i risultati dell'imaging FA con l'anatomia microvascolare retinica.

Nel primo studio si sottolinea come le dimensioni anatomiche della zona avascolare foveale retinica FAZ Foveal Avascular Zone siano sovrapponibili ai risultati ottenibili con FA. Nello stesso studio si fa rivelare

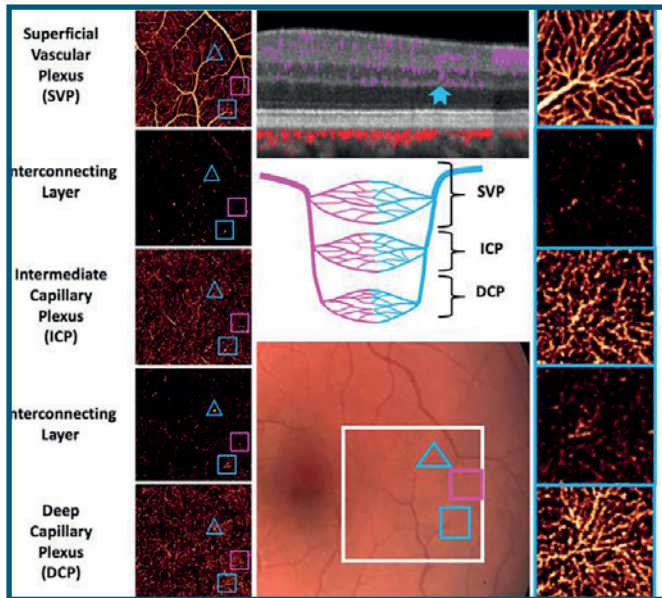


Fig. 7 - Fotografia del fondo oculare dell'area maculare in basso; imaging en face con algoritmo PR-OCT che mostra i vari plessi vascolari dal superficiale al profondo nei pannelli di sinistra; nel riquadro centrale si evidenziano le relazioni tra il sistema delle arterie e vene nei tre plessi SVP, ICP e DCP; nei riquadri a destra alcune venule che danno origine a network capillari nei tre plessi.
(by Scientific RepoRts | 7:42201 | DOI: 10.1038/srep42201).

tuttavia la difficoltà della FA a individuare i plessi vascolari retinici profondi per la predominanza del segnale proveniente dal SVP e dalla coroide [13]. Nel secondo studio, con maggior forza, gli autori rendono evidente i limiti della FA nell'indagare la vascularizzazione retinica profonda, e la sua incompleta capacità a fornire informazioni dettagliate sul network vascolare retinico superficiale [14]. Queste e altre considerazioni non diminuiscono tuttavia i meriti e vantaggi che la FA ha avuto nello studio delle patologie corio-retiniche, restando ancora indispensabile per la diagnosi in molte patologie vascolari complesse, oltre che come utile confronto. A fronte di questi indubbi vantaggi, la FA resta una tecnica invasiva, non raccomandata in gravidanza, nell'infanzia, e in soggetti con anamnesi di allergia; inoltre non è ripetibile a intervalli ravvicinati nel tempo [15]. L'angiografia OCTA ha il pregio di essere una tecnologia non invasiva, non a contatto, ripetibile, senza mezzo di contrasto e limiti per età o per stato di salute del paziente [15]. Un fondamentale limite della fotografia 2D e della FA, anche ad alta definizione e/o con imaging widefield, è, infatti, 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, discriminare la lamina cribrosa con

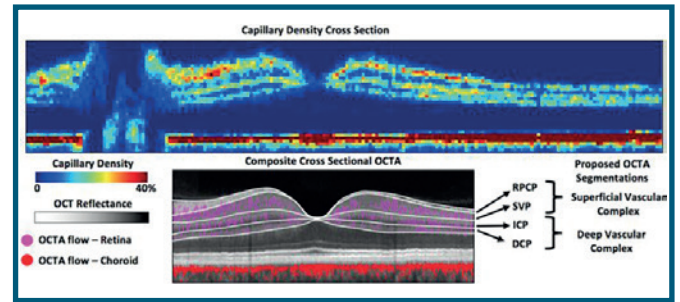


Fig. 8 - Cross-section dei capillari in soggetti normali nella regione retinica secondo Campbell et al.
Abbreviazioni: OCT = optical coherence tomography, RPCP = radial peripapillary capillary plexus, SVP = superficial vascular plexus, ICP = intermediate capillary plexus, DCP = deep capillary plexus, GCC = ganglion cell complex, OPL = outer plexiform layer, RPE = retinal pigment epithelium.
(by Scientific RepoRts | 7:42201 | DOI: 10.1038/srep42201)

dettagli prima impossibili in live, specie con l'utilizzo della tecnologia Swept Source OCT SS-OCT [15]. Il segnale complessivo OCTA è dovuto alla sovrapposizione della componente statica, dinamica e del noise di fondo: insieme determinano i voxel (pixel in 3D) catturati dai device.

Il segnale dinamico è 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, calcolarli, ed adeguatamente elaborarli con averaging finale, media statistica del segnale filtrato [15]. Questi limiti subiscono rapidi aggiornamenti nei software di ultima generazione.

La possibilità di poter segmentare la retina in sottili fette (slabs), ha permesso di evidenziare con OCTA la presenza di più aree di flusso nella compagine corio-retinica.

Inizialmente sono stati distinti due principali plessi, il superficiale SCP e il profondo DCP, descritti da *Lumbroso et al.* [16].

La nomenclatura OCTA è oggetto tuttavia di continue modifiche; gli studi di *Campbell et al.*, in parte riferiti, propongono una revisione complessiva delle reti vascolari con ampia eco di consensi. Per l'importanza che hanno questi studi, la loro portata nell'utilizzo degli OCTA, le novità offerte dell'algoritmo "projection-resolved" OCTA non presente in tutti i device, sembra utile fornire altri dati sull'argomento.

Nomenclatura Vascolare OCTA

Gli utilizzatori di OCTA hanno ben presente la suddivisione finora da tutti condivisa nei plessi superficiale e profondo, SCP e DCP.

J.P. Campbell et al. sostengono che i limiti della segmentazione in slabs, inizialmente utilizzata, non hanno permesso di intercettare efficacemente il plesso vascolare intermedio a causa della proiezione, nella retina profonda, del plesso superficiale, causando artefatto di coda (tailing artifact) [17,22].

Tale condizione ha reso impossibile ottenere un'immagine pulita dei plessi vascolari più profondi, visualizzare separatamente i plessi intermedi e profondo ICP e DCP, e dimostrare un segnale valido di flusso nella slab avascolare della retina esterna [18].

Gli autori, con l'utilizzo dell'algoritmo "projection-resolved" OCTA (PR-OCTA), descritto da Zhang et al., riescono a individuare quattro plessi vascolari, presenti non in tutte le aree retiniche [19], di cui abbiamo in parte già discusso (Fig. 6 > Fig. 8).

Gli autori riservano il termine di plesso a ogni segnale angiograficamente rilevabile con l'ausilio dell'algoritmo PR-OCTA. Con questa tecnologia individuano:

- RPCP Radial Peripapillary Capillary Plexus
- SVP Superficial Vascular Plexus
- ICP Intermediate Capillary Plexus
- DCP Deep Capillary Plexus

Con il termine "Complexes" delimitano due complessi vascolari principali, il superficiale e il profondo (SVC e DVC). Il Superficial Vascular Complex SVC include i due plessi capillari più interni, RPCP e SVP, mentre il Deep Vascular Complex DVC include i plessi capillari più esterni, intermedio e profondo ICP e DCP [22] (Fig. 6).

Il plesso RPCP si evidenzia solo nell'area del disco ottico tra gli assoni ganglionari retinici.

In area maculare si possono individuare tre soli plessi: SVP nelle cellule ganglionari, ICP tra lo strato plessiforme interno Inner Plexiform Layer (IPL) e lo strato nucleare interno Inner Nuclear Layer (INL), e infine il plesso DCP Deep Capillary Plexus, rinvenibile tra lo strato INL e OPL Outer Plexiform Layer [20,22].

Il SVP è una rete di vasi grandi e piccoli collegati direttamente alle arterie e alle vene della retina; fornisce tutti gli altri plessi vascolari. SVP diminuisce di spessore all'aumentare della distanza dal nervo ottico, come parimenti si assottiglia lo spessore delle cellule ganglionari lungo l'asse maculo-papillare.

Questi dati sono concordi a quelli istologici, come rilevato da P. Henkind et al. [21].

Il complesso vascolare profondo DVC presenta capillari a forma lobulare di uguale dimensione, con capillari di collegamento tra i plessi di maggiore sezione [22].

Considerazioni sulle performance degli OCTA & agreement

I device OCT/OCTA in commercio offrono prestazioni differenti. Dal punto di vista strutturale siamo testimoni dell'evoluzione che ha portato l'imaging neuro-corio-retinico a standard molto elevati, con differenze tomografiche tra i device difficilmente apprezzabili, rilevabili solo dopo un'attenta analisi delle scansioni messe a confronto.

Le immagini tomografiche, per quanto riguarda il flusso con tecnologia Spectral o Fourier domine sono ancor meno sovrapponibili; le prestazioni dei singoli device rimangono pertanto distanti, non paragonabili, specie nel follow-up delle patologie corio-retiniche.

Gli algoritmi che permettono a ogni dispositivo di rilevare il flusso, determinano specifici protocolli di acquisizione adattati alle caratteristiche di ciascuna macchina. In particolare, il numero di scansioni OCT ripetute in ciascuna sede retinica è solo una delle caratteristiche utili nel rilevare i flussi, specialmente quelli di minore entità nella deep retina [15,16].

Le possibilità di decorrelazione del segnale tomografico in segnale dinamico può perciò dare risultati molto differenti da uno strumento all'altro.

La velocità d'acquisizione e i limiti anatomici di segmentazione neuro-corio-retinici trovano sviluppo iconografico nelle slabs, al fine di esaltare il flusso vascolare e delinearne i relativi spazi d'appartenenza, specie con la modalità en face.

L'imaging finale è il risultato di specifiche modalità d'acquisizione ed elaborazione, spesso collegate a brevetti depositati, come si è avuto già modo di riferire.

Non vi è per tanto *agreement* tra i device. A tal proposito Xin-Xin Li et al., in una recente Review tra i sistemi angio-OCT in commercio, prendono in considerazione le loro performance diagnostiche, e propongono una tabella molto esaustiva di tutte le loro caratteristiche [23] [Tab. 2].

Nelle conclusioni del loro lavoro così affermano: "There is poor agreement of measurements among systems" [23].

La tecnologia OCTA inoltre, applicata al dominio delle frequenze, ha comunque dei limiti intrinseci a questa modalità d'acquisizione.

Gli artefatti proiettati dagli strati superficiali verso quelli più profondi sono ancora un ostacolo non risolto completamente [24].

Il rilievo dei cambiamenti nel segnale OCTA acquisito e valutato da più immagini strutturali tomografiche nella stessa posizione, trova un limite nel movimento di massa involontario e incontrollato del bulbo in esame, oltre che a causa delle saccadi oculari.

Il segnale tomografico statico e dinamico può variare

Quantitative comparison of OCTA devices

Tecnical characteristics of five different OCTA systems

System	AngioVue™	AngioPlex™	Spectralis® OCTA	AngioScan™	SS OCT Angio™
Manufactory	OptoVue, Fremont Inc., Calif., USA	Carl Zeiss Meditec Inc., Dublin, Calif., USA	Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany	Nidek, Aichi, Japan	Topcon Corporation, Tokyo, Japan
Algorithm	SSADA	OMAG	Full-spectrum probabilistic approach	Complex Difference	OCTARA
OCT device	RTVue XR AVANTI Widefield; SD-OCT	CIRRUS HD-OCT 5000; SD-OCT	Spectralis OCT2; SD-OCT	RS-3000 Advance; SD-OCT	DRI Triton; SS-OCT
Optical source (nm)	Centered on 840 with a bandwidth of 50	Centered on 840 with a bandwidth of 90	Centered on 870 with a bandwidth of 50	Centered on 880 (infrared, invisible)	Tunable laser centered on 1050 (invisible)
Scan speed (A-scan/s)	70000	68000	85000	53000	100000
Resolution (µm)	Axial: 5 Transverse: 15	Axial: 5 Transverse: 15	Axial: 5 Transverse: 6	Axial: 7 Transverse: 20	Axial: 8 Transverse: 20
Imaging depth (mm)	2.0-3.0	2	2	2.1	2.6
Scan area (H×V, mm ²)	Macula: 3×3, 6×6, 8×8; optic disc: 3×3, 4.5×4.5	3×3, 6×6	3×3	3×3 to 9×9 (in 0.3 mm increment)	3×3, 4.5×4.5, 6×6
Scan range (H×V)	45°×45°	67°×45°	30°×30°	40°×30°	45°×45°
A-scan count (H×V)	304×304, 400×400 (for 6×6 HD mode)	245×245 (for 3×3), 350×350 (for 6×6)	256×256, 512×512	256×256	256×256, 320×320
Repeated B-scan count	2	2 (6×6), 4 (3×3)	7	2, 4 or 8	4
Acquisition count (for each complete image)	1 in X and 1 in Y	1 in X	1 in X	1 in Y (AngioScan2 and 4), 2 in Y (AngioScan8)	1 in X
Theoretical acquisition time	2.7s×2, 4.6s×2 (HD mode)	3.6s	5.4s (256×256), 21.6s (512×512)	2.5s (AngioScan2), 5.0s (AngioScan4)	2.7s (256×256), 4.1s (320×320)
Default layer segmentation ^a (inner boundary to outer boundary)	Macula: SRL: ILM -3 µm to IPL -15 µm ^b ; DRL: IPL -15 µm to IPL -70 µm; ORL: IPL -70 µm to RPE ref -30 µm; CC: RPE ref -30 µm to RPE ref -60 µm; Optic disk: vitreous: above ILM -50 µm; ONH: ILM to ILM -150 µm; RPC: ILM to NFL; choroid: below RPE +75 µm ^c	VRI: ILM +300 µm to ILM; SRL: ILM to IPL (ILM -70% T _{ILM-OPL}); DRL: IPL to OPL (RPE fit +110 µm); avascular slab: OPL to RPE fit +70 µm; CC: RPE -29 µm to RPE -49 µm; choroid: RPE -64 µm to RPE -115 µm	SRL: ILM to IPL; DRL: IPL to OPL; Avascular layer: OPL to BM	Macula: SRL: ILM to IPL -8 µm; DRL: IPL -13 µm to IPL -88 µm; ORL: IPL -92 µm to RPE; choroid: RPE -4 µm to RPE -63 µm; optic disk: RPCP: ILM to ILM -105 µm; ORL: IPL -109 µm to RPE; choroid: RPE -4 µm to RPE -126 µm; lamina cribrosa: ILM -63 µm to ILM -378 µm	SRL: ILM -2.6 µm to IPL -15.6 µm; DRL: IPL -15.6 µm to IPL -70.2 µm; ORL: IPL -70.2 µm to BM; CC: BM to BM -10.4 µm
Eye-tracking technology	DualTrac™	FastTrac™	SMARTTrack™	Real-time SLO Eye HD Tracer	TruTrack™ Active Eye Tracking
Software version	AngioVue (2016.2)	AngioPlex v.9.0	HEYEX V6.4a	Navis-EX 1.5.5	FastMap10.11
Other highlighted features	MCT™; Angio Analytics; Blood flow signal overlay on structural OCT; follow-up settings; color composite layers	Blood flow signal overlay on structural OCT; superficial projection elimination technology; ganglion cell OU analysis; color composite slab	ART; multimodal imaging system; angiography overlay on multicolor or IR image; follow-up settings	Multimodal imaging system; automate mosaic panorama	Multimodal imaging system with fundus photography

^aIn layer segmentation, ILM, IPL, OPL, RPE and BM refer to the loci of their outer boundary respectively; ^bInferior to; ^cSuperior to. ART: Automated real-time mode; BM: Bruch's membrane; CC: Choriocapillaris; DRL: Deep retinal layer; H×V: Horizontal×vertical; HD: High definition; ILM: Inner limiting membrane; IPL: Inner plexiform layer; IR: Infrared; MCT: Motion correction technology; NFL: Nerve fiber layer; N/A: Not applicable; OCT: Optical coherence tomography; OCTA: OCT angiography; OCTARA: OCTA ratio analysis; OMAG: Optic micro-angiography; ONH: Optic nerve head; OPL: Outer plexiform layer; RPC: Radial peripapillary capillary; RPCP: RPC plexus; RPE: Retinal pigment epithelium; SD-OCT: Spectral domain OCT; ORL: Outer retinal layer; SRL: Superficial retinal layer; SSADA: Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography; SS-OCT: Swept source OCT; T_{ILM-OPL}: Thickness between ILM and OPL; VRI: Vitreoretinal interface.

Tabella 2 - Comparazione riassuntiva delle caratteristiche degli OCTA più diffusi in commercio (modificato by Xin-Xin Li et al.)

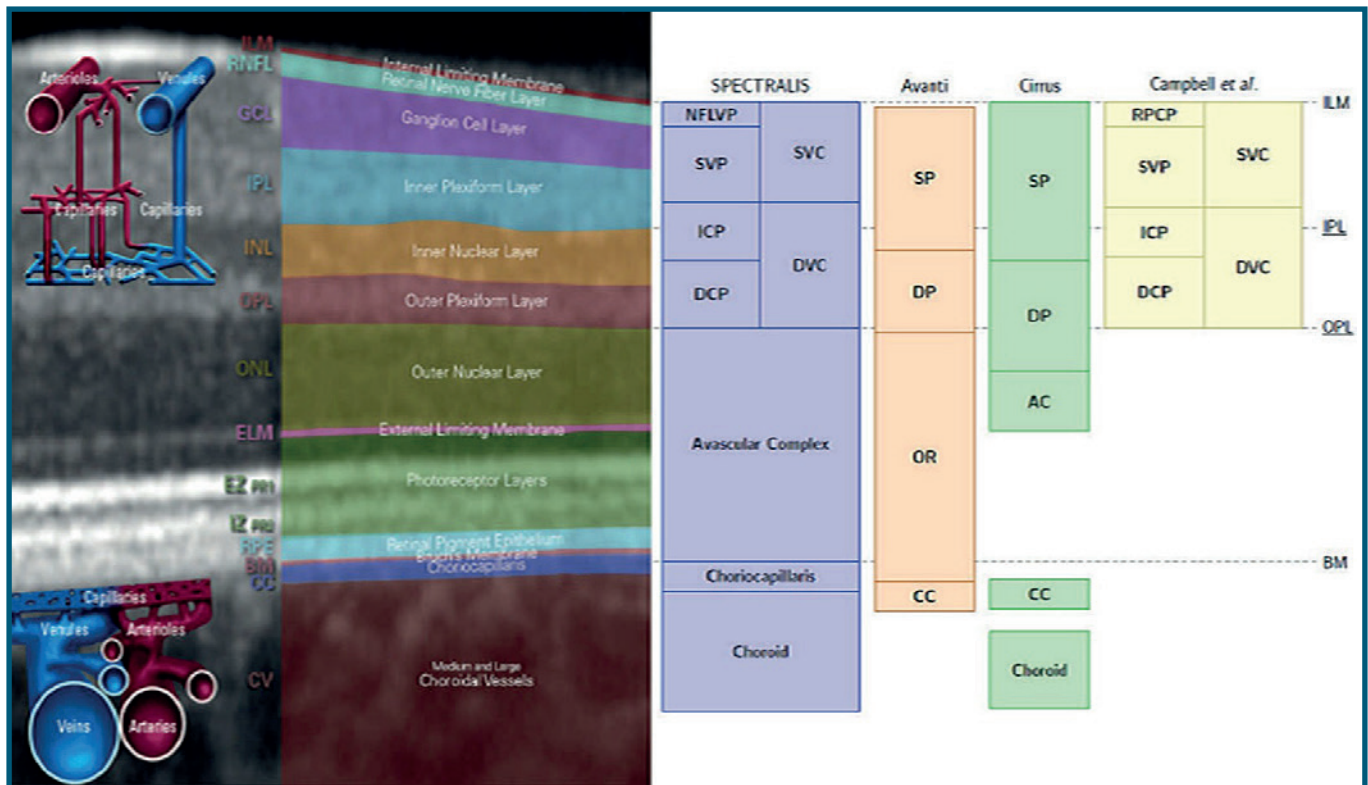


Fig. 9 - Definizione e limite delle slabs. A sinistra figura schematica della retina in falsi colori e della rete vasale. A destra schema delle slabs secondo Spectralis Heidelberg, Avanti Optovue, Cirrus Zeiss, e le slabs proposte da Campbell et al. Abbreviazioni: SVC: Superficial Vascular Complex; NFLVP: Nerve Fiber Layer Vascular Plexus (part of SVC); SVP: Superficial Vascular Plexus (part of SVC); DVC: Deep Vascular Complex; AC: Avascular Complex; ICP: Intermediate Capillary Plexus (part of DVC); DCP: Deep Capillary Plexus (part of DVC); CC: Choriocapillaris /Choroid Cap; RPCP: Radial Peripapillary Capillary Plexus; SP: Superficial Plexus; DP: Deep Plexus; OR: Outer Retina. Sources: SPECTRALIS: Heidelberg Engineering. OCT Angiography Module User Manual, Software Version 6.9, 2017. Avanti: Avanti Optovue. Optovue RTVue XR OCT Avanti System User Manual, Software Version 2016.1.0.26, 2016. Cirrus: Carl Zeiss Meditec Inc. CIRRUS HD-OCT User Manual Models 500, 5000, 2016. Campbell et al. (by www.he-academy.com/ Retinal-Layers-Interactive)

nel tempo lentamente (eye drift), o rapidamente a causa delle saccadi, introducendo falsi segnali strutturali e/o di flusso [24].

Nel caso di eye drift, il segnale OCTA risultante può essere corretto dall'elaborazione e dalla registrazione dell'immagine nel tempo.

Nel caso invece d'improvvisi movimenti oculari, le scansioni tomografiche di volume, su qualsiasi dispositivo OCTA, non possono essere compensate [24].

In presenza di movimenti oculari improvvisi il percorso di scansione effettivo del raggio laser OCT si discosta perciò da quello impostato, provocando distorsioni sull'area retinica indagata, sia nelle scansioni su superfici piane, espresse in mm², che per le aree 3D, espresse in mm³ (volume scans).

Da queste osservazioni e per superare i limiti descritti sono stati installati da qualche tempo sui device gli eye-tracking, utilissimi nel monitorare attivamente l'acquisizione e correggere le distorsioni da movimento, come Krause et al. hanno ben evidenziato tra gli altri

numerosi autori [25].

Molte sono le strategie informatiche che possono essere attuate per migliorare l'imaging finale OCTA.

Le tecniche di post-elaborazione delle immagini, utilizzate largamente da molti device, sono utili nel ridurre gli errori da movimento; è difficile tuttavia confermare se le immagini catturate rappresentino la vera anatomia delle strutture oculari riprese [17].

L'interpolazione è un'altra possibile risposta per risolvere questa problematica.

In matematica, in particolare in analisi numerica, per interpolazione s'intende un metodo per individuare nuovi punti del piano cartesiano da un insieme finito di punti dati.

L'interpolazione è necessaria per una corretta post-elaborazione delle immagini.

Anche questi complessi calcoli matematici potrebbero tuttavia non riuscire a catturare correttamente e compiutamente i piccoli flussi intraretinici in tempo reale (real time) [26].

L'elaborazione digitale delle immagini è una disciplina che comporta l'utilizzo di algoritmi, sfrutta l'elaborazione numerica dei segnali, e modifica un'immagine digitale in pixel dai valori originari, restituendo un'imaging finale di qualità superiore [27].

Considerando le velocità fisiologiche di perfusione del sistema vascolare corio-retinico, e gli intervalli in millisecondi tra due immagini OCTA consecutive, è improbabile che tutti i flussi presenti nel tessuto in esame siano sempre intercettati.

Gli attuali dispositivi OCTA utilizzano algoritmi diversi per rilevare queste variazioni di flusso in real time. La possibilità d'intercettare tutte le variazioni flussimetriche intraretiniche sono del resto legate agli intervalli d'azione intrinseci a ogni algoritmo [28].

Gli output in entrata, individuabili degli algoritmi, potrebbero non essere sempre rilevati come flusso, come contrasto tra tessuto statico e dinamico, in situazioni fisiologiche e, ancor maggiormente, in caso di iniziali neovasi patologici.

Ogni variazione tomografica proveniente dal tessuto statico è riconosciuta come flusso in un sistema binario 0-1, tutto o niente; la soglia sotto la quale il sistema non riconosce più un segnale come dinamico è il limite che si cerca sempre più di migliorare e superare [28].

Altri modi finalizzati a migliorare la risposta complessiva del sistema tomografico per esaltare il segnale di flusso dal rumore di fondo sono l'utilizzo di filtri e dell'analisi statistica.

L'intervento di questi complessi calcoli matematici solo parzialmente accennati e descritti, delineano da un lato il progresso informatico che è in atto ma, altresì, evidenziano i limiti che il dominio Fourier Domain presenta nell'acquisizione delle immagini dinamiche [29,30].

Segmentazione e flusso emoreologico

L'acquisizione OCTA scaturisce da scansioni B-scan lineari ripetute in pixel per creare un'imaging tridimensionale o di volume, un cubo di dati in voxel.

Le immagini strutturali acquisite ortogonalmente con quelle di flusso inizialmente fuse insieme sono indistinguibili.

La decorrelazione del segnale tomografico statico fa emergere il segnale di flusso che cambia nel tempo [6].

Le immagini en face sono le più idonee per visualizzare le reti o plessi vascolari retinici all'interno di specifici strati, le slabs.

Al fine di rilevare e gestire con precisione le reti vascolari corio-retiniche, è importante individuare con precisione i diversi plessi per ogni segmento.

È fondamentale pertanto che le slabs intercettino e

comprendano ciascun plesso vascolare compiutamente. Le differenze nelle definizioni delle slabs complicano ulteriormente il confronto delle immagini en face tra dispositivi diversi. Le slabs predefinite e la loro posizione all'interno della retina e della coroide sono mostrate nella figura numero nove (Fig. 9).

Per un confronto più diretto nell'immagine sono evidenziate le differenze tra alcuni device e i risultati dello studio di *Campbell et al.* del 2017 [22], oggetto di discussione di quest'articolo.

Attualmente vi sono ampi sforzi orientati a ridurre i tempi di acquisizione e di decorrelazione, la messa a fuoco e la fruibilità complessiva dei device.

Lo sviluppo continuo verso un'angiografia sempre più performante e ad ampio campo widefield, al fine di consentire una valutazione dei cambiamenti vascolari anche nella retina periferica, come nella retinopatia diabetica, porterà sicuri progressi e nuove opportunità diagnostiche.

Lo sviluppo della segmentazione tridimensionale dei vasi è un progresso chiave che mira a migliorare il rendering 3D, offrendo analisi più affidabili e avanzate [31].

Intelligenza Artificiale, Machine Learning & Deep Learning

L'applicazione dell'intelligenza artificiale ha avuto inizio nel 1956 con un seminario tenutosi presso il Dartmouth College (Hanover, contea di Grafton, New Hampshire, US) [32].

Al workshop gli intervenuti John McCarthy e Marvin Minsky del Massachusetts Institute of Technology (MIT), Allen Newell e Herbert Simon della Carnegie Mellon University (CMU), e Arthur Samuel dell'International Business Machines Corporation (IBM), hanno mostrato i risultati promettenti nelle strategie di apprendimento con intelligenza artificiale nei computer per il gioco a scacchi, per la risoluzione di problemi in algebra e nei teoremi logici.

Il termine Intelligenza Artificiale AI Artificial Intelligence, coniato per la prima volta negli anni Cinquanta, coinvolge tutte quelle macchine computazionali in grado di eseguire compiti caratteristici dell'intelligenza umana [32].

L'AI comprende: Machine Learning ML e Deep Learning DL.

Il termine "*Machine Learning*" è stato inizialmente adoperato da Arthur Samuel nel 1959; in merito scriveva: "*il computer dovrebbe avere la capacità di apprendere usando varie tecniche statistiche, senza essere programmato esplicitamente*" [32>36].

ML è in definitiva la capacità di una macchina ad

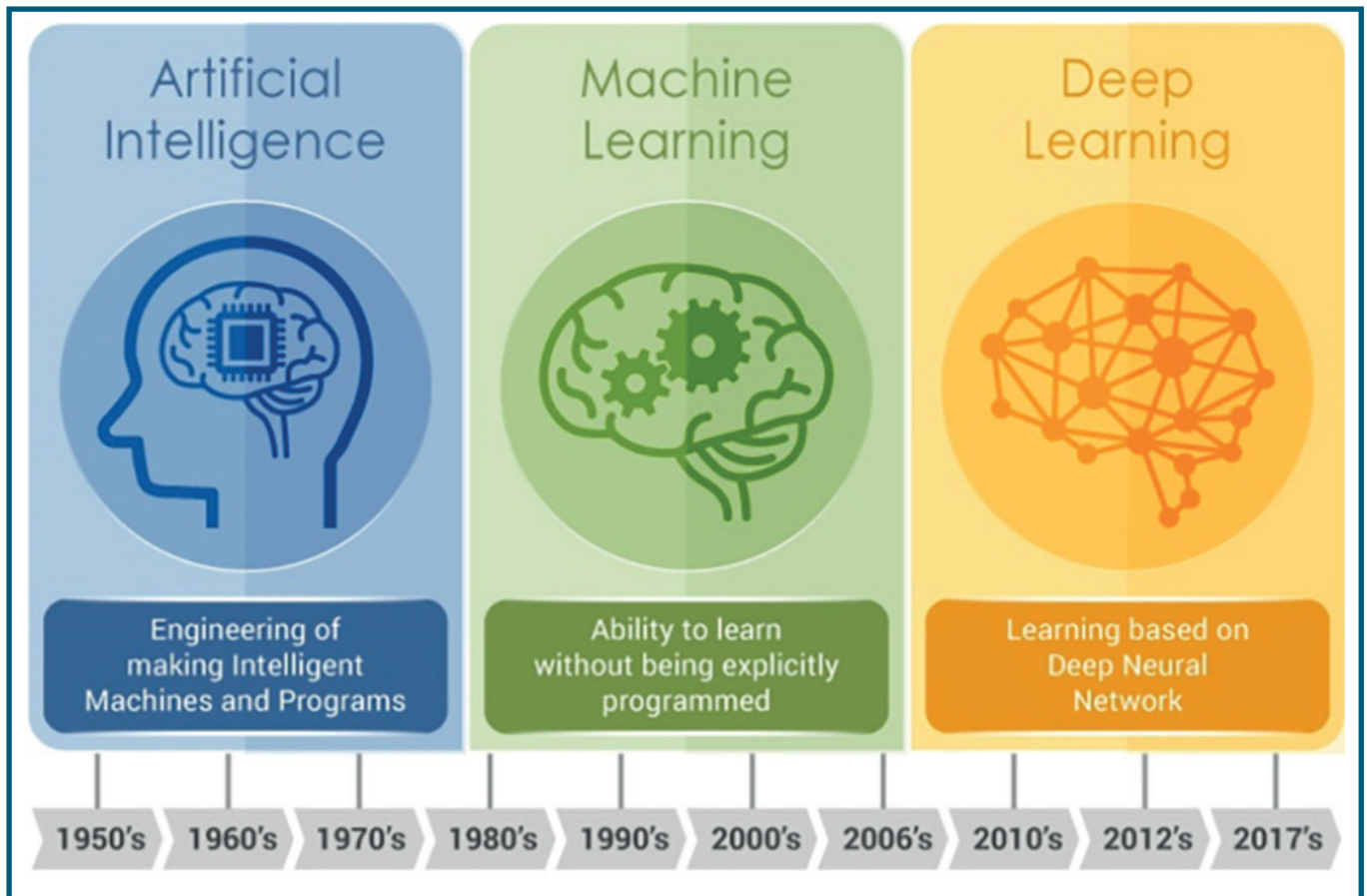


Fig. 10 - Evoluzione dell'Intelligenza Artificiale.
(by <https://medium.com>)

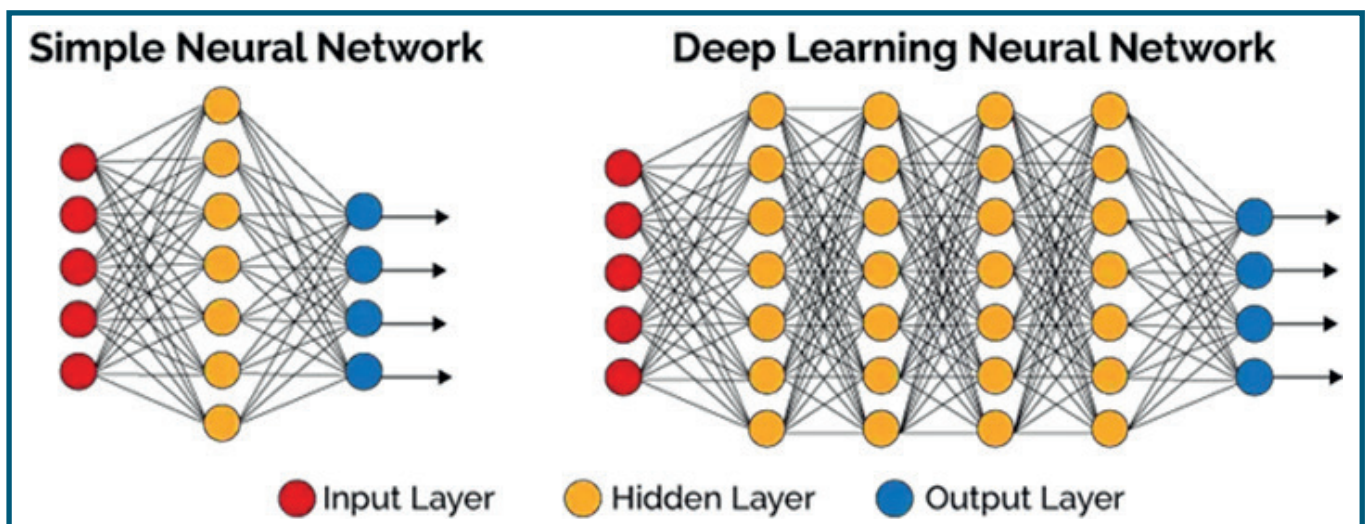


Fig. 11 - Schema della Deep Learnig.
(by <https://it.quora.com>)

apprendere sequenze e processi logico-informatici senza uno specifico programma. 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 [33].

L'apprendimento approfondito o Deep Learning DL è, invece, uno dei possibili approcci all'apprendimento automatico. La DL (apprendimento strutturato, profondo, gerarchico) è una sottocategoria della ML. Indica la branca della AI che fa riferimento agli algoritmi ispirati alla struttura e alla funzione del cervello

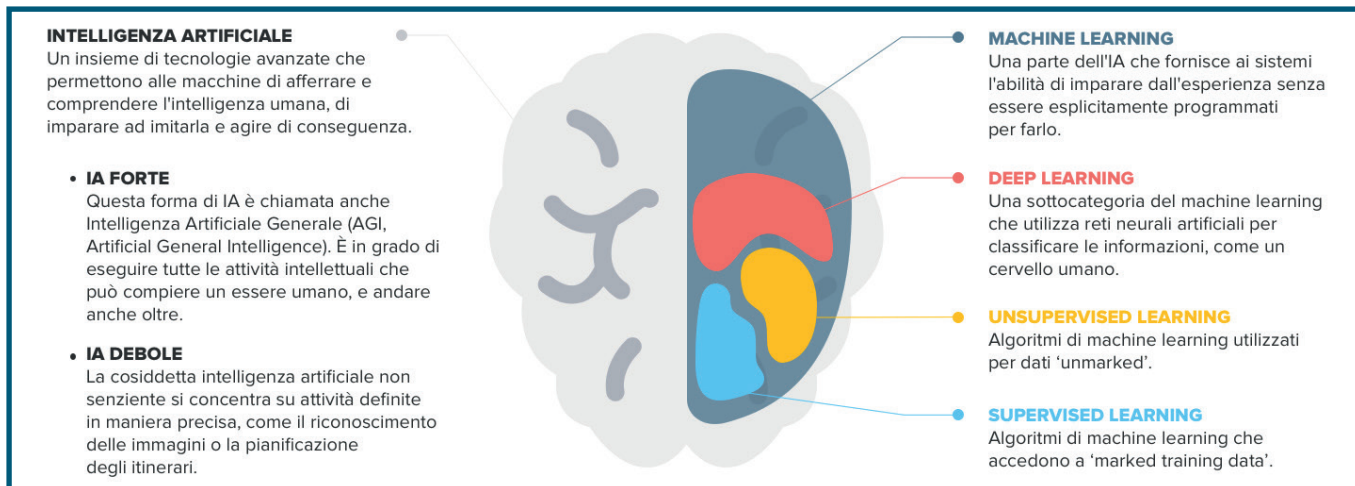


Fig. 12 - Quadro complessivo e descrittivo dell'evoluzione dell'Intelligenza artificiale.
(by <https://www.reply.com/it>)

umano, alle reti neurali artificiali (neural network) con due o più strati (hidden layers) al fine di elaborare informazioni in modo non lineare; in altre parole un secondo livello della AI [33] (Fig. 10, Fig. 11).

La rete neurale della DL è un insieme di neuroni artificiali connessi tra loro, che vengono "allenati" per risolvere un particolare problema. Si passa così di livello, da ML a DL.

L'insieme dei neuroni artificiali sono suddivisi a loro volta in gruppi, in layer (strato, livello), connessi tra loro a formare una rete complessa come nel cervello umano.

Quando il numero di layer è alto la rete neurale è definita profonda, da cui il termine Deep Learning [33].

L'AI, basata sull'apprendimento approfondito DL, ha suscitato un enorme interesse, un'attenzione globale negli ultimi anni.

La DL è stata ampiamente adottata nel riconoscimento d'immagini, in quello vocale, e nell'elaborazione del linguaggio.

Il connubio tra AI e mondo sanitario sta muovendo i primi passi, con un impatto crescente sull'assistenza medica.

In Oftalmologia la DL è stata applicata con successo alle fotografie del fundus, alla tomografia a coerenza ottica, ai campi visivi, ottenendo prestazioni di classificazione "robuste" nel rilevamento di molte patologie come nella retinopatia diabetica, del prematuro, nel riconoscere le papille glaucomatose, l'edema maculare, oltre che nella degenerazione maculare legata all'età [34].

La DL nell'imaging oculare può essere inoltre utilizzata con successo nella telemedicina con grande aiuto a monitorare le principali patologie e indirizzare le cure primarie.

Le potenziali opportunità che DL può offrire nel mondo sanitario, stanno tuttavia aprendo notevoli problematiche medico-legali, e non poche perplessità da parte di medici e pazienti. Le indicazioni offerte dalla DL, specialmente se per mezzo di algoritmi "black-box", largamente utilizzati, trova inevitabili ostacoli e, in parte, condivisibili perplessità.

Il modello black box è, infatti, una scatola nera, leggibile solo in uscita (output) dopo una determinata sollecitazione in ingresso (input); il suo funzionamento interno è invisibile, rimane ignoto.

Si contrappone al modello white box dove il sistema è, invece, una scatola trasparente dove sono note le componenti interne e il loro funzionamento.

Esiste un terzo modello, il grey box, in cui il sistema utilizza un approccio intermedio tra white box e black box [34].

Utilizzando l'apprendimento automatico, l'algoritmo può fare previsioni basate su i dati inseriti in fase di addestramento, in modo supervisionato o non supervisionato (Fig. 11).

Come descritto da *LeCun Y et al.*, con l'avvento delle unità di elaborazione grafica (GPU) e una maggiore potenza di elaborazione, la DL è la tecnica di ML maggiormente utilizzata, con più livelli di elaborazione, e migliore rappresentazione dei dati a diversi livelli di astrazione [32>37].

L'unità di elaborazione grafica GPU Graphics Processing Unit è una tipologia particolare di coprocessore che si contraddistingue per essere specializzata nel rendering d'immagini grafiche.

A sua volta, nella computer grafica, il rendering (restituzione grafica) identifica la "resa", la capacità di generare un'immagine a partire da una descrizione matematica tridimensionale; attraverso l'intervento di adeguati

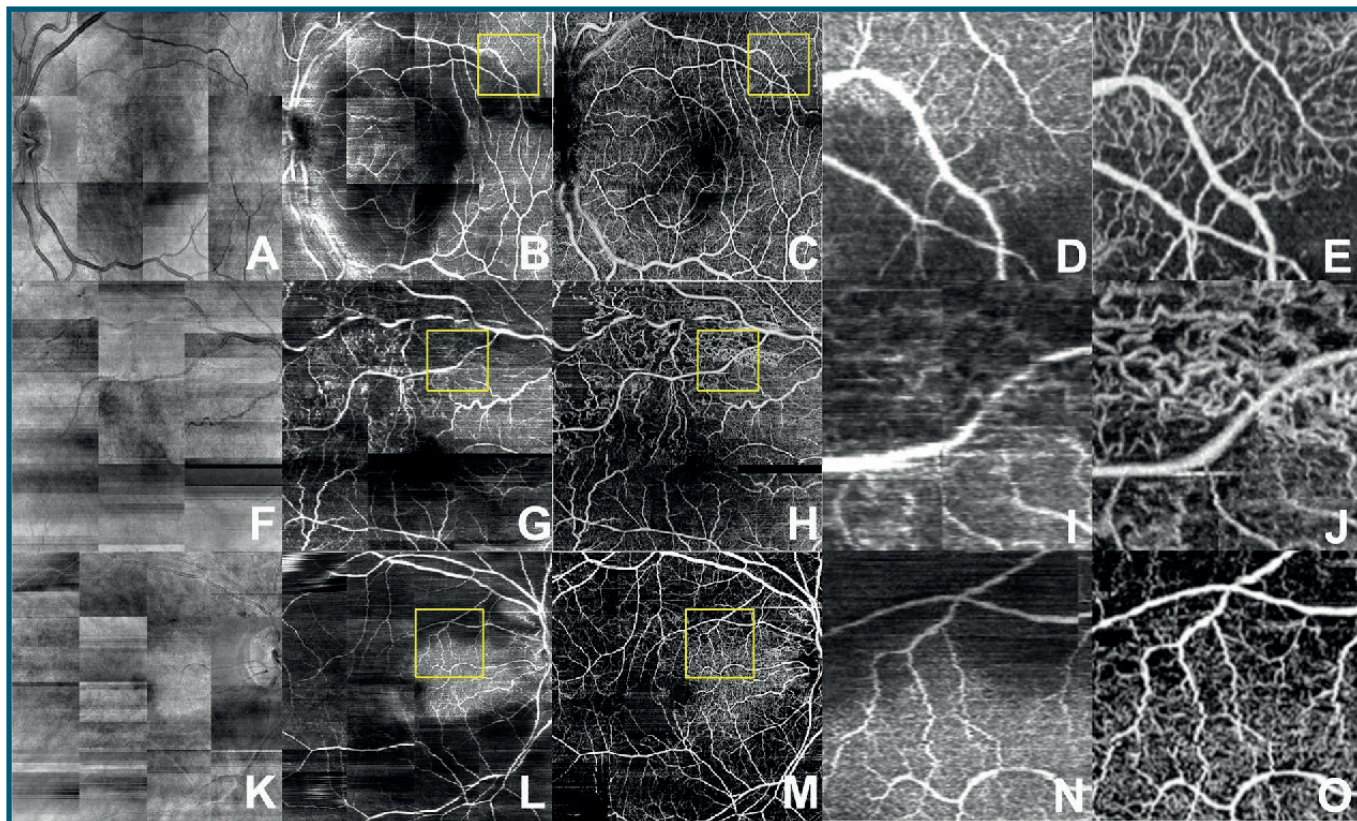


Fig. 13 Retinopatia diabetica. Mappe en-face del flusso ematico retinico che scaturiscono dai volumi OCT strutturale (A,F,K), dai volumi di flussi generati dalla AI (B,G,L) e OCTA (C,H,M). Immagini magnificate generate da AI (D,I,N) e OCTA (E,J,O) con aree di decremento di flusso rispetto ai flussi in retine normali. Con Deep Learning si evidenziano immagini e dettagli per la vascolarizzazione dei plessi superficiali simili alle immagini OCTA.

(by Cecilia S. Lee et al, Scientific Reports | (2019) 9:5694 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42042-y>).

algoritmi si possono definire anche il colore pixel per pixel [32>37, 39].

L'AI sta entrando nell'imaging in Oftalmologia e prepotentemente anche nei software degli OCTA (Fig. 12).

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, e rendere più razionale il trattamento con intravitreali nelle membrane neovascolari [34,35].

Infatti i metodi di AI sono stati esplorati per facilitare il rilevamento precoce e automatico dei cambiamenti vascolari e la previsione della progressione di molte lesioni patologiche [35].

L'Institute for Business Value di IBM riferisce che 82% delle imprese sta prendendo in considerazione la possibilità di utilizzare l'AI nella loro gestione, mentre il 60% delle imprese ne frena l'adozione per i timori e le

problematiche legate alla responsabilità finale; tuttavia un 63% di tutte le imprese non ha competenze interne in grado di gestire in modo sicuro l'AI [38].

Certamente le black box sono un limite che si dovrà superare per aumentare la fiducia verso l'utilizzo della AI in modo più diffuso, specie in campo sanitario.

L'applicazione della DL potrebbe potenzialmente rivoluzionare il modo di fare diagnosi in medicina in un prossimo futuro.

Conclusioni

Uno degli argomenti più discussi oggi nel mondo degli affari è l'Intelligenza Artificiale AI, tecnologia alla guida della Quarta Rivoluzione Industriale.

Il termine Industria 4.0 (Industry 4.0) indica una tendenza dell'automazione industriale che integra alcune nuove tecnologie produttive per migliorare le condizioni di lavoro, creare nuovi modelli di business e aumentare la produttività. L'AI è il perno di questa nuova era digitale.

Nonostante i progressi in campo medico, l'applicazione della AI è stata ritardata e limitata nelle singole specialità dal confronto tra i risultati diagnostici degli

esperti e gli elaborati dopo l'utilizzo della AI [38]. L'apprendimento approfondito DL è stato in grado di identificare nel campo dell'angiografia retinica il flusso da singole immagini OCT strutturali, con fedeltà simile all'OCTA [39].

Il modello utilizzato con AI consente di generare mappe di flusso da grandi volumi di dati OCT raccolti in precedenza negli studi clinici e nella pratica clinica.

Lo studio di *Cecilia S. Lee et al.* dimostra che un modello di Deep Learning può essere addestrato a riconoscere le caratteristiche d'immagini OCT con una corretta identificazione della vascolarizzazione retinica sulle scansioni OCT trasversali, in modo completamente automatizzato (Fig. 13) [39].

Il modello proposto e descritto nello studio è capace di generare anche mappe di flusso en-face.

Il modello di DL ha identificato sia i vasi retinici che sono facilmente visibili sulle immagini strutturali B-scan OCT, sia la microvascolarizzazione della retina non evidente con OCT standard, mostrando un numero significativamente maggiore di vasi retinici rispetto alle proiezioni strutturali OCT, all'imaging a colori e con FA.

Inoltre l'applicazione della DL è stata in grado di generare mappe di flusso dettagliate dei vasi retinici in una varietà di condizioni cliniche differenti, utilizzando l'imaging strutturale standard [37, 39].

In un prossimo futuro l'implementazione di AI nei device sarà sempre più diffuso e utile ai fini diagnostici, oltre che nella telemedicina.

Questa nuova possibilità non deve trovarci impreparati; la gestione finale dei dati resta sempre del medico; più rapido sarà il nostro adattamento culturale, migliore saranno i benefici per i pazienti.

L'utilizzo più diffuso dei Big Data (o megadati), necessari per comprendere prima e meglio il follow-up di molte malattie croniche ed invalidanti, necessiterà di integrazioni digitali sempre più complesse.

Solo con l'aiuto sistematico di ML e DL si potranno affrontare queste sfide tecnologiche.

Limitare i danni permanenti alla vista e contenere i relativi costi sociali sono ulteriori motivi perché il mondo sanitario accetti culturalmente la partnership con l'AI, specialmente nella gestione delle patologie complesse. ■

REFERENCES

1. Provis, J. M. Development of the primate retinal vasculature. *Progress in Retinal and Eye Research* 20, 799–821 (2001).
2. Anand-Apte, B., Hollyfield, J. G. *Developmental Anatomy of the Retinal and Choroidal Vasculature*. Cleveland Clinic, Cleveland, OH, USA. ©2010 Elsevier Ltd.
3. www.brainmindlife.org/20130518-periciticervello.htm.
4. Vinoses, SA. Assessment of blood-retinal barrier integrity. *Histology and Histopathology*, vol. 10, n° 1, 1995, pp. 141-154.
5. Cunha-Vaz J, Bernardes R, Lobo C. Blood-retinal barrier. *Eur J Ophthalmol*. 2011;21 Suppl 6:S3-9. doi: 10.5301/EJO.2010.6049.
6. Lucente, A. Principi tecnologici e imaging degli Angio-OCT. *Oftalmologia Domani - N. 2 - Anno 2015*.
7. Snodderly, D. M., Weinhaus, R. S. & Ch[oi], J. C. Neural-vascular relationships in central retina of macaque monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Neurosci*. 12, 1169–1193 (1992).
8. Stone, J., van Driel, D., Valter, K., Rees, S. & Provis, J. The locations of mitochondria in mammalian photoreceptors: relation to retinal vasculature. *Brain Res*. 1189, 58–69 (2008).
9. Tan, P. E. Z. et al. Quantitative Confocal Imaging of the Retinal Microvasculature in the Human Retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 53, 5728–9 (2012).
10. Chan, G. et al. Quantitative Morphometry of Perifoveal Capillary Networks in the Human Retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 53, 5502–13 (2012).
11. Kurokawa, K., Sasaki, K., Makita, S., Hong, Y.-J. & Yasuno, Y. Three-dimensional retinal and choroidal capillary imaging by power Doppler optical coherence angiography with adaptive optics. *Opt Express* 20, 22796–22812 (2012).
12. Chan, G. et al. In vivo optical imaging of human retinal capillary networks using speckle variance optical coherence tomography with quantitative clinico-histological correlation. *Microvascular Research* 100, 32–39 (2015).
13. Weinhaus, R. S., Burke, J. M., Delori, F. C. & Snodderly, D. M. Comparison of fluorescein angiography with microvascular anatomy of macaque retinas. *Exp. Eye Res*. 61, 1–16 (1995).
14. Mendis, K. R. et al. Correlation of histologic and clinical images to determine the diagnostic value of fluorescein angiography for studying retinal capillary detail. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 51, 5864–5869 (2010).
15. Lucente, A. Angio-OCT in progress. *Oftalmologia Domani*. N. 3 - Anno 2016.

segue >

REFERENCES

16. Lumbroso, B., Huang, D., Romano, A., Rispoli, M. & Coscas, G. *Clinical En Face OCT Atlas* (Jaycee Brothers Medical, 2013).
17. Spaide, R. F., Fujimoto, J. G. & Waheed, N. K. *Image Artifacts in Optical Coherence Tomography Angiography*. *Retina* (Philadelphia, Pa.) 35, 2163–2180 (2015).
18. Hwang, T. S. et al. *Automated Quantification of Capillary Nonperfusion Using Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy*. *JAMA Ophthalmol* 1–7.
19. Zhang, M. et al. *Projection-resolved optical coherence tomographic angiography*. *Biomed Opt Express* 7, 816–13 (2016).
20. Thomas S. Hwang, Miao Zhang, Kavita Bhavsar, Xinbo Zhang, J. Peter Campbell, Phoebe Lin, Steven T. Bailey, Christina J. Flaxel, Andreas K. Lauer, David J. Wilson, David Huang, Yali Jia. *Visualization of 3 Distinct Retinal Plexuses by Projection Resolved Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy*. *JAMA Ophthalmol*. Published on line November 3, 2016.
21. Henkind, P. *Radial peripapillary capillaries of the retina. I. Anatomy: human and comparative*. *British Journal of Ophthalmology* 51, 115–123 (1967).
22. J. P. Campbell, M. Zhang, T. S. Hwang, S. T. Bailey, D. J. Wilson, Y. Jia & D. Huang. *Detailed Vascular Anatomy of the Human Retina by Projection Resolved Optical Coherence Tomography Angiography*. *Scientific Repo Rts* | 7:42201 | DOI: 10.1038/srep42201.
23. Xin-Xin Li, Wei Wu, Hao Zhou, Jun-Jie Deng, Meng-Ya Zhao, Tian-Wei Qian, Chen Yan1, Xun Xu, Su-Qin Yu. *A quantitative comparison of five optical coherence tomography angiography systems in clinical performance*. *Int J Ophthalmol*, Vol. 11, No. 11, Nov.18, 2018.
24. Zhang, A., Zhang, Q., Chen, C. L. & Wang, R. K. *Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: a review and comparison*. *J Biomed Opt* 20, 100901, doi:10.1117/1.JBO.20.10.100901 (2015).
25. Kraus, M. et al. *Motion Artifact Correction in OCT Volume Scans Using Image Registration*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 51, 4405–4405 (2010).
26. Mirco Mariucci, *Laboratorio di Modellistica Numerica: introduzione all'elaborazione digitale delle immagini*, 2017.
27. Wilhelm Burger and Mark J. Burge, *Digital Image Processing: An Algorithmic Approach Using Java*, Springer, 2007, ISBN 978-1-84628-379-6.
28. Kraus, M. F. et al. *Quantitative 3D-OCT motion correction with tilt and illumination correction, robust similarity measure and regularization*. *Biomed Opt Express* 5, 2591–2613, doi:10.1364/BOE.5.002591 (2014).
29. Gao, S. S., Liu, G., Huang, D. & Jia, Y. *Optimization of the split-spectrum amplitude-decorrelation angiography algorithm on a spectral optical coherence tomography system*. *Opt Lett* 40, 2305–2308, doi:10.1364/OL.40.002305 (2015).
30. F. Frangi, R., Niessen, W. J., Vincken, K. & A Viergever, M. *Multiscale Vessel Enhancement Filtering*. Vol. 1496 (2000).
31. Freund, K. B., Gattoussi, S. & Leong, B. C. *Dense B-scan Optical Coherence Tomography Angiography*. *Am J Ophthalmol*, doi:10.1016/j.ajo.2018.03.029 (2018).
32. Marcus Hutter, *Universal Artificial Intelligence*, Berlin, Springer, 2005, ISBN 978-3-540-22139-5.
33. Gardner A., *An Artificial Intelligence Approach to Legal Reasoning*, 0262071045, 9780262071048 MIT 1987.
34. D.Sciuto, *Introduzione ai sistemi informatici*, Milano, McGraw-Hill, 2002.
35. 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
36. LeCun Y, Bengio Y, Hinton G. *Deep learning*. *Nature*. 2015;521(7553):436-444.
37. Glassner (1995). *Principles Of Digital Image Synthesis*. Morgan Kaufmann. ISBN 1-55860-276-3.
38. <https://www.ibm.com/it>.
39. 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 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42042-y>.

Edema maculare da Fingolimod: Case Report



Pierangelo Pintore*, Pierpaolo Patteri*, Pierpaolo Pintore**

* Unità Operativa Oculistica Ospedale Marino di Alghero, ** Clinica Oculistica Università degli Studi di Sassari

Cosa è il farmaco Fingolimod

È il primo farmaco a somministrazione orale approvato dalla FDA, Food and Drug Administration, per la terapia della sclerosi multipla. Appena concepito il Fingolimod veniva utilizzato nella terapia antirigetto per pazienti sottoposti a trapianto renale, poiché capace di incrementare l'effetto immunosoppressivo di altri farmaci. Due ampi studi di fase 3 hanno successivamente dimostrato l'effetto benefico del Fingolimod nella sclerosi multipla recidivante-remittente. Tale effetto sarebbe secondario alla capacità del farmaco di favorire il sequestro dei linfociti nei linfonodi periferici, grazie alla capacità di occupare il recettore S1P che regola in senso positivo l'uscita del linfocita dal linfonodo. Il recettore S1P ha tuttavia ruolo anche nel modulare la permeabilità dei capillari agendo sulle giunzioni endoteliali; la sua inibizione è potenzialmente capace di incrementare la permeabilità vascolare generando edema maculare retinico.

CASE REPORT:

Il caso clinico che abbiamo studiato riguarda una paziente di 29 anni affetta da diabete mellito, sclerosi multipla e tiroidite di Hashimoto. Su consiglio del neurologo veniva inviata alla nostra attenzione per sapere se fosse possibile praticare terapia con Fingolimod. Il nostro compito in questa fase è quello di escludere la presenza (pre-terapia) di edema maculare conclamato o in fase sub-clinica, che se presente, controindica l'utilizzo del farmaco.

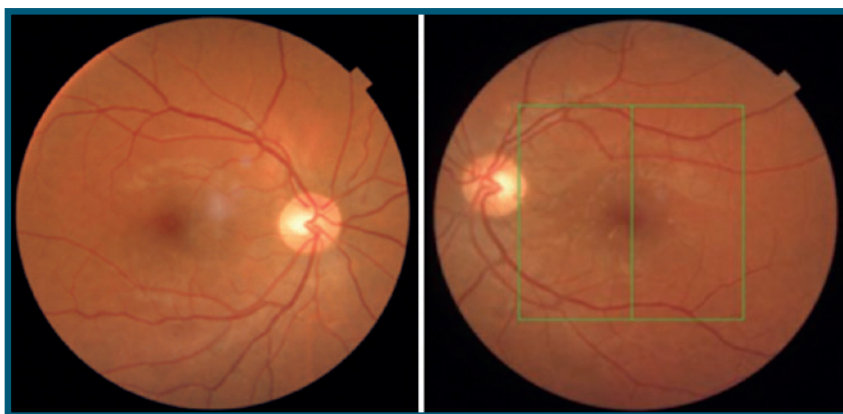


Fig. 1

Come si può osservare dalla fotografia a colori e dall'esame OCT (Fig. 1), la retina è normale, non sono presenti segni di retinopatia diabetica, alterazioni di spessore della macula; si evidenziano solo rare drusen sparse. L'esame obiettivo del segmento anteriore così come la PIO risultano essere nella norma. Il visus corretto è 10/10 per ciascun occhio (lieve astigmatismo miopico composto (OO -0,50 -0,50 cil 90).

Dopo circa 90 giorni dall'assunzione di Fingolimod compresse al dosaggio di 2,5 mg die, la paziente lamenta riduzione della funzione visiva OO. L'esame obiettivo era il seguente: Odvcl 9/10sc; Osvcl 9/10sc; OO: Segmento anteriore nella norma; ta 14 mmHg; Fundus: edema maculare OO, una emorragia retinica OD; Amsler lievemente alterato OO.

Alla luce dell'edema maculare recentemente insorto si sospende terapia con Fingolimod e si propone alla paziente esame angiografico con fluoresceina; l'esame angiografico viene dalla stessa paziente rifiutato per via

di anamnesi positiva a precedenti episodi allergici nonché a causa della preparazione corticosteroidica prevista dal protocollo per i pazienti allergici (la paziente, è laureanda in farmacia, e non intende assumere la terapia steroidea per via orale perché in passato si sono verificati gravi scompensi glicemici in seguito all'assunzione di farmaci cortisonici). Si decide altresì di iniziare terapia topica con FANS topici: Indocollirio 0.50% coll. monodose per 2 volte al dì per 60 giorni.

A distanza di circa 35 giorni si osserva miglioramento del quadro retinico e funzionale, il visus è nuovamente di 10/10 per ciascun occhio.

Il monitoraggio del quadro retinico anatomico e funzionale è tuttora in corso, si evidenzia stabile risoluzione dell'edema maculare; tale dato ci consente di affermare che, almeno nel caso in esame, l'edema maculare post-terapia con Fingolimod regredisce in modo completo con perfetta restitutio ad integrum dopo sospensione del farmaco; l'utilizzo di FANS topici (Indometacina 0.50%) può essere utile nel favorire e accelerare i processi di guarigione.

Riteniamo che la non sospensione del farmaco anche accompagnata dalla terapia topica con FANS non sarebbe stata seguita da risoluzione dell'edema maculare, ma probabilmente da ulteriore peggioramento.

Riflessioni e conclusioni:

La letteratura riporta che l'edema maculare secondario a terapia con Fingolimod al dosaggio di 2,5/5 mg die ha un'incidenza variabile tra 1,3% e 2,2%. Tale dato è verosimilmente superiore nei pazienti che presentano ulteriori fattori di rischio per lo sviluppo di edema maculare, come diabete anche senza segni di retinopatia diabetica conclamata, uveite cronica-intermittente, trombosi venosa retinica e pucker maculare. La tempistica tipica prevede comparsa dell'edema maculare entro i 4 mesi dall'inizio della terapia con Fingolimod compresse.

Una peculiarità del caso clinico esposto è la sproporzione tra edema anatomicamente misurato e dati funzionali. Secondo articoli precedentemente pubblicati, tra tutti in particolare *"Relationship between Optical Coherence Tomography-Measured Central Retinal Thickness and Visual Acuity in Diabetic Macular Edema"*

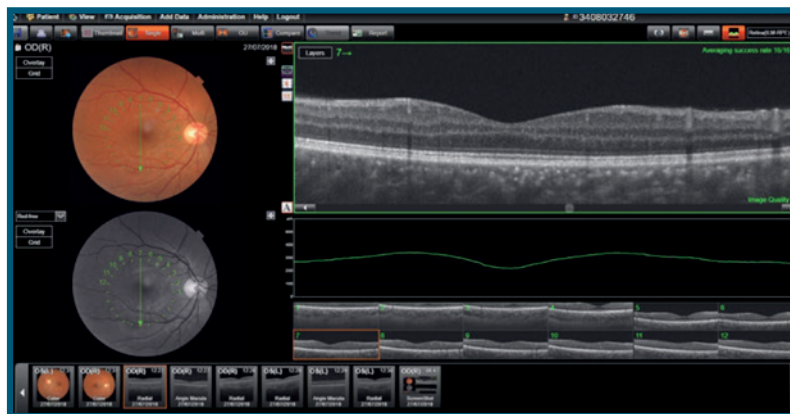


Fig. 2 - OCT strutturale OD e OS

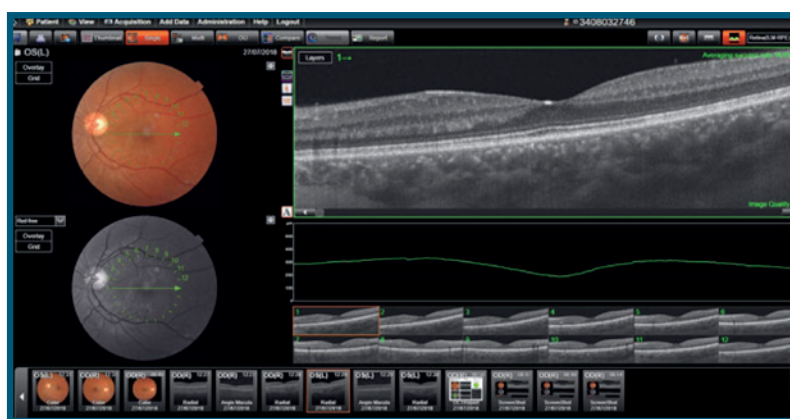


Fig. 3

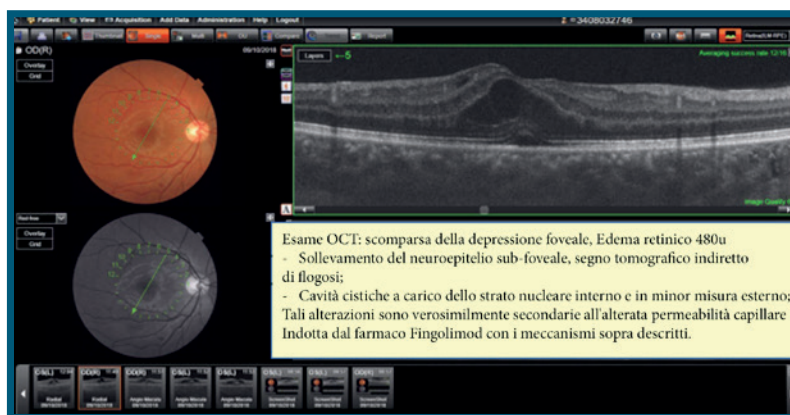


Fig. 4 - OCT OD al tempo 1 (dopo 3 mesi di terapia con Fingolimod)

(Ophthalmology, 2007-03-01;114, N. 3, Pag. 525-536), ad uno spessore maculare superiore a 450 micron, causato da edema maculare diabetico, corrisponde un visus di circa 7/10; la paziente del caso descritto presentava visus di 9/10 scarso con uno spessore maculare ben oltre i 450 micron.

Senza voler trarre affrettate conclusioni, ci sentiamo tuttavia incoraggiati a sottolineare la valutazione attenta dei pazienti candidati alla terapia con Fingolimod. La presenza di fattori predisponenti l'edema maculare,

come diabete anche senza retinopatia diabetica, storia di uveite, pregressa occlusione venosa, membrane epiretينية rendono ancor più obbligatorio la revisione critica del rapporto rischio/beneficio della terapia sistemica messa in atto. Il monitoraggio maculare cadenzato nel tempo con OCT garantisce di evidenziare ogni minimo cambiamento strutturale in area maculare, anche in assenza di segni soggettivi. Rispetto ai controlli standard, i pazienti con patologie sistemiche concomitanti richiedono un ulteriore grado di attenzione e più ravvicinati controlli.

Il modello di monitoraggio da noi proposto è:

Paziente standard:

Primo controllo: tempo 0 (prima di iniziare la terapia); Secondo controllo: a 90 giorni dall'inizio della terapia; Terzo controllo: a 180 giorni dall'inizio terapia; Quarto controllo; dopo un anno dall'inizio della terapia.

Paziente che presenta fattori di rischio:

Primo controllo tempo 0 (prima di iniziare la terapia); Secondo controllo: a 45 giorni dall'inizio della terapia; Terzo controllo: a 90 giorni dall'inizio terapia; Quarto controllo: dopo 150 giorni dall'inizio della terapia. Quinto controllo: dopo 8 mesi dall'inizio della terapia. Sesto controllo: Dopo 12 mesi di terapia.

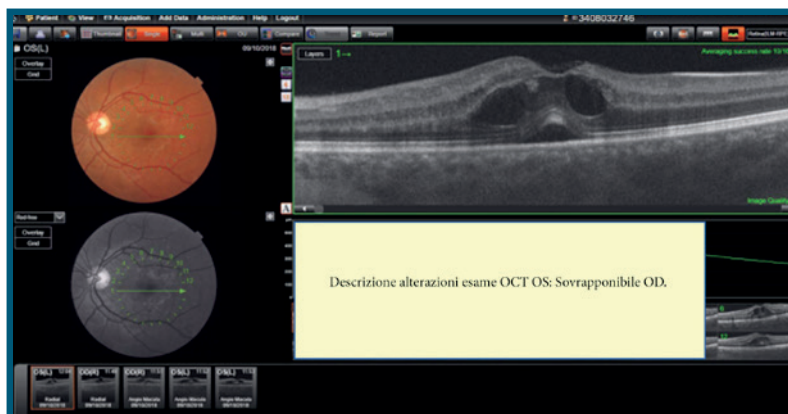


Fig. 5 - OCT OS al tempo 1 (dopo 3 mesi di terapia con Fingolimod)

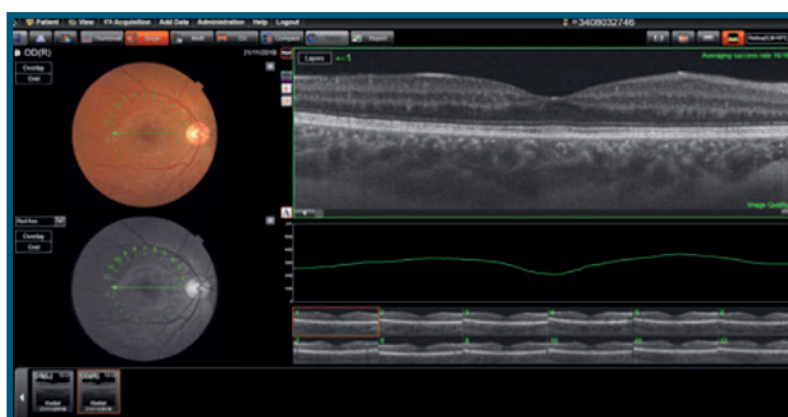


Fig. 6

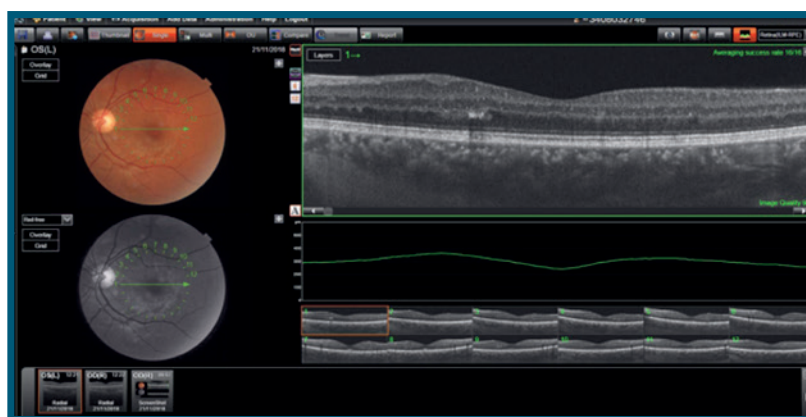


Fig. 7

BIBLIOGRAFIA

- Johnson MW. Etiologia e trattamento dell'edema maculare. Am J Ophthalmol. 2009; 147 : 11- 21.e11. 14.
- 7 Zarbin M et al. Poster 244, presented at the American Academy of Ophthalmology Annual Meeting, 2011, Orlando, Fla
- Chun J , Hartung HP Meccanismo d'azione del Fingolimod orale (FTY720) nella sclerosi multipla . Clin Neuropharmacol 2010 ; 33 : 91 - 101
- David J. Browning, M.D., Relationship between Optical Coherence Tomography–Measured Central Retinal Thickness and Visual Acuity in Diabetic Macular Edema - Ophthalmology, 2007-03-01, Fascicolo 114
- A. Lucente, Refrazione e Aberrometria, Oftalmologia Domani n.1/2011

Le cheratiti micotiche



Pasquale Aragona, Giovanni William Oliverio***

**Direttore di Cattedra Dipartimento di Scienze Biomediche, UOC di Oftalmologia, Università degli Studi di Messina*

*** UOC di Oftalmologia, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Messina*

Introduzione

Le cheratiti a eziologia micotica rappresentano una rara forma di cheratiti infettive, la cui diagnosi e trattamento rappresentano a tutt'oggi una complessa sfida per l'oftalmologo.

Ben note sono la maggiore virulenza di tali patogeni e il maggiore rischio di perforazione corneale, comparati ad altre forme di cheratite infettiva.¹

I più elevati tassi di incidenza si registrano nei paesi in via di sviluppo, in particolare nelle regioni a clima tropicale, laddove si riscontrano colture positive a miceti tra il 21-62% tra tutti i casi di cheratiti microbiche.²⁻³

In Italia e in tutti i paesi a clima temperato i tassi di incidenza sono nettamente inferiori, con colture positive per funghi nell'1-5% dei casi di cheratite infettiva. Nei più ampi studi epidemiologici fino ad ora effettuati è stata stimata un'incidenza variabile di 0,32-1,53 casi per milione di abitanti.⁴⁻⁵

In relazione agli agenti eziologici possiamo distinguere due forme cliniche distinte: Cheratiti da funghi filamentosi (*Fusarium* e *Aspergillus*) e cheratiti da lieviti (*Candida*).

Le cheratiti da funghi filamentosi sono molto comuni in regioni a clima tropicale, mentre nelle regioni a clima temperato sono prevalenti le infezioni sostenute da *Candida*.⁶

Tuttavia in diversi studi è stato dimostrato che lo spettro microbico negli ultimi anni sta mutando,

evidenziando un netto incremento delle cheratiti da *Fusarium* e funghi filamentosi anche nei paesi a clima temperato.⁷

I traumi oculari rappresentano il principale fattore di rischio per lo sviluppo di cheratiti micotiche, soprattutto nei paesi in via di sviluppo.

In Europa e negli Stati Uniti l'utilizzo di lenti a contatto, le patologie della superficie oculare, la chirurgia corneale, l'utilizzo prolungato di steroidi topici sono i fattori di rischio

predisponenti più comuni.

Esiste inoltre una correlazione tra agente eziologico e causa della cheratite fungina. È stato dimostrato come le cheratiti secondarie a trauma siano

più comunemente dovute ad *Aspergillus*, le forme secondarie a patologie della superficie oculare a *Candida* mentre il *Fusarium* prevale nelle forme secondarie a lenti a contatto.

Le alterazioni della superficie oculare consentono l'ingresso ai microrganismi negli strati corneali più profondi. Questa invasione innesca una reazione immunitaria, innata ed acquisita, che comporta i conseguenti danni cicatriziali e le opacità corneali. L'invasione dello stroma profondo può inoltre esitare in perforazione corneale, estensione alla camera anteriore e alla sclera dell'infezione; in tali casi l'eradicazione del microrganismo diviene drammaticamente difficile.

La diagnosi precoce resta pertanto un imperativo al fine di ridurre le sequele invalidanti di tali infezioni.

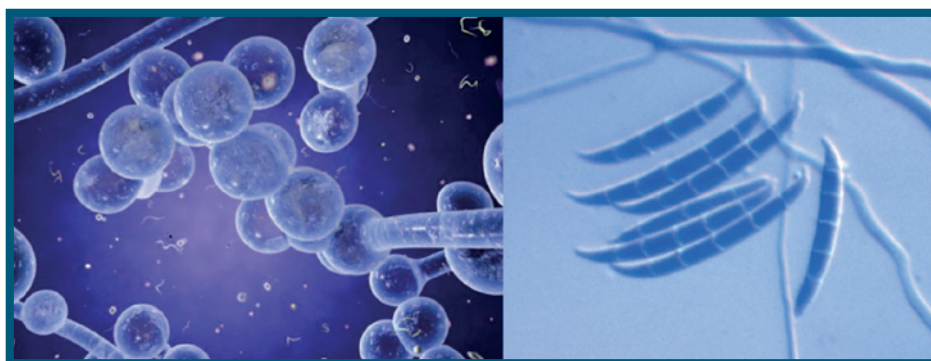


Fig. 1 - Esempio di lieviti e funghi filamentosi in coltura

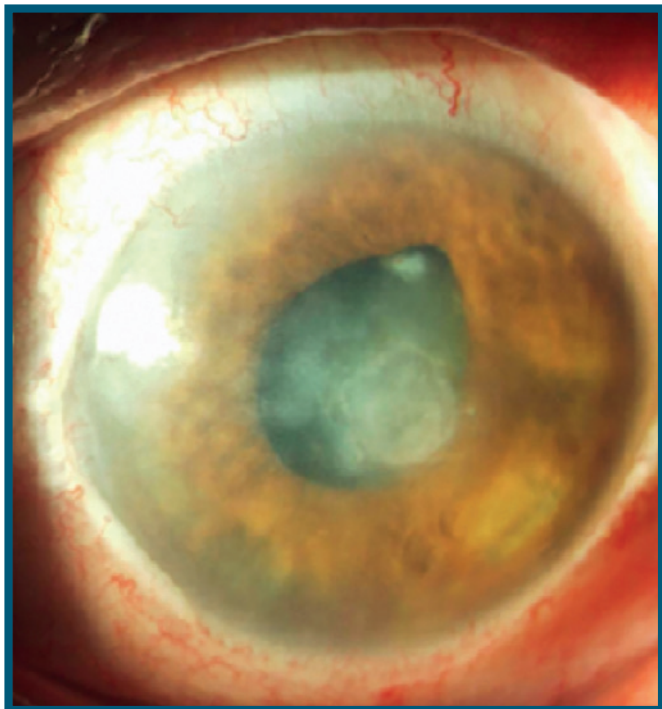


Fig. 2 - Immagine clinica alla lampada a fessura di cheratite fungina con ulcera e opacità satelliti.¹⁴

Sebbene rara, la patologia è particolarmente severa, richiedendo il trapianto di cornea nel 12-48% dei casi, e l'enucleazione nel 6% dei casi.⁸

Clinica e diagnosi

Una diagnosi precoce è fondamentale al fine di ottenere una completa guarigione o perlomeno limitare i danni.⁹

Una raccolta dettagliata della storia clinica e la ricerca meticolosa di fattori oculari e sistemici predisponenti sono di primaria importanza.

Il quadro sintomatologico è sovrapponibile ad altre forme di cheratiti microbiche, presentandosi con dolore, fotofobia, calo del visus. Spesso il paziente presenta una storia sintomatologica più subdola e lentamente progressiva, con inefficacia della terapia antibiotica precedentemente instaurata.

Una storia clinica di trauma oculare, in particolare con materiale di natura vegetale, o cheratopatia neurotrofica, erpetica, da esposizione, da dry eye, o l'uso cronico di lenti a contatto e di farmaci steroidei topici, devono essere attenzionati e possono avvalorare il sospetto di una infezione micotica.

È evidenziabile un quadro di forte infiammazione oculare e opacità della superficie corneale con un infiltrato stromale denso grigio-biancastro che può presentarsi ulcerato o rilevato. I margini della lesione possono essere arrotondati o irregolari e cotonosi con la presenza di pseudo-ife. Spesso gli infiltrati sono multipli, con

lesioni satellite, essendo questo un fattore diagnostico importante. Talora si può riscontrare un infiltrato ad anello, pieghe della Descemet e, nei casi più gravi, reazione in camera anteriore e ipopion.

In presenza di un quadro clinico sospetto è necessario effettuare un campionamento tissutale per l'esame microbiologico diretto e la coltura. Considerando la tendenza dei funghi alla crescita negli strati corneali profondi, un campionamento superficiale è in genere inadeguato. Pertanto lo scraping corneale con lama chirurgica o spatola in platino è raccomandabile per la raccolta del campione corneale da analizzare.

Un esame diretto con uno striscio a fresco su vetrino consente di ottenere rapide informazioni, e può essere effettuato con le colorazioni di Gram e Giemsa che permettono di riconoscere rispettivamente lieviti e ife. Meno comune invece l'impiego d'inchiostro di ossido di potassio, Latcophenol cotton blue e colorazioni con calcofluor white.

I principali terreni impiegati per l'isolamento dei funghi sono agar-sangue, agar-cioccolato o agar Sabouraud-destrosio. Nell'83% dei casi la crescita dei funghi avviene dopo 72 ore, ed entro una settimana nel 97%, potendo essere pertanto causa di ritardo diagnostico.¹⁰

Nessun terreno di coltura offre una sensibilità diagnostica del 100%, così una coltura negativa non permette di escludere la diagnosi.

L'anti-micogramma consente poi di valutare la sensibilità in vitro del patogeno isolato ai vari agenti antimicotici testati. È inoltre dimostrata la forte correlazione positiva tra un valore di MIC elevato e il rischio di perforazione.¹¹

La Polimerase chain reaction (PCR) è un test diagnostico rapido, sensibile e specifico per la diagnosi di cheratiti micotiche. In uno studio retrospettivo condotto su cheratiti micotiche nell'arco di 10 anni è stata evidenziata una sensibilità del 92.6%, con una diagnosi effettuabile tra 4 e 8 ore.¹²

La microscopia confocale è uno strumento diagnostico non invasivo che consente una diretta e rapida visualizzazione delle ife fungine.^{13,14}

In uno studio prospettico è stata stimata una specificità della microscopia confocale nella diagnosi di cheratiti micotiche del 93% e sensibilità dell'89%.¹⁵

I limiti di questa metodica sono essenzialmente gli alti costi e la limitata diffusione, oltre che essere operatore dipendente.

Trattamento medico e chirurgico

Gli anti-micotici sono i farmaci di scelta per il trattamento delle cheratiti fungine, cui spesso si abbinano

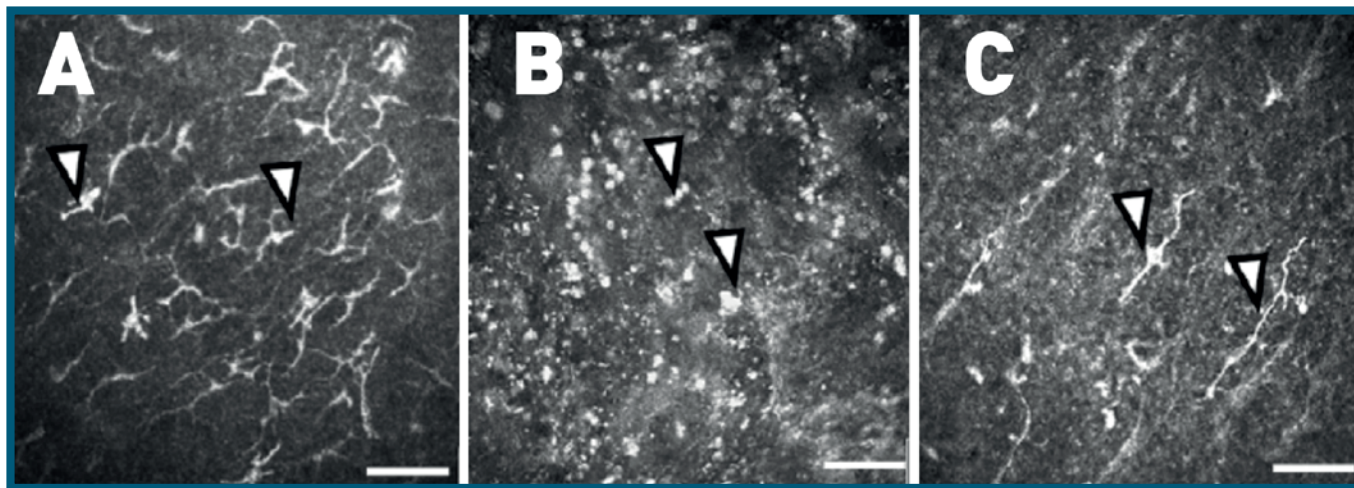


Fig. 3 - Aspetti di microscopia confocale nelle cheratiti micotiche: A, infiltrato di cellule infiammatorie grandi ($\approx 50 \mu\text{m}$), di aspetto dendritiforme con corpo sottile e allungato e fibre sottili e lunghe (freccette); B, infiltrazione polimorfa di cellule rotonde (freccette); C, infiltrato di cellule infiammatorie dendritiformi giganti ($\approx 100 \mu\text{m}$), di aspetto dendritiforme con corpo allungato e sottile e filamenti sottili e corti.¹⁴

antibiotici topici per il controllo delle sovra-infezioni batteriche, oltre che colliri ad azione cicloplegica.

I farmaci antimicotici sono essenzialmente classificati in quattro gruppi: polieni, imidazoli, triazoli e pirimidine fluorinate. Tali farmaci trovano impiego per uso topico, orale o intravenoso. Maggiormente impiegati per uso topico sono la Natamicina 5% e l'Amfotericina B 0,15%. Tra i farmaci di nuova generazione ritroviamo invece il Voriconazolo 1%.¹⁶ In alcuni studi è stata inoltre validata l'efficacia della Clorexidina per uso topico.¹⁷

È bene ricordare i potenziali effetti tossici dei colliri antimicotici topici, quali: cheratite puntata, erosioni epiteliali recidivanti, chemosi ed iperemia congiuntivale.

La scelta iniziale del farmaco antifungino deve tenere in considerazione i risultati ottenuti all'esame microscopico diretto, i dati clinici, e l'esame colturale, e se questi permettono di orientare la diagnosi verso una infezione da funghi filamentosi o sostenuta da lieviti. In presenza di funghi filamentosi la Natamicina 5% rappresenta attualmente il farmaco di scelta, in presenza di lieviti sono invece da considerare l'Amfotericina B 0,15% e il Voriconazolo 1%.¹⁸

Dobbiamo quindi distinguere un trattamento medico non specifico con farmaci anti-micotici ad ampio spettro, e un trattamento anti-micotico mirato.

Una volta identificato il patogeno attraverso l'esame colturale il regime terapeutico può essere eventualmente modificato, tenendo in considerazione i dati relativi alla sensibilità del patogeno verso i vari agenti anti-micotici.

La Natamicina 5% è a tutt'oggi l'antimicotico per uso topico più impiegato.

È infatti l'unico antimicotico topico di cui, in alcuni paesi, è disponibile (Italia non compresa) una preparazione commerciale (Natacyl 5%, Alcon®). Non esiste una preparazione di Natamicina orale.

Per le cheratiti sostenute da *Fusarium* e *Aspergillus* rappresenta il farmaco di prima scelta. Tuttavia è limitato da una scarsa penetrabilità verso lo stroma profondo.¹⁹ Nelle ulcere corneali profonde è necessario pertanto effettuare un trattamento adiuvante aggiuntivo, eventualmente per via sottocongiuntivale, orale o intravenosa.²⁰

Il Voriconazolo 1% è un triazolo di nuova generazione. Ha acquisito popolarità soprattutto per la sua capacità di penetrare nel tessuto stromale profondo, e per lo spettro d'azione capace di coprire le specie di *Candida* oltre che gli agenti filamentosi.

Lo studio MUTT I è un trial clinico randomizzato in doppio cieco, che ha confrontato l'efficacia di Natamicina 5% e Voriconazolo 1% nel trattamento delle ulcere fungine, su 323 pazienti. I risultati di questo studio dimostrano migliori benefici nel gruppo trattato con Natamicina in termini sia di acuità visiva sia per il ridotto rischio di perforazione.²¹

Tali risultati sono stati inoltre confermati in un secondo ampio trial clinico, oltre che da una recente review della Cochrane.^{22,23}

La superiorità della Natamicina 5% risulta maggiormente evidente nel trattamento delle forme da *Fusarium*. Tuttavia il Voriconazolo 1% potrebbe rappresentare un farmaco di prima scelta in pazienti ad alto rischio di infezioni da *Candida*, sebbene in associazione a farmaci che offrano una valida copertura verso altre specie micotiche.²⁴

La Amfotericina B appartiene alla classe dei polieni, attiva contro le specie di *Candida* e *Aspergillus*. Offre però una scarsa copertura verso lo spettro dei funghi filamentosi. Inoltre è ben noto il suo alto profilo di tossicità corneale, causando erosioni epiteliali puntate e occasionalmente una colorazione verdastra della cornea. Per tali ragioni la Amfotericina B 0,15% non rappresenta un farmaco di prima scelta laddove siano disponibili altri agenti anti-micotici maggiormente efficaci.²⁴ Sia Anfotericina B 0,15%, che Voriconazolo 1% non esistono in formulazione di collirio commerciale, devono quindi essere preparati appositamente in forma galenica (nel paragrafo successivo si riportano le indicazioni per la preparazione).

Per quanto riguarda i trattamenti sistemici disponibili ritroviamo il Voriconazolo per via orale. Il razionale di un trattamento sistemico è quello di ottenere una concentrazione di farmaco nello stroma corneale e nell'umore acqueo costante.²⁵

Il trial clinico MUTT II ha valutato l'efficacia del trattamento adiuvante con Voriconazolo orale, non dimostrando nessun vantaggio rispetto al placebo sia per il rischio di perforazione, che in termini di acuità visiva. Tuttavia è stato dimostrato un vantaggio nel sottogruppo delle ulcere da *Fusarium*.²⁶

Tra le altre tipologie di trattamento adiuvante, la somministrazione sottocongiuntivale di Voriconazolo, ha dimostrato un potenziamento nel trattamento delle ulcere profonde trattate in aggiunta alla Natamicina 5% topica.²⁷

L'iniezione intracamerulare di Amfotericina B può essere impiegata in aggiunta al drenaggio dell'ipopion.²⁸

L'impiego endovenoso di Amfotericina B è invece limitato dalla elevata tossicità dose dipendente, (soprattutto nefrotossicità).

Il trattamento chirurgico è necessario nelle forme di cheratite micotica scarsamente sensibili alla terapia medica o laddove vi sia un descemetocèle con rischio di imminente perforazione corneale. L'obiettivo di un trattamento chirurgico è quello di eliminare gli elementi infettanti e ridurre la reazione immunologica contro questi oltre che la rimozione dei tessuti necrotici.

I trattamenti chirurgici impiegati per le ulcere piccole e superficiali prevedono il debridement dei tessuti infetti, la cheratectomia superficiale e la tarsoraffia. In presenza di lesioni severe a rischio di complicanze maggiori sono necessari interventi di ricoprimento congiuntivale o la cheratoplastica perforante se gli agenti responsabili non recedono sotto terapia.²⁹

Il Cross-Linking corneale (CXL) grazie all'attivazione fotochimica della riboflavina, consente la formazione di ponti collagene, rinforzando così le lamelle stromali. Tale trattamento può avere una propria valenza nelle cheratiti infettive grazie sia all'azione anti-microbica diretta, che al rafforzamento dei tessuti corneali contro la degradazione enzimatica. Esistono numerose evidenze in letteratura che supportano l'impiego del CXL nel trattamento delle cheratiti da funghi filamentosi.^{30,31}

Tuttavia gli studi in vitro non hanno dimostrato la capacità del solo CXL di inattivare i miceti. Solo uno studio che combinava CXL e Amfotericina B, ha dimostrato un'inattivazione in vitro dei funghi.³²

Preparazione galenica di colliri antimicotici:

Voriconazolo 1%

Metodo: 200 mg di Voriconazolo in polvere (preparazione per uso parenterale) vengono disciolti in 20 ml di soluzione fisiologica in modo da ottenere 20 ml di Voriconazolo a concentrazione di 10 mg/ml.

Conservazione: La preparazione deve essere conservata a temperatura di 4°C e prima di ogni instillazione deve essere accuratamente agitata.

Amfotericina B 0,15%

Metodo: 50 mg di Amfotericina B in polvere (preparazione per uso parenterale) vengono disciolti in 20 ml di soluzione fisiologica sterile. Da tale preparazione si prelevano 3 ml che vengono aggiunti a 7 ml di collirio già pronto (tipo lacrime artificiali).

Conservazione: La preparazione non deve essere esposta alla luce. È necessaria una periodica ispezione della preparazione in quanto eventuali torbidità sono segno di contaminazione o precipitazione della stessa. ■

BIBLIOGRAFIA

1. Wong TY, Ng TP, Fong KS, Tan DT. Risk factors and clinical outcomes between fungal and bacterial keratitis: a comparative study. *CLAO J*. 1997;23:275-81.
2. Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Meenakshi R, Padmavathy S, Shivakumar C, Srinivasan M. Microbial keratitis in South India: influence of risk factors, climate, and geographical variation. *Ophthalmic Epidemiol*. 2007;14:61-9.
3. Gopinathan U, Garg P, Fernandes M, Sharma S, Athmanathan S, Rao GN. The epidemiological features and laboratory results of fungal keratitis: a 10-year review at a referral eye care center in South India. *Cornea* 2002; 21(6): 555-559
4. Farrell S, McElnea E, Moran S, Knowles S, Murphy CC. Fungal keratitis in the Republic of Ireland. *Eye (Lond)*. 2017;31(10):1427-1434. doi:10.1038/eye.2017.82
5. Tuft SJ, Tullo AB. Prospective study of fungal keratitis in the United Kingdom 2003-2005. *Eye (Lond)* 2009; 23: 308-313.
6. Rogers GM, Goins KM, Sutphin JE, Kitzmann AS, Wagoner MD. Outcomes of treatment of fungal keratitis at the University of Iowa Hospitals and Clinics: a 10-year retrospective analysis. *Cornea* 2013; 32(8): 1131-1136
7. Ong HS, Fung SS, Macleod D, Dart JK, Tuft SJ, Burton MJ. Altered patterns of fungal keratitis at a London Ophthalmic Referral Hospital: an Eight-Year Retrospective Observational Study. *Am J Ophthalmol* 2016; 168: 227-236.
8. Sharma S. Diagnosis of fungal keratitis: current options. *Expert Opin Med Diagn*. 2012;6:449-55.
9. Galarreta DJ, Tuft SJ, Ramsay A, Dart JK. Fungal keratitis in London: microbiological and clinical evaluation. *Cornea* 2007; 26(9): 1082-1086.
10. McGinnis M. *Laboratory handbook of medical mycology*. New York: Academic Press; 1980.
11. Lalitha P, Prajna NV, Oldenburg CE, Srinivasan M, Krishnan T, Mascarenhas J, Vaitilingam CM, McLeod SD, Zegans ME, Porco TC, Acharya NR, Lietman TM. Organism, minimum inhibitory concentration, and outcome in a fungal corneal ulcer clinical trial. *Cornea* 2012; 31: 662-667.
12. Ferrer C, Alio JL. Evaluation of molecular diagnosis in fungal keratitis. Ten years of experience. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection*. 2011;1:15-22.
13. Erie JC, McLaren JW, Patel SV. Confocal microscopy in ophthalmology. *Am J Ophthalmol*. 2009;148:639-46.
14. Smedowski A, Tarnawska D, Orski M, Wroblewska-Czajka E, Kaarniranta K, Aragona P and Wylegala E. Cytoarchitecture of epithelial inflammatory infiltration indicates the aetiology of infectious keratitis. *Acta Ophthalmol* 2017;95(4):405-413. doi: 10.1111/aos.13363.
15. Vaddavalli PK, Garg P, Sharma S, Sangwan VS, Rao GN, Thomas R. Role of confocal microscopy in the diagnosis of fungal and acanthamoeba keratitis. *Ophthalmology*. 2011;118:29-35.
16. Galarreta DJ, Tuft SJ, Ramsay A, Dart JK. Fungal keratitis in London: microbiological and clinical evaluation. *Cornea* 2007;26(9):1082-6.
17. Martin MJ, Rahman MR, Johnson GJ, Srinivasan M, Clayton YM. Mycotic keratitis: susceptibility to antiseptic agents. *International Ophthalmology* 1996;19(5):299-302.
18. Thomas PA, Kaliyamurthy J. Mycotic keratitis: epidemiology, diagnosis and management. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Mar;19(3):210-20. doi:10.1111/1469-0691.12126. Epub 2013 Feb 9. Review. PubMed PMID: 23398543.
19. O'Day DM, Head WS, Robinson RD, Clanton JA. Corneal penetration of topical amphotericin B and natamycin. *Curr Eye Res*. 1986;5:877-882.
20. Tanure MA, Cohen EJ, Sudesh S, Rapuano CJ, Laibson PR. Spectrum of fungal keratitis at Wills Eye Hospital, Philadelphia, Pennsylvania. *Cornea*. 2000;19:307-12.
21. Prajna NV, Krishnan T, Mascarenhas J, et al. The mycotic ulcer treatment trial: a randomized trial comparing natamycin vs. voriconazole. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131:422-429.
22. Sharma S, Das S, Viridi A, et al. Re-appraisal of topical 1% voriconazole and 5% natamycin in the treatment of fungal keratitis in a randomized trial. *Br J Ophthalmol*. 2015;99:1190-1195.
23. FlorCruz NV, Evans JR. Medical interventions for fungal keratitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015:CD004241.
24. Ansari Z, Miller D, Galor A. Current Thoughts in Fungal Keratitis: Diagnosis and Treatment. *Curr Fungal Infect Rep*. 2013 Sep 1;7(3):209-218.
25. Thiel MA, Zinkernagel AS, Burhenne J, et al. Voriconazole concentration in human aqueous humor and plasma during topical or combined topical and systemic administration for fungal keratitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:239-244.
26. Prajna NV, Krishnan T, Rajaraman R, et al. Effect of oral voriconazole on fungal keratitis in the Mycotic Ulcer Treatment Trial II (MUTT II): a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134:1365-1372.
27. Kalaiselvi G, Narayana S, Krishnan T, Sengupta S. Intrastromal voriconazole for deep recalcitrant fungal keratitis: a case series. *Br J Ophthalmol*. 2015;99:195-198.
28. Yoon KC, Jeong IY, Im SK, et al. Therapeutic effect of intracameral amphotericin B injection in the treatment of fungal keratitis. *Cornea*. 2007;26:814-818.
29. Thomas PA, Kaliyamurthy J. Mycotic keratitis: epidemiology, diagnosis and management. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Mar;19(3):210-20. doi: 10.1111/1469-0691.12126. Epub 2013 Feb 9.
30. Martins SA, Combs JC, Noguera G, et al. Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49: 3402-3408.
31. Panda A, Krishna SN, Kumar S. Photo-activated riboflavin therapy of refractory corneal ulcers. *Cornea*. 2012;31: 1210-1213.
32. Sauer A, Letscher-Bru V, Speeg-Schatz C, et al. In vitro efficacy of anti-fungal treatment using riboflavin/UV-A (365nm) combination and amphotericin B. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:3950-3953.