ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

Katedra biomedicínské techniky

Měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem

Measurement of central retinal thickness of patients with diabetic macular edema

Diplomová práce

Studijní program: Biomedicínská a klinická technika (BMKT)
Studijní obor: Biomedicínský inženýr (BME)

Vedoucí práce: doc. Ing. Jiří Hozman, Ph.D.

Bc. Stanislav Moravec

Kladno 2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení:	**Moravec**	Jméno:	**Stanislav**	Osobní číslo:	**465458**
Fakulta:	**Fakulta biomedicínského inženýrství**				
Garantující katedra:	**Katedra biomedicínské techniky**				
Studijní program:	**Biomedicínská a klinická technika**				
Studijní obor:	**Biomedicínský inženýr**				

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem

Název diplomové práce anglicky:

Measurement of central retinal thickness of patients with diabetic macular edema

Pokyny pro vypracování:

Cílem práce je zjištění klesajícího trendu centrální retinální tloušťky (CRT) a posouzení shody výsledků měření na dvou referenčních přístrojích a vlastní implementované metody na obrazových datech z přístrojů u pacientů s diabetickým makulárním edémem léčených nitroočními injekcemi anti-VEGF. Ve shodě s tímto cílem ověřte platnosti hypotéz, že po loadingové fázi léčby dojde ke snížení centrální retinální tloušťky (CRT) o 25 % a že rozdíly centrální retinální tloušťky (CRT) měřené na dvou přístrojích nepřesáhnou za sledované období hladinu 5 %. Podmínkou měření je, že pacient musí být změřen před zahájením léčby na obou přístrojích a následně po loadingové fázi, tj. po třech aplikacích.

Seznam doporučené literatury:

[1] Němec P., Kousal B., Löfflerová V., Optická koherenční tomografie - Klinický atlas sítnicových patologií, Mladá fronta a. s., Praha, 2017, 408 s., ISBN 978-80-204-4414-1
[2] Santos A.R., Alves D., Santos T., Figueira J., Silva R., Cunha-Vaz J.G., Measurements of retinal fluid by oct leakage in diabetic macular edema, Retina, ročník 39, 2017, 52-60 s.
[3] Nakano E, Ota T, Jingami Y, Nakata I, Hayashi H, Yamashiro K., Disorganization of the retinal inner layers after anti VEGF treatment for macular edema due to branch retinal vein occlusion, Ophthalmologica, ročník 240, 2018, 229-234 s.
[4] Ute E. K. Wolf-Schnurrbusch, Ceklic L., Brinkmann Ch. K., Iliev, M. E., Frey M., Rothenbuehler S. P., Enzmann V., Wolf S., Macular Thickness Measurements in Healthy Eyes Using Six Different Optical Coherence Tomography Instruments, Investigative Ophthalmology & Visual Science, ročník 50, 2009, Červenec, 3432-3437 s., https://doi.org/10.1167/iovs.08-2970

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

doc. Ing. Jiří Hozman, Ph.D.

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

primář as. MUDr. Pavel Němec, MUDr. Hana Palyzová, MUDr. Renata Ženíšková, Oční klinika ÚVN Praha

Datum zadání diplomové práce: **15.02.2021**
Platnost zadání diplomové práce: **18.09.2022**

Doc. Ing. Martin Rožánek, Ph.D.
Digitálně podepsal Doc. Ing. Martin Rožánek, Ph.D. Datum: 2021.03.03 22:09:23 +01'00'
doc. Ing. Martin Rožánek, Ph.D.
podpis vedoucí(ho) katedry

prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA
Digitálně podepsal prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA Datum: 2021.03.04 11:57:36 +01'00'
prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA
podpis děkana(ky)

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem „Měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem“ vypracoval samostatně a použil k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne ……

Bc. Stanislav Moravec

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych rád poděkoval celé Oční klinice 1.LF UK a ÚVN za umožnění sběru a následnému zpracování dat. Zejména panu primáři as. MUDr. Pavlovi Němcovi za klinický podnět pro vznik této práce, a lékařkám MUDr. Renatě Ženíškové a MUDr. Haně Palyzové za pomoc se zajištěním pacientů a odborné klinické konzultace v průběhu realizace celé studie. Dále bych velice rád poděkoval svému vedoucímu, doc. Ing. Jiřímu Hozmanovi, PhD., za profesionální přístup, cenné rady a čas, který mi věnoval v průběhu celého procesu vypracování diplomové práce. V neposlední řadě bych rád poděkoval panu Ing. Petrovi Volfovi za konzultace spojené se zpracováním obrazu.

ABSTRAKT

Měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem

Diplomová práce se zabývá měřením centrální retinální tloušťky (CRT) pomocí zobrazovací metody optické koherenční tomografie (OCT), u pacientů s diabetickým makulárním edémem (DME), v rámci loadingové fáze anti-VEGF terapie. Cílem diplomové práce je analýza poklesu tohoto parametru v průběhu loadingové fáze léčby a následné srovnání dvou OCT přístrojů a vlastního algoritmu z hlediska měření rozdílu CRT za toto sledované období. V průběhu studie bylo naměřeno 23 očí pacientů s DME vstupujících do loadingové fáze anti-VEGF léčby, na Oční klinice 1.LF UK a ÚVN, pomocí OCT přístrojů HRA+OCT Spectralis a Cirrus HD-OCT 5000. V rámci studie byl potvrzen klesající trend CRT a byla potvrzena hypotéza, že v průběhu loadingové fáze bude dosaženo poklesu CRT o 25 %. Na základě zjištěných výsledků byla prokázána nejen shoda měření dvou OCT přístrojů, ale také shoda měření s vlastním algoritmem DME Analyzer, formou statistické a Bland-Altmanovy analýzy.

Klíčová slova

DME (Diabetický makulární edém), anti-VEGF terapie, loadingová fáze, OCT (Optická koherenční tomografie), CRT (centrální retinální tloušťka)

ABSTRACT

Measurement of central retinal thickness of patients with diabetic macular edema

Presented Master's Thesis is focused to measurement of central retinal thickness (CRT), using optical coherence tomography (OCT) imaging method, during the loading phase of anti-VEGF therapy, in the sample of patients with the diabetic macular edema. The aim of this Master's thesis is to analyze decreasing tendency of this parameter, during the loading phase of anti-VEGF treatment and subsequent comparison of the two OCT devices, as well as with author's algorithm in terms of measurement a difference of CRT, during this reporting period. Over the course of the study, 23 eyes of patients with DME were measured when entering the loading phase of anti-VEGF therapy, using OCT devices HRA+OCT Spectralis and Cirrus HD-OCT 5000, at The Department of Ophthalmology of 1st Faculty of Medicine of the Charles University and the Military University Hospital Prague. The presented study confirmed decreasing tendency of CRT and hypothesis, that during the loading phase of anti-VEGF treatment will be achieved 25% decrease of CRT. Based on results of the presented study was confirmed the congruence of measurements between OCT devices as well as with measurement of author's algorithm DME Analyzer based on statistical and Bland-Altman's analysis.

Keywords

DME (Diabetic Macular Edema), anti-VEGF therapy, loading phase, OCT (Optical Coherence Tomography), CRT (Central Retinal Thickness)

Obsah

Seznam symbolů a zkratek **9**

1 Úvod **10**

2 Přehled současného stavu **11**

2.1 Diabetický makulární edém 11

2.2 Diagnostika DME a přístrojové vybavení využívané v oftalmologii 13

2.2.1 Fundus kamera 13

2.2.2 Optická koherenční tomografie 13

2.2.3 Novodobé technologie neinvazivní angiografie 14

2.3 Anti-VEGF a další možnosti terapie DME 15

2.3.1 Laserová fotokoagulace 16

2.3.2 Intravitreální anti-VEGF léčba 16

3 Cíle práce **18**

4 Metody **19**

4.1 Specifikace studie 19

4.1.1 Dokumentace studie 19

4.1.2 Specifikace probandů 20

4.2 Specifikace přístrojového a softwarového vybavení 20

4.2.1 Specifikace skenovacích vzorců OCT přístrojů 22

4.3 Průběh měřicího procesu 24

4.4 Průběh měření 26

4.4.1 Měření zrakové ostrosti dle ETDRS 26

4.4.2 Příprava měření 28

4.4.3 Diagnostické OCT vyšetření 28

4.4.4 Zpracování naměřených dat 28

4.4.5 Vyšetření u lékaře a aplikace nitrooční injekce anti-VEGF 28

4.5 Princip OCT přístroje a kvantitativní analýza naměřených dat 29

4.5.1 Princip OCT přístroje 29

4.5.2 Popis použitých OCT přístrojů 31

4.5.3 Anatomický popis OCT skenu 33

4.5.4 Kvantitativní analýza naměřených dat 34

4.6 Algoritmus DME Analyzer ... 36
4.6.1 Báze algoritmu ... 38
4.6.2 Subprogramy Předzpracování a Zpracování dat ... 38
4.6.3 Testování algoritmu pomocí testovacího obrazce ... 41
4.6.4 Grafické uživatelské rozhraní ... 42
4.7 Statistické zpracování dat ... 44
4.7.1 Zpracování dat za účelem ověření první hypotézy ... 44
4.7.2 Zpracování dat za účelem ověření druhé hypotézy ... 46
5 Výsledky ... 47
5.1 Analýza poklesu CRT v rámci loadingové fáze anti-VEGF terapie ... 47
5.1.1 Tendence parametru CRT v rámci loadingové fáze ... 48
5.1.2 Analýza poklesu CRT v průběhu loadingové fáze ... 49
5.1.3 Korelační analýza ... 52
5.2 Komparace dvou OCT přístrojů společně s vlastním algoritmem DME Analyzer ... 53
5.2.1 Komparace formou statistického testu ... 54
5.2.2 Komparace formou Bland-Altmanovy analýzy ... 56
6 Diskuse ... 58
7 Závěr ... 65
Seznam použité literatury ... 66
Příloha A: Naměřená data zrakové ostrosti ... 71
Příloha B1: Souhlas etické komise ... 72
Příloha B2: Informovaný souhlas ... 75
Příloha C: Karta probanda ... 77
Příloha D: Protokol měření ... 78
Příloha E: Verifikace měření algoritmem DME Analyzer ... 84
Příloha F: Seznam příloh přiloženého souboru ... 85

Seznam symbolů a zkratek

Seznam symbolů

Symbol	Jednotka	Význam
CRT	µm	Parametr centrální retinální tloušťky
vizus	-	Zraková ostrost pacienta dle ETDRS
r	-	Pearsonův výběrový korelační koeficient
LoadingResult	%	Průměrná hodnota procentuálních diferencí CRT v rámci loadingové fáze

Seznam zkratek

Zkratka	Význam
DME	Diabetický makulární edém (*Diabetic macular edema*)
DR	Diabetická retinopatie (Diabetic retinopathy)
VEFG	Cévní endotelový růstový faktor (Vascular endothelial growth factor)
OCT	Optická koherenční tomografie (Optical coherence tomography)
FA	Fluorescenční angiografie (Fluorescein Angiography)
OCTA	OCT angiografie (OCT Angiography)
ETDRS	Studie včasné léčby diabetické retinopatie (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study)
ILM	Vnitřní limitující membrána (Inner limiting membrane)
ELM	Vnější limitující membrána (External limiting membrane)
RPE	Retinální pigmentový epitel (Retinal pigment epithelium)
BM	Bruchova membrána (Bruch's membrane)
GUI	Grafické uživatelské rozhraní (Graphic User Interface)
LUT	Vyhledávací tabulka (Lookup table)
OP	Oko pravé
OL	Oko levé

1 Úvod

Onemocnění diabetes mellitus způsobuje při nedostatečné kompenzaci vážné chronické stavy kardiovaskulárního typu, ale také neuropatii, nefropatii či retinopatii. Diabetická retinopatie, a s ní související diabetický makulární edém, jsou považovány mezi nejčastější příčinu ztráty zraku u populace v produktivním věku. Z tohoto důvodu společně s vysokou prevalencí onemocnění diabetes mellitus se stává z léčby diabetického makulárního edému velmi aktuální interdisciplinární problém [1; 2; 3]. Jednou z aktuálně nejpoužívanějších metod terapie diabetického makulárního edému se stává aplikace intravitreálních anti-VEGF injekcí. Signifikantní roli v účinnosti této terapie hraje včasná diagnostika onemocnění pomocí novodobých zobrazovacích metod optické koherenční tomografie, které umožňují nejen samotné tomografické zobrazení, ale také kvantitativní analýzu [3].

Předmětem této diplomové práce je měření centrální retinální tloušťky pomocí optické koherenční tomografie u pacientů s diabetickým makulárním edémem v průběhu loadingové fáze anti-VEGF léčby. Cílem je sledování efektu inicializační fáze této léčby formou ověření klesající tendence centrální retinální tloušťky, ale také komparace výsledných hodnot změny tohoto parametru naměřeného dvěma OCT přístroji a vlastním algoritmem, které se liší zejména segmentačními mechanismy.

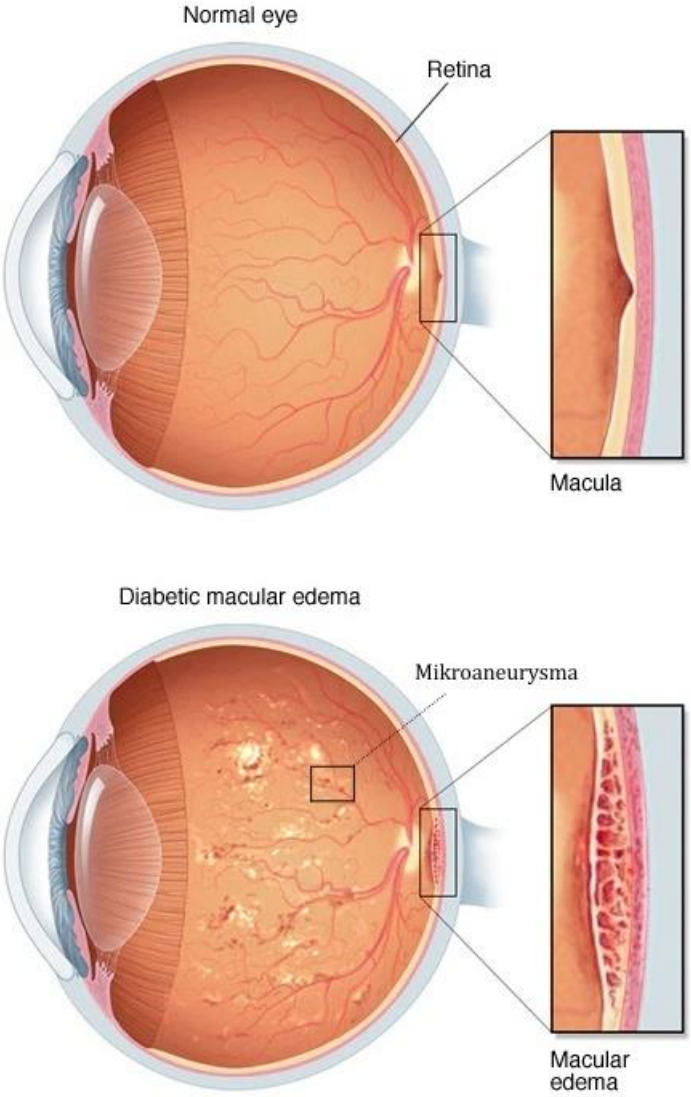
2 Přehled současného stavu

Problematika přehledu současného stavu je rozčleněna na tři subkapitoly zachycující nejdůležitější oblasti týkající se zaměření této diplomové práce tak, aby z něj postupně vyplynuly cíle práce. Tato kapitola uvozuje do problematiky diabetického makulárního edému, současných diagnostických zobrazovacích systémů a terapie tohoto patologického stavu sítnice, což slouží pro jednodušší pochopení samotného konceptu studie v rámci této diplomové práce.

2.1 Diabetický makulární edém

Fotoreceptory, složené ze světločivých elementů tyčinek a čípků, tvoří vrstvu oční koule (*bulbus oculi*) zvanou sítnice (*retina*). Světločivé elementy reagují při dopadu fotonů o vlnové délce z intervalu (390; 760) nm. Tyčinky, jejichž počet v *retině* nabývá hodnoty z intervalu (130; 140) milionů, jsou schopny reagovat na fotony o nižší intenzitě, což umožňuje rozeznávat jednotlivé stupně šedi zejména při sníženém osvětlení [4; 5]. Čípky, jejichž počet je odhadován na 7 milionů, umožňují vnímat barevné vjemy z důvodu přítomnosti tří druhů pigmentu s absorpčními maximy odpovídajícím modré, zelené a červené barvě [6]. Místo nejostřejšího vidění, tedy část *retiny* s největší koncentrací čípků, se nazývá žlutá skvrna (*macula lutea*) [4].

Dlouhodobý hyperglykemický stav, způsobený nemocí *diabetes mellitus*, způsobuje závažné akutní komplikace, mezi které patří například hyperglykemické či hypoglykemické koma, ale také chronické komplikace jako například kardiovaskulární komplikace, hypertenzi, diabetickou neuropatii, nefropatii či retinopatii [1; 2]. Diabetická retinopatie DR (Diabetic Retinopathy) se v ranné fázi projevuje vznikem mikroaneurysmat, tedy dilatací retinální cévní stěny. Důvodem vzniku mikroaneurysmat je dlouhodobě zvýšená koncentrace glukózy v krvi, která narušuje cévní stěnu, což vede k vyplavení cévního endotelového růstového faktoru VEGF (Vascular endothelial growth factor) [1; 7; 8]. Mikroaneurysmata vedou ke změnám permeability cév, čímž dochází k jejich oslabení a zvýšenému riziku vzniku diabetického makulárního edému DME (Diabetic Macular Edema), který lze definovat jako zvětšení objemu extracelulární tekutiny v makulárním prostoru za vzniku tvrdých exsudátů do vzdálenosti 1500 μm od centra makuly [8; 9; 3]. DME vzniká kaskádovitým procesem počínajícím hypoperfuzí v důsledku vzniku mikroaneurysmat při chronickém hyperglykemickém stavu, následnou hypoxií a tvorbou zánětu. Výsledkem tohoto procesu je zhroucení hematoretinální bariery a vznik edému [3]. Komparaci zdravého oka s okem postiženým DME zachycuje Obrázek 2.1, kde lze pozorovat velký počet mikroaneurysmat a detailní záběr na DME.



Obrázek 2.1 Komparace zdravého oka s okem postiženým DME. Převzato a upraveno z [39]

Závažnost DME zdůrazňuje epidemiologie onemocnění diabetes mellitus, jehož celosvětová prevalence činí k roku 2019 podle mezinárodní diabetické federace 9,3 %, tedy 463 milionů dospělých lidí [10]. V České republice je prevalence diabetu 8,3 %, tedy přibližně 870 tisíc lidí k roku 2013 a incidence stále roste [11]. Takto široké soubory pacientů představují rizikovou skupinu pro rozvinutí diabetické retinopatie a diabetického makulárního edému [3]. Vzhledem k tomu, že DR, potažmo DME patří mezi nejčastější příčiny ztráty zraku u populace v produktivním věku, tak dochází k rozsáhlé spolupráci mezi diabetologickými a očními ordinacemi za účelem včasné diagnostiky a následné terapie těchto onemocnění [1; 3; 12] .

2.2 Diagnostika DME a přístrojové vybavení využívané v oftalmologii

Diabetická retinopatie ani diabetický makulární edém nejsou onemocnění, jejichž progresi by dokázal organismus diabetika sám zastavit. Při včasné diagnostice a následném zahájení terapie však lze progresi DME výrazně snížit, popřípadě i téměř zastavit [13]. V klinické praxi je možné DR i DME diagnostikovat již při vyšetření pacienta oftalmoskopem, který umožňuje lékaři zobrazit oční pozadí. Tato technika však patří mezi jednodušší zobrazovací metody, jelikož nabízí nízké rozlišení. Novodobá diagnostická zobrazovací technika výrazně pomohla k diagnostice DR i DME, jelikož nabízí nejen vyšší rozlišení, ale také zobrazení řezů sítnice či cévního zásobení za použití fluorescence. Mezi toto novodobé diagnostické přístrojové vybavení lze řadit především optickou koherenční tomografii OCT (Optical Coherence Tomography), angio-OCT či fundus kameru [13; 14].

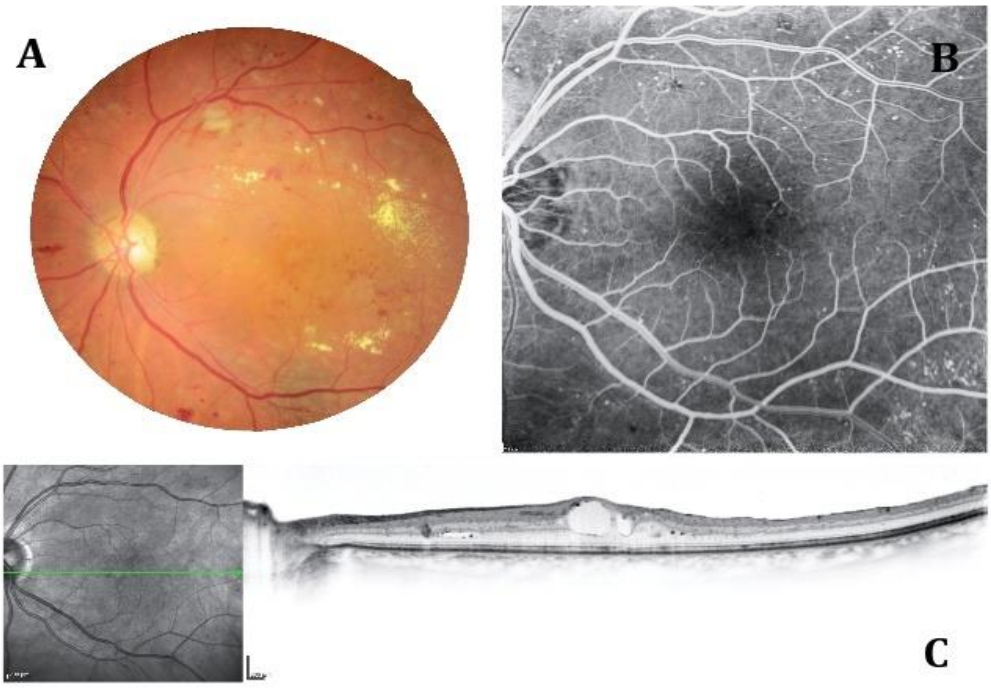
2.2.1 Fundus kamera

Fundus kamera umožňuje neinvazivní snímání barevných snímků očního pozadí, na kterém lze pozorovat mimo makuly také papilu očního nervu a cévní zásobení. Předností fundus kamery je zobrazení třírozměrného povrchu sítnice do dvourozměrného obrazu, kde intenzita jednotlivých pixelů odpovídá množství odraženého světla. Přístroj se skládá z fotoaparátu, na který je připojený mikroskop zajišťující přiblížení na povrch sítnice [15]. V rámci diagnostiky DR a DME lze na barevném fundus snímku pozorovat mikroaneurysmata, exsudáty i makulární edém. Pomocí fundus kamery lze také provést fluorescenční angiografii FA (Fluorescein Angiography), při které je pacientovi aplikována kontrastní látka a následně je oční pozadí snímáno pomocí fundus kamery. Aplikací kontrastní látky se však toto vyšetření již stává pro pacienta invazivní [14]. Výsledný snímek oka pacienta s DME zachycený pomocí fundus kamery lze pozorovat na Obrázku 2.2 A.

2.2.2 Optická koherenční tomografie

Optická koherenční tomografie je neinvazivní diagnostický systém, umožňující mimo 3-D tomografické zobrazení také kvantitativní analýzu jednotlivých vrstev sítnice. Pro tomografické zobrazení na rozdíl od běžně používaných radiologických tomografických systému nevyužívá ionizující záření, nýbrž měření doby letu odraženého infračerveného záření (přibližně 820 nm), čímž se principiálně blíží k technologii B-módu ultrazvuku (viz kapitola 4.5.1 Princip OCT přístroje) [16]. Základem OCT přístroje je nízko-koherenční interferometr měřící čas zpětně odraženého paprsku v interferenci s referenčním paprskem odraženým od zrcadla [15; 17]. V porovnání s ultrazvukem má OCT přibližně 10x lepší rozlišení (1-15 μm) do hloubky jednotek milimetrů, což vedlo k rozsáhlému uplatnění v diagnostice očních chorob, ale také v dalších oblastech medicíny [18].

Výsledný snímek z OCT přístroje kombinuje šedotónový obraz očního pozadí (topogram) s vybraným tomografickým řezem (tomogramem). OCT přístroj dokáže stejně jako fundus kamera zobrazit samotné oční pozadí, a proto je také vhodný pro fluorescenční angiografii s kontrastní látkou [14]. Obrázek 2.2 B zachycuje FA provedenou pomocí OCT přístroje. Na tomto obrázku je velmi zřetelně vidět velké množství mikroaneurysmat. Příklad OCT snímku pacienta s DME zachycuje Obrázek 2.2 C, kde na levé straně je topogram sítnice s vyznačenou rovinou tomogramu a na pravé straně konkrétní tomogram, na kterém lze pozorovat výrazné ztluštění v oblasti makuly způsobené edémem.



Obrázek 2.2 Srovnání výsledných snímků zobrazovacích modalit využívaných k diagnostice DME. Fundus kamera (A), FA provedená pomocí OCT přístroje (B) a OCT (C). OCT snímek obsahuje topogram (vlevo) a konkrétní tomogram (vpravo). Obrázek: Autor, databáze Oční kliniky 1. LF UK a ÚVN

V současné době je OCT přístroj pro diagnostiku DME a dalších retinálních patologií velmi rozsáhle využívaný zejména proto, že na základě segmentace tomografických řezů vrstev sítnice umožňuje měření retinální tloušťky a objemu, a tudíž i velikost a rozsah DME [16; 19].

2.2.3 Novodobé technologie neinvazivní angiografie

Přední výrobci OCT přístrojů, mezi které patří například Heidelberg Engineering, Optos či Zeiss, přidávají do OCT přístroje nadstavbové režimy snímání, které částečně nahrazují nutnost použití FA. Jednou z těchto nadstavbových technologií je fundus autofluorescence pomocí modrého laserového

paprsku. Tato neinvazivní zobrazovací technika využívá autofluorescence fluoroforu lipofuscinu, který se přirozeně vyskytuje v sítnici a excituje při ozáření světlem o vlnové délce přibližně 470 nm (oblast modré barvy viditelného spektra). Tento režim snímání lze v některých případech využít jako neinvazivní alternativu k FA při diagnostice DME a DR [20].

Další alternativní metodou k FA, podobně jako fundus autofluorescence, je technologie OCT angiografie OCTA (OCT Angiography), u které je kontrastní látka nahrazena pohybem krevních elementů. Režim OCTA porovnává rozdíly intenzit zpětně odražených paprsků mezi tomogramy pořízenými ve stejné rovině řezu. Rozdíly intenzit mezi tomogramy jsou způsobeny pohybem erytrocytů krevním řečištěm, čímž se režim OCTA principiálně blíží k technologii Dopplerovské ultrasonografie [21; 22]. Pro účel širokoúhlého záběru OCTA snímku existuje režim angio-montage, který aplikuje technologii OCTA na sítnici pod různými úhly a následně výslednou montáž vytvoří kombinací těchto snímků. Přestože je nespornou výhodou této technologie neinvazivita vyšetření, tak vyžaduje poměrně dobrou fixaci pacientova pohledu a omezení mrkání, jelikož je tato technologie velmi náchylná ke vzniku artefaktů. Další omezení představuje nízký krevní průtok, či nižší rychlost skenování. V každém případě je OCTA velmi užitečná k diagnostice mnoha očních patologií, včetně DR a DME, jelikož umožňuje sledování cévních změn, jako je například tvorba mikroaneurysmat a neovaskularizace. Technologie OCTA má perspektivní potenciál k postupnému nahrazení FA, zejména pokud se výrobci zaměří na zvýšení rychlosti snímání, šířky záběru a rozlišení [21].

2.3 Anti-VEGF a další možnosti terapie DME

Pro léčbu DR a DME je zcela zásadní pacientova systémová kompenzace glykémie a z té plynoucí komunikace diabetologických a očních ordinací, na základě které by měla probíhat pravidelná preventivní kontrola očního pozadí. Zejména po diagnostice DR zvyšuje koncentrace glykovaného hemoglobinu $HbA1_c$, dlouhodobého ukazatele kompenzace diabetu, o každých 10 $mmol \cdot mol^{-1}$ nad hranici 60 $mmol \cdot mol^{-1}$pravděpodobnost rozvinutí DME o 50 %. Z tohoto důvodu je udržování koncentrace glykovaného hemoglobinu $HbA1_c$, tedy správná kompenzace diabetika, vstupním kritériem i pro následnou úspěšnost léčby DME. Vzhledem ke skutečnosti, že *diabetes mellitus* často doprovází hypertenze a diabetická nefropatie, je pro úspěšnou léčbu DME důležitá i kompenzace těchto doprovodných faktorů. Léčba DME je založena na laserové koagulaci, nebo především na novodobé anti-VEGF terapii [3; 19].

2.3.1 Laserová fotokoagulace

Laserová koagulace byla považována za zlatý standard léčby DME, který byl postupně nahrazován novodobou anti-VEGF terapií [3]. V dnešní době je však stále využívána, a to zejména v rámci fáze včasné léčby diabetické retinopatie ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study). Při včasné aplikaci laserové fotokoagulace na mikroaneurysmata bylo dokázáno snížení rizika tvorby DME a ztráty zrakové ostrosti až o 50 % [8]. Účelem fokální laserové fotokoagulace je uzavření mikroaneurysmat či jejich odstranění, aby se snížila permeabilita cévy a případný únik krve do prostoru sítnice [23]. Fokální laserová fotokoagulace se používá i při léčbě pokročilého DME, kde je cílem potlačit vyplavování VEGF [3]. Základní princip spočívá v absorpci světelného záření o vysoké intenzitě a následné koagulaci buněk společně s okolní tkání v důsledku působení tepelné energie na pigmentové buňky. Vzhledem k tomu, že dochází k zjizvení okolní tkáně, tak dochází k difuzi kyslíku skrz tuto jizvu do sítnice a tím dochází ke snížení hypoxie dané oblasti [13; 19]. Primární účel laserové fotokoagulace je stabilizace DME, a proto je často kombinována s anti-VEGF léčbou [3].

2.3.2 Intravitreální anti-VEGF léčba

K léčbě DME je mimo laserové fotokoagulace využívána zejména aplikace farmak – kortikoidů a intravitreálních anti-VEGF injekcí. Kortikoidy jsou typickou volbou tlumící zánět, avšak u pacientů s DME jsou využívány pouze v omezené míře. Intravitreální injekce, tedy aplikace anti-VEGF farmaka do sklivcového prostoru, je nejpoužívanější forma léčby DME, která na rozdíl od laserové fotokoagulace nemá destruktivní účinek na retinální tkáň [3]. VEGF je hlavním promotorem neovaskularizace a abnormálního zvýšení permeability cév, čímž reaguje na patologické změny cévního zásobení sítnice způsobené chronickou hyperglykémií, a způsobuje komplikace edematizací na DME či neovaskularizací na proliferativní formu DR. Vzhledem k tomu, že má VEGF velký vliv na formaci DME, tak je cílem novodobé léčby intravitreální aplikace inhibitorů anti-VEGF, mezi které patří například pegaptanib, bevacizumab, ranibizumab a aflibercept [8; 24]. Účinkem anti-VEGF inhibitorů je zejména blokace neovaskularizace a snížení permeability poškozených cév i nových nedokonalých cév v důsledku jejich eliminace. Výsledkem je antiedematózní účinek, který vede k výraznému zvýšení zrakové ostrosti pacienta, ale také snížení centrální retinální tloušťky CRT, které lze monitorovat pomocí OCT [3; 12]. Anti-VEGF terapie dosahuje velmi dobrých dlouhodobých výsledků i při postupném prodlužování intervalu mezi aplikacemi. Přestože má anti-VEGF terapie velmi dobré dlouhodobé výsledky, tak existují neresponzivní skupiny pacientů s rezistentní či chronickou formou DME, u kterých poté dochází ke kombinaci léčby s laserem i kortikosteroidy [12]. V České republice je anti-VEGF terapie hrazena zdravotními pojišťovnami při splnění indikačních

kritérií (viz kapitola 4.1.2 Specifikace probandů) [3]. Nejpoužívanějšími preparáty jsou Lucentis (Novartis Pharma) využívající Ranibizumab a Eylea (Bayer) využívající Aflibercept [8; 24].

3 Cíle práce

Hlavním cílem této diplomové práce je měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem za účelem ověření následujících hypotéz:

I. „Po loadingové fázi léčby diabetického makulárního edému intravitreální terapií anti-VEGF dojde ke snížení centrální retinální tloušťky o 25 %."
II. „Rozdíly centrální retinální tloušťky měřené na dvou přístrojích nepřesáhnou za sledované období hladinu 5 %."

Z těchto hypotéz vyplývá, že práce je primárně rozdělena na dvě oblasti. V rámci první oblasti je řešena problematika měření CRT a hledání určité tendence v průběhu anti-VEGF léčby, zatímco cílem druhé části práce je komparace změny parametru CRT mezi dvěma OCT přístroji.

Na základě naměřených obrazových dat z OCT přístroje je možné kvantifikovat rozsah DME pomocí parametru CRT. Efekt anti-VEGF léčby DME lze posuzovat dle měření zrakové ostrosti, ale také dle změny parametru CRT, který by měl mít v průběhu léčby snižující se tendenci. Po loadingové fázi léčby se lékař rozhoduje, zdali vybraný preparát má pozitivní efekt, a tudíž jestli bude terapie pokračovat za použití stejného preparátu, či jiného. Jedním z cílů této diplomové práce je vyhodnocení obrazových dat z OCT přístroje v průběhu loadingové fáze terapie a sledování tendence parametru CRT – konkrétně zdali parametr klesne o 25 % a zdali pokles CRT koreluje se zlepšením zrakové ostrosti.

Jednotlivé modely OCT přístroje různých výrobců se liší nejen výbavou, ale také způsobem výpočtu parametru CRT vlivem odlišných segmentačních algoritmů. Z tohoto důvodu není možné přístroje objektivně komparovat při ojedinělých měřeních. Předpoklad je však takový, že rozdíl CRT před zahájením a po ukončení loadingové fáze anti-VEGF léčby by měl být stejný. Dalším cílem této diplomové práce bude rozdíl CRT komparovat mezi přístroji dvou výrobců – Zeiss a Heidelberg Engineering společně s vlastním algoritmem, navrženým ve vývojovém prostředí MATLAB.

Součástí práce je i návrh metodiky měření společně s potřebnou dokumentací pro průběh studie na Oční klinice 1. LF UK a ÚVN, a návrh vlastního algoritmu pro kvantitativní analýzu parametru CRT.

4 Metody

V rámci této kapitoly je detailně specifikován koncept studie, výčet použitých přístrojů a metod včetně kompletní metodologie diplomové práce.

4.1 Specifikace studie

Tato experimentální studie byla navržena jako prospektivní, intervenční, randomizovaná bez kontrolní skupiny. Studie probíhala ve spolupráci s Oční klinikou 1. LF UK a ÚVN v časovém intervalu září 2020 – duben 2021. Pacienti v rámci této studie uskutečnili po diagnostice diabetického makulárního edému celkem čtyři předem plánované návštěvy, při kterých jim byly aplikovány 3 nitrooční injekce. V rámci intravitreální terapie byl v deseti případech použit preparát Eylea a ve třinácti případech preparát Lucentis. Časový interval mezi návštěvami činil 30 dní. Při každé návštěvě pacient podstoupil OCT vyšetření (viz kapitola 4.3 Průběh měřicího procesu).

4.1.1 Dokumentace studie

Vzhledem k tomu, že se jednalo o studii zahrnující živé probandy, tak nedílnou součástí bylo vyjádření etické komise ÚVN a sestavení dokumentace potřebné k uskutečnění studie (Informovaný souhlas, Karta probanda, Protokol měření). Vyjádření Etické komise ÚVN společně se vzorem Informovaného souhlasu lze nalézt v Příloze B.

Karta probanda

Karta probanda je jediný dokument obsahující osobní údaje pacienta. Zde je pacientovi přiděleno identifikační číslo ID, pod kterým v průběhu studie vystupuje a jsou pod ním ukryty výsledky pacienta pro další zpracování. Pro okamžité rozlišení pohlaví byla přiřazena identifikační čísla mužů z intervalu (1;50), zatímco identifikační čísla žen náležela intervalu (101;150).

Mimo hlavičky obsahující osobní údaje pacienta karta probanda sloužila zejména pro zaznamenání údajů o zdravotním stavu (typ diabetu, kompenzace) a odpovědí na vstupní a vylučovací kritéria anti-VEGF léčby získané ze zdravotní dokumentace pacienta (viz kapitola 4.1.2 – část vstupní a vylučovací kritéria). Dále v tomto dokumentu byly zaznamenané údaje o terapii, tedy které oko podstoupí anti-VEGF terapii a který preparát bude použit. Kartu probanda lze nalézt v příloze C.

Protokol měření

Protokol měření je dokument pro zaznamenání postupu i samotných výsledků měření formou check-listu. Je rozdělený na pět částí, přičemž první část obsahuje údaje o personálním, přístrojovém a materiálním zajištění. Zbylé čtyři části jsou věnovány pro každou návštěvu pacienta a je v nich zaznamenáno správné dodržení postupu a konečný výsledek měření. Protokol probanda lze nalézt v příloze D.

4.1.2 Specifikace probandů

Do studie bylo zařazeno 16 pacientů, kterým byl na oční klinice 1. LF UK a ÚVN diagnostikován DME, avšak intravitreální terapie dosud nebyla zahájena, aby bylo možné pozorovat efekt léčby na sítnici pacienta v rámci loadingové fáze. Vzhledem k tomu, že někteří pacienti vstupovali do loadingové fáze anti-VEGF terapie s oběma očima, tak celkový počet očí zařazených do studie činí 23. Ve výběru jsou zahrnuti pacienti obou pohlaví s věkovým průměrem 72 (62; 84) let. Pro zahrnutí pacientů do studie bylo nutné, aby pacienti splnili vstupní kritéria intravitreální terapie a zároveň se vyvarovali vylučovacím kritériím. Tyto parametry byly vyhodnoceny a zaznamenány do karty probanda.

Vstupní kritéria intravitreální terapie injekcemi Eylea/Lucentis

- Pacient zahájí terapii do dvou let od diagnostiky DME
- Pacientovi byla při diagnostickém OCT vyšetření naměřena CRT>300 μm

Vylučovací kritéria intravitreální terapie injekcemi Eylea/Lucentis

- Pacient prodělal iktus
- Krevní tlak pacienta přesahuje 140/90 mmHg
- Pacient má hodnotu glykovaného hemoglobinu HbA1c větší než 60 $\text{mmol} \cdot \text{mol}^{-1}$
- Pacient má diabetickou nefropatii – hladina kreatininu je nad 180 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$
- Pacient má pokročilou proliferativní diabetickou retinopatii

4.2 Specifikace přístrojového a softwarového vybavení

Přístrojové vybavení Oční kliniky 1. LF UK a ÚVN použité pro měření v této diplomové práci zachycuje Tabulka 4.1.

Tabulka 4.1 Přístrojové vybavení použité pro měření CRT

Model	**Výrobce**	**Sériové číslo**	**Funkce**
HRA+OCT Spectralis	Heidelberg Engineering	02063-S3300	Primární měření
Cirrus HD-OCT 5000	Zeiss	5000-18906	Sekundární měření

Vzhledem k tomu, že každý z těchto přístrojů využívá jiné algoritmy pro ohraničení vrstev sítnice, tak byl komparován rozdíl centrální retinální tloušťky (CRT) před zahájením terapie a po ukončení loadingové fáze. Rozdíl CRT byl současně porovnán s výsledkem vlastního algoritmu vytvořeným v prostředí MATLAB, který byl nazván DME Analyzer (viz kapitola 4.6 Algoritmus DME Analyzer).

Jako primární diagnostický přístroj, tedy přístroj, kterým byl pacient vyšetřován před každou aplikací nitrooční injekce, byl vybrán HRA+OCT Spectralis (dále jen Spectralis) z důvodu běžného klinického využití před tímto zákrokem. Cirrus HD-OCT 5000 (dále jen Cirrus) není na klinice běžně využíván v režimu OCT a z toho důvodu byl zvolen jako sekundární diagnostický přístroj, u kterého je cílem ověřit, zdali je výsledný rozdíl CRT odlišný od Spectralisu. Na tomto přístroji pacient nebyl měřen při každé návštěvě, nýbrž pouze před první a po třetí aplikaci nitrooční injekce. Vzhledem k tomu, že je Spectralis běžně využíván v klinické praxi, tak je v této studii označen za zlatý standard, vůči kterému byly vztahovány výsledky při měření rozdílu CRT přístrojem Cirrus i vlastního algoritmu.

Výčet softwarového vybavení použitého pro zpracování naměřených dat i následnému statistickému vyhodnocení zachycuje Tabulka 4.2.

Tabulka 4.2 Použitý software pro zpracování naměřených dat i následnému statistickému zpracování

Software	Vývojář	Verze
Heidelberg Eye Explorer	Heidelberg Engineering	1.10.4.0
Cirrus HD OCT	Zeiss	11.0.0.29946
DME Analyzer	Autor	1.0
Matlab	MathWorks	2019b
Excel	Microsoft	365

4.2.1 Specifikace skenovacích vzorců OCT přístrojů

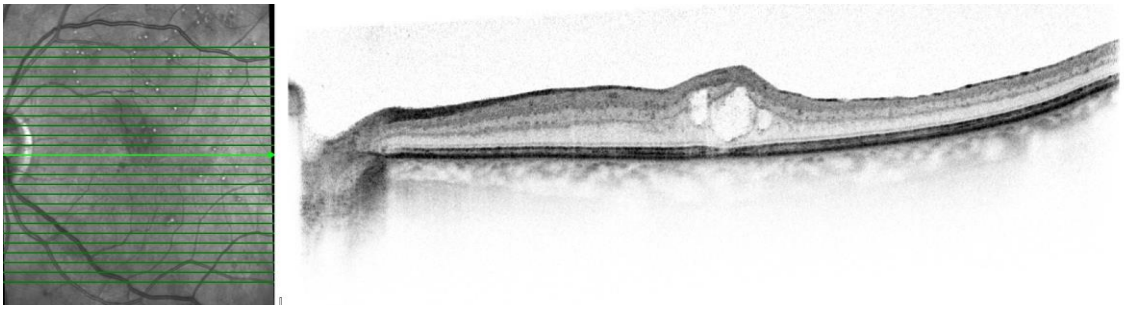
Před zahájením samotného měření na probandech bylo nutné vybrat skenovací vzorce a funkce, které budou pro získání dat použity. Tyto vzorce nejsou u obou přístrojů úplně totožné. V rámci této studie byly použity následující skenovací vzorce sítnice probanda.

Lineární sken

Lineární sken je jeden z režimů snímání přístroje Spectralis. Princip výsledného zobrazení je založen na průměru 100 pořízených projekcí (pod stejným úhlem) jednoho vybraného tomografického řezu (tomogramu) sítnice pacienta za účelem zvýšení kvality výsledného obrazu – zejména za účelem redukce šumu. V rámci této studie byly pořizovány lineární skeny vedené skrz makulární oblast (tzv. transfoveolární řez). V klinické praxi je lineární řez považován za dostatečně kvalitní v případě, že je zprůměrován z alespoň 50 projekcí, avšak pro účel této studie bylo při každém měření pořízeno všech 100 projekcí, aby bylo dosaženo maximální kvality vykreslení obrazu. Příklad lineárního skenu zachycuje Obrázek 2.2 C (viz Kapitola 2.2.2 Optická koherenční tomografie).

Rastrový sken

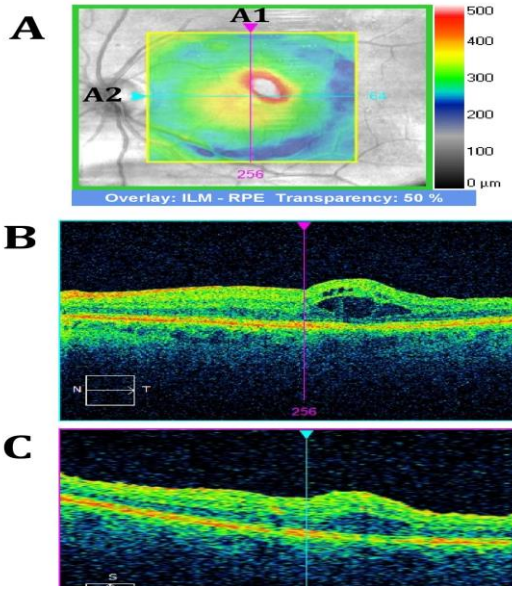
Rastr je jeden z režimů snímání přístroje Spectralis, jehož výsledkem je soubor tomografických řezů sítnice. Každý tomogram je standardně získán průměrem devíti projekcí (pod stejným úhlem). V momentě, kdy je zprůměrováno všech 9 projekcí jednoho tomografického řezu, tak se začne snímat další tomografický řez. Hustotu či délku tomogramů je možné nastavit, stejně jako počet průměrovaných projekcí pro každý řez. Zde platí pravidlo, že větší počet tomografických řezů umožňuje lékařům komplexnější pohled na sítnici pacienta a větší počet průměrovaných projekcí zvyšuje kvalitu detailů jednotlivých tomografických řezů. Rastrový sken umožňuje formovat mapu retinální tloušťky snímaného regionu sítnice, která je využitelná zejména pro kvantitativní analýzu sítnicových patologií. Pro účel této studie bylo použito standardní nastavení hustoty 25 tomografických řezů, přičemž každý tomografický řez byl získán průměrem devíti projekcí. Příklad rastrového skenovacího vzorce zachycuje Obrázek 4.1.



Obrázek 4.1 Rastrový sken sítnice pacienta s diabetickým makulárním edémem o hustotě 25 skenů. Obrázek: Autor, databáze Oční kliniky 1. LF UK a ÚVN

Macular Cube 512x128

Skenovací vzorec přístroje Cirrus, při kterém je pořízena série tomografických řezů, podobně jako u rastrového skenu přístroje Spectralis. Rozdíl je v tom, že skenovací vzorec Macular Cube 512x128 (dále jen Macular Cube) pořídí 128 horizontálních řezů a 512 vertikálních řezů. Následně je možné si zobrazit jakýkoliv horizontální či vertikální řez pro kvalitativní analýzu. Výstupem je podobně jako u rastrového skenu také mapa retinální tloušťky pro následnou kvantitativní analýzu. Na rozdíl od rastrového skenu zde není možné uživatelsky nastavit parametry skenovacího vzorce. Příklad skenovacího vzorce Macular Cube zachycuje Obrázek 4.2.



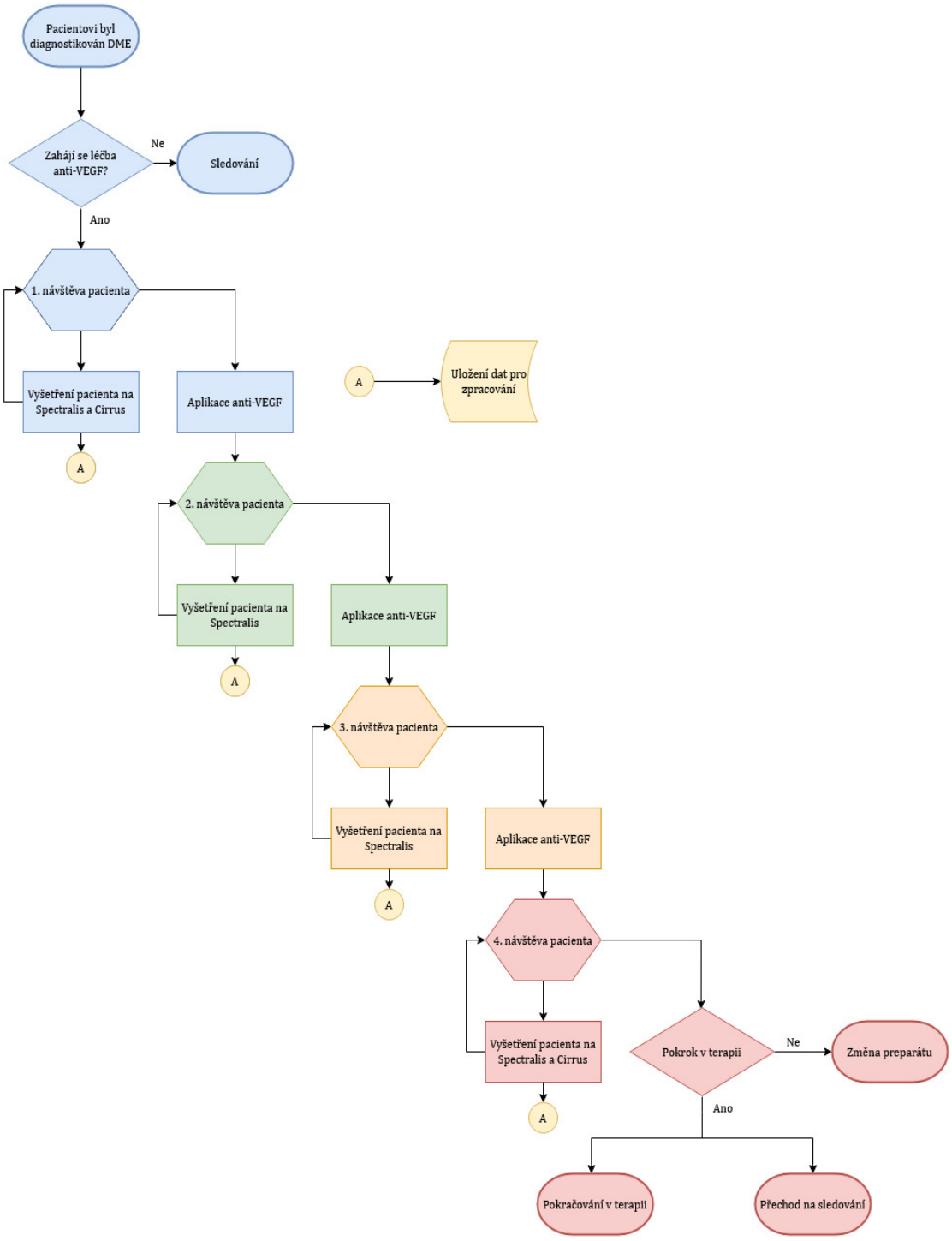
Obrázek 4.2 Příklad skenovacího vzorce Macular Cube. Topogram (A) s možností výběru vertikálního (A1) a horizontálního řezu (A2). Zobrazení vertikálního (B) a horizontálního řezu (C). Obrázek: Autor, databáze Oční kliniky 1. LF UK a ÚVN

Funkce Follow-Up

Vzhledem ke skutečnosti, že lze umístit jak samotný lineární řez, tak rastr či Macular Cube do jakéhokoliv segmentu sítnice, tak byla pro účel studie použita funkce Follow-up. Tato funkce v prostředí Heidelberg Eye Explorer umožňuje označit konkrétní lineární sken, či rastrový sken za referenční, což umožní aplikaci nastavených parametrů při dalším snímání. V prostředí Cirrus HD-OCT funkce Follow-up aplikuje zvolený skenovací vzorec ve stejném segmentu sítnice, jako byl použit při posledním měření. V praxi tedy tato funkce znamená to, že se provede lineární sken/rastrový sken/Macular Cube v totožném místě, jako u referenčního měření. Tato funkce umožňuje především objektivní komparaci dvou lineárních skenů/rastrů/Macular Cube, což je využíváno nejen v této studii, ale také v klinické praxi.

4.3 Průběh měřicího procesu

Schéma měřicího procesu v rámci této studie, a tedy i loadingové fáze terapie u pacientů s DME zachycuje Obrázek 4.3.



Obrázek 4.3 Schéma měřicího procesu v rámci loadingové fáze anti-VEGF léčby.
Obrázek: Autor

Pacient po diagnostice DME musel začít s intravitreální terapií nejpozději do dvou let. Před první aplikací však musel doručit výsledky od diabetologa, které byly srovnány s vylučovacími kritérii. Jednalo se zejména o hodnoty kreatininu, glykovaného hemoglobinu HbA1c a krevního tlaku. Pokud tyto výsledky byly v rozporu s vylučovacími kritérii, tak léčba nemohla být zahájena, a tudíž pacient ani nemohl být zařazen do této studie. Zároveň byla vstupním kritériem i hodnota CRT pacienta, která musela přesahovat 300 μm (viz kapitola 4.1.2 – část vstupní a vylučovací kritéria).

Pacient po diagnostice DME v rámci loadingové fáze navštívil kliniku celkem čtyřikrát, přičemž při prvních třech návštěvách mu byla aplikována nitrooční injekce anti-VEGF (Eylea/Lucentis) a na čtvrté návštěvě byl vyhodnocen efekt terapie, jenž mohl vyústit v tři různé závěry:

- Pokračování v terapii stejným preparátem
- Změna preparátu
- Přechod na pouhé sledování

Ať už byl závěr jakýkoliv, čtvrtou návštěvou pro pacienta účast v této studii končila. Mezi jednotlivými návštěvami byl interval 30 dní. Při každé návštěvě pacient podstoupil diagnostické OCT vyšetření, konkrétně na přístroji Spectralis. Při první návštěvě, tedy před první aplikací, a při čtvrté návštěvě, tedy po loadingové fázi, pacient podstoupil také vyšetření na přístroji Cirrus, aby bylo možné vyhodnotit změnu CRT (viz kapitola 4.2 Specifikace přístrojového a softwarového vybavení). Plánované kroky v rámci studie byly v závislosti na konkrétní návštěvě následující:

1. Návštěva

- Pacient byl vyšetřen na přístroji Spectralis
- Pacient byl vyšetřen na přístroji Cirrus
- Pacientovi byla aplikována nitrooční injekce
- Data ze Spectralis a Cirrus byla vyhodnocena pomocí softwaru výrobce
- Obrazová data z přístroje Spectralis (transfoveolární řez) byl uložen ve formátu *DME_UVN_ID_číslo návštěvy_ léčené oko.jpg* pro následující zpracování vlastním algoritmem

2. a 3. Návštěva

- Pacient byl vyšetřen na přístroji Spectralis
- Pacientovi byla aplikována nitrooční injekce
- Data ze Spectralis byla vyhodnocena pomocí softwaru výrobce

4. Návštěva

- Pacient byl vyšetřen na přístroji Spectralis
- Pacient byl vyšetřen na přístroji Cirrus
- Data ze Spectralis a Cirrus byla vyhodnocena pomocí softwaru výrobce
- Obrazová data z přístroje Spectralis (transfoveolární řez) byl uložen ve formátu *DME_UVN_ID_číslo návštěvy_ léčené oko.jpg* pro následující zpracování vlastním algoritmem

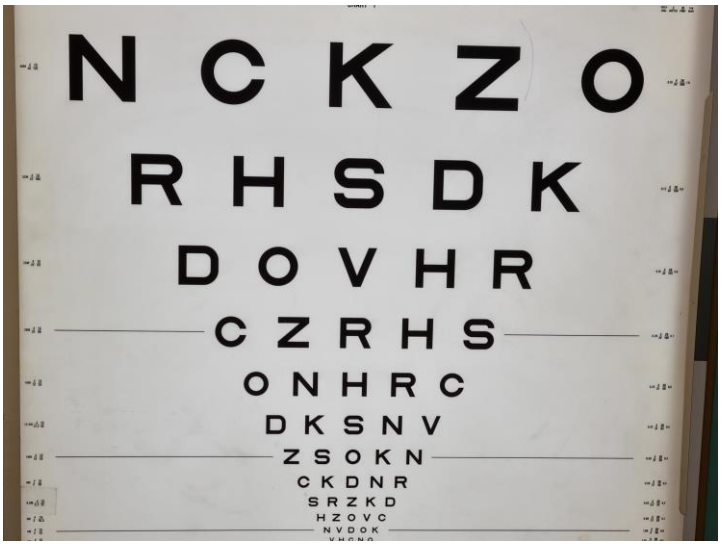
4.4 Průběh měření

Pacient po příchodu na kliniku podstoupil vyšetření u zdravotní sestry, při kterém mu byla změřena zraková ostrost (vizus), oční tlak a do léčeného oka mu byl aplikován roztok na rozšíření zorniček. Výsledky tohoto vstupního vyšetření byly zaznamenány do karty pacienta. Rozkapání očí není nezbytně nutné pro diagnostické OCT vyšetření, ale v některých případech může být nápomocné. Po tomto vyšetření následovalo diagnostické OCT vyšetření na přístroji Spectralis, popřípadě na přístroji Cirrus při první a čtvrté návštěvě.

4.4.1 Měření zrakové ostrosti dle ETDRS

Jedním ze signifikantních ukazatelů efektu anti-VEGF léčby je měření centrální zrakové ostrosti, dané rozlišovací schopností oka v místě nejostřejšího vidění (*fovea centralis* v makulární oblasti). Zraková ostrost se měří pomocí standardizovaných tabulek (tzv. ortotypů), které mohou být konstrukčně řešeny tištěnou, světelnou či digitální formou. Při této vyšetřovací metodě pacient z určité vzdálenosti čte znaky z ortotypu s jedním zakrytým okem, tudíž se jedná o metodu subjektivní. V současné době existuje více zápisů zrakové ostrosti, jako například Snellův zlomek či logMAR ETDRS, pro jejichž následnou transformaci existují převodní tabulky [3; 25].

Pro měření zrakové ostrosti dle ETDRS na oční klinice 1. LF UK a ÚVN je použit světelný ETDRS ortotyp, který je složen ze čtrnácti řádků po pěti písmenech. Použitý ETDRS ortotyp zachycuje Obrázek 4.4.



Obrázek 4.4 ETDRS světelný ortotyp používaný na Oční klinice 1.LF UK a ÚVN pro vyšetření pacientů podstupující anti-VEGF terapii. Obrázek: Autor

Pacientovi bylo při každé návštěvě provedeno vyšetření zrakové ostrosti dle ETDRS obou očí. Pacient četl nejprve ze vzdálenosti čtyř metrů, přičemž vyšetřující sestra počítala správně přečtená písmena. Následně mohly nastat dva stavy:

a) Pacient nepřečetl ze vzdálenosti čtyř metrů alespoň 20 písmen. V tomto případě bylo vyšetření opakováno ze vzdálenosti jednoho metru
b) Pacient přečetl ze vzdálenosti čtyř metrů více než 20 písmen. V tomto případě je pacientovi k celkovému součtu připočteno automaticky 30 písmen

Výstup tohoto vyšetření měl tvar zlomku, přičemž v čitateli se nachází počet písmen přečtených pravým okem a ve jmenovateli počet písmen přečtených okem levým. Tento zlomek byl následně zapsán do karty pacienta. Pro účely této diplomové práce byl tento zlomek zapsán také do protokolu měření každého pacienta, ze kterého byly pro následné zpracování použity pouze hodnoty očí podstupující anti-VEGF terapii. Při statistickém vyhodnocování byl použit již výsledný součet proměnné *vizus* pro konkrétní oko. Příklad zápisu zrakové ostrosti dle ETDRS do protokolu měření zachycuje vztah 4.1.

$$vizus = \frac{5+15}{36+30} \tag{4.1}$$

Na příkladu lze pozorovat, že konkrétní pacient přečetl pravým okem 5 písmen ze vzdálenosti čtyř metrů, a proto následně četl ze vzdálenosti jednoho metru, kde přečetl 15 písmen. Naopak levým okem přečetl ze vzdálenosti čtyř metrů 36 písmen, a tudíž následně bylo připočteno dalších 30 písmen automaticky. Výsledný součet proměnné *vizus* pro levé oko by tedy v tomto případě činil *vizus = 66*.

4.4.2 Příprava měření

V rámci přípravy měření byla pacientovi upravena výška hydraulického stolku s přístrojem tak, aby si pacient mohl opřít bradu i čelo do opěrky. Jedná se o důležitý krok, jelikož při nesprávném nastavení pacient zaujme špatnou polohu a výsledné snímky mají nevyhovující kvalitu, nebo je v horším případě ani nelze nasnímat. Kromě nastavení výšky stolku je nutné nastavit výšku opěrky brady tak, aby koutek oka pacienta byl v rovině s ryskou přístroje.

4.4.3 Diagnostické OCT vyšetření

OCT vyšetření na přístroji Spectralis

Na přístroji Spectralis byl pacient vyšetřen při každé návštěvě. Při tomto vyšetření byl proveden lineární sken makuly a rastr sítnice obou očí. V rámci první návštěvy byly nastaveny výše zmíněné parametry obou režimů snímání, které následně byly označeny jako referenční pro použití funkce Follow-up při dalších návštěvách.

OCT vyšetření na přístroji Cirrus

Na přístroji Cirrus byl pacient vyšetřen pouze při první a při čtvrté návštěvě. V rámci vyšetření byl použit skenovací vzorec Macular Cube.

4.4.4 Zpracování naměřených dat

V rámci studie byly zpracovávány snímky pouze léčeného oka, zatímco snímky druhého oka sloužily výhradně pro potřeby lékařů – zejména pro účel preventivní diagnostiky. Při každé návštěvě pacienta byl zpracován záznam nemocného oka z přístroje Spectralis pomocí ovládacího softwaru výrobce a byla zaznamenána hodnota CRT do protokolu měření (viz Kapitola 4.5.4 Kvantitativní analýza naměřených dat). Při první a čtvrté návštěvě byly snímky léčeného oka z přístroje Cirrus vyhodnoceny ovládacím softwarem výrobce a hodnoty CRT byly opět zaznamenány do protokolu měření (viz Kapitola 4.5.4 Kvantitativní analýza naměřených dat). Při těchto dvou návštěvách byly také exportovány lineární skeny makulou léčeného oka na pevný disk ve formátu *DME_UVN_ID_číslo návštěvy_ léčené oko.jpg* pro následující zpracování pomocí vlastního algoritmu v prostředí MATLAB (DME Analyzer).

4.4.5 Vyšetření u lékaře a aplikace nitrooční injekce anti-VEGF

Po diagnostickém OCT vyšetření pacient absolvoval vyšetření u očního lékaře a návštěva končila aplikací nitrooční injekce anti-VEGF do léčeného oka.

4.5 Princip OCT přístroje a kvantitativní analýza naměřených dat

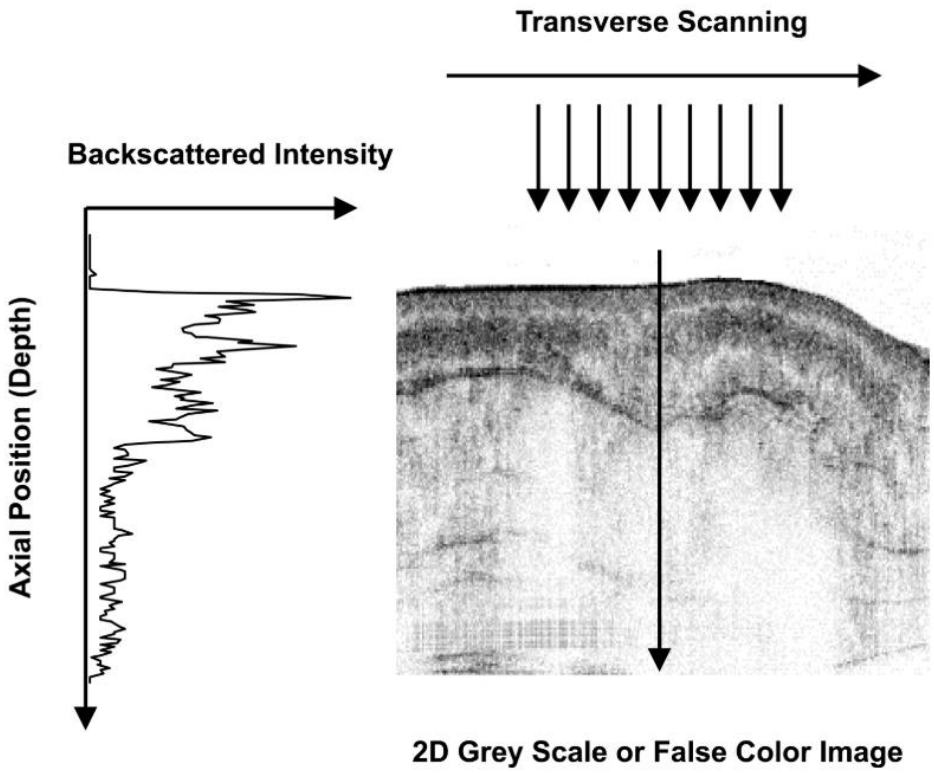
4.5.1 Princip OCT přístroje

Tomografické zobrazení

Základním principem optické koherenční tomografie je měření intenzity zpětně odraženého či zpětně rozptýleného paprsku blízkého IR záření, tudíž zde lze pozorovat principiální analogii k B-módu ultrazvuku. Z důvodu vysoké rychlosti šíření světla však není možné měřit intenzitu zpětně odraženého paprsku elektronicky, nýbrž pomocí technologie nízko koherenční interferometrie (například Michelsonův interferometr). Tato technologie využívá dvou oddělených paprsků pomocí děliče svazku (například polopropustná destička) – referenčního, který je odražen od referenčního zrcadla, a měřícího, který se odráží od zkoumané tkáně. Následně se oba paprsky vrací zpět k děliči svazku a jsou směřovány na detektor. Tyto paprsky spolu navzájem interferují, přičemž míra interference je ovlivněna dráhovým rozdílem paprsků, který lze použít také k následnému určení zpoždění mezi paprsky. Vzhledem ke skutečnosti, že tato zobrazovací modalita používá nízko koherenční zdroj záření, tak je interference podmíněna shodou dráhového rozdílu paprsků a koherenční délky, která se odvíjí od převrácené hodnoty šířky spektra. Pro zobrazení tomografického řezu je nutné získat sérii jednorozměrných axiálních profilů (A-skenů) měřením vzájemného časového zpoždění paprsků a intenzity zpětně odraženého měřícího paprsku v různých hloubkách tkáně. Skenováním axiálních profilů v transverzálním směru lze následně sestavit dvourozměrný obraz (B-sken) odpovídající tomografickému řezu. V současnosti existují dvě metody získání axiálních profilů – OCT v časové doméně TD-OCT (Time domain OCT) a OCT ve spektrální doméně SD-OCT (Spectral domain OCT) [17; 18; 26; 27; 28].

Dříve používané TD-OCT používalo k získání odražených paprsků z různých hloubek tkáně mechanický posun referenčního zrcadla, což výrazně zvyšovalo časovou náročnost skenování (přibližně 400-500 A skenů za vteřinu) [26; 28].

SD-OCT využívá širokospektrý zdroj záření (super luminiscentní dioda) a je založeno na simultánní detekci odrazů ze všech hloubek tkáně ve formě interferenčního spektra spektrometrem a následném zpracování Fourierovou transformací ve spektrální doméně. Výhodou SD-OCT je mnohonásobně vyšší rychlost skenování (20 000-100 000 A skenů za vteřinu) v důsledku využití spektrometru místo stacionárního referenčního zrcadla [26; 28]. Obrázek 4.5 zachycuje principiální schéma rekonstrukce dvourozměrného obrazu z jednotlivých axiálních profilů.



Obrázek 4.5 Principiální schéma rekonstrukce dvourozměrného obrazu (B-skenu) z jednorozměrných axiálních profilů (A-skenů). Převzato a upraveno z [18]

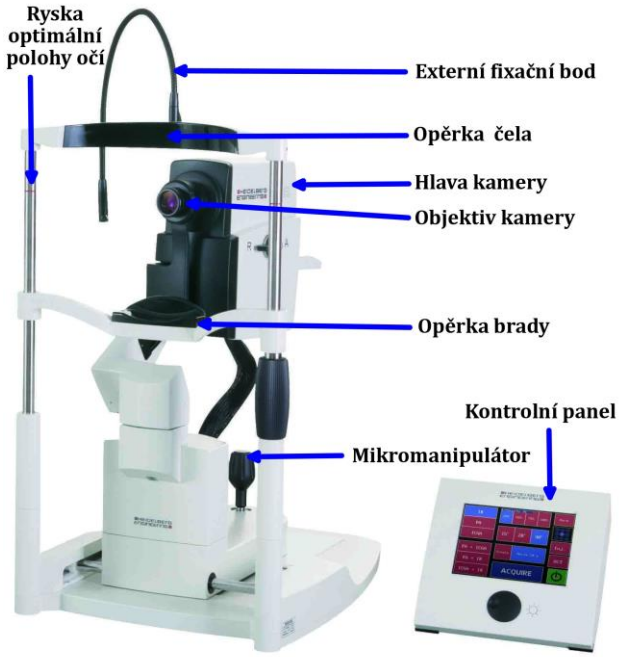
Zobrazení očního pozadí

Součástí výsledného OCT snímku je kromě tomogramu také topogram, který je získán metodou konfokálního laserového skenování. Principem této technologie je periodické vychylování laserového paprsku oscilujícími zrcadly, čímž dochází ke skenování dvourozměrného úseku sítnice. Obraz vzniká detekcí intenzity odraženého světla v každém bodě na fotodetektoru. Při OCT vyšetření tedy dochází k simultánnímu skenování dvěma různými laserovými zdroji za účelem zobrazení topogramu i tomogramu současně [29].

4.5.2 Popis použitých OCT přístrojů

Spectralis HRA+OCT

OCT přístroj společnosti Heidelberg Engineering použitý v této diplomové zachycuje Obrázek 4.6.



Obrázek 4.6 Popis OCT přístroje Spectralis HRA+OCT společnosti Heidelberg Engineering. Převzato a upraveno z [30]

Základem tohoto přístroje je pohyblivá kamera, jejíž rozsah v horizontálním směru umožňuje přístup k oběma očím bez změny polohy pacienta. Poloha pacienta je fixována pomocí opěrky brady a čela, přičemž optimální polohy je dosaženo v momentě, kdy ryska přístroje je v rovině s koutkem oka pacienta (viz kapitola 4.4.2 Příprava měření). Aby pacient mohl pohodlně umístit hlavu mezi opěrky, nachází se kamera OCT přístroje na stole s variabilně nastavitelnou výškou pomocí elektricky řízených ovládacích prvků na stole operátora. Tahem mikromanipulátoru lze s kamerou pohybovat v horizontálním směru a upravovat vzdálenost kamery od oka pacienta. Pohyb ve vertikálním směru umožňuje otočný prvek v horní části mikromanipulátoru. Pro zaostření obrazu slouží otočný prvek na těle kamery (na tomto obrázku není viditelný). Fixaci pohledu pacienta zajišťuje modrý fixační bod uvnitř objektivu kamery. Pozici fixačního bodu lze měnit pomocí dotykového kontrolního panelu, jež slouží mimo jiné zejména k zapnutí laserového zdroje OCT přístroje, k pořízení snímku či k nastavení sensitivity zdroje. V případě, že pacient fixační bod uvnitř objektivu kamery nevidí, tak lze použít externí fixační bod k využití souhry očních pohybů. OCT přístroj je připojen k řídícímu počítači s nainstalovaným řídícím softwarem Heidelberg Eye Explorer, který umožňuje,

mimo ovládání OCT přístroje při vyšetření, také přístup do databáze pacientů, a kvalitativní či kvantitativní analýzu naměřených obrazových dat.

Spectralis HRA+OCT pracuje jako SD-OCT a mimo režimu OCT umožňuje také samostatné zobrazení očního fundu (konfokální laserové skenování), fluorescenční angiografii či fundus autofluorescenci pomocí modrého světla. Základem kamery je super luminiscenční dioda o průměrné vlnové délce 870 nm pro režim OCT, laser dioda o vlnové délce 820 nm pro konfokální laserové skenování a laserová dioda o vlnové délce 488 nm pro autofluorescenci pomocí modrého světla. Přístroj v OCT režimu nabízí 3,9 μm axiální a 5,7 μm transverzální rozlišení dosahující hloubky ve tkáni až 1,9 mm [29; 30].

Cirrus HD-OCT 5000

OCT přístroj společnosti Zeiss použitý v této diplomové práci zachycuje Obrázek 4.7.

Obrázek 4.7 Popis OCT přístroje Cirrus HD-OCT 5000 společnosti Zeiss. Převzato a upraveno z [31]

Dominantním prvkem tohoto přístroje je implementovaný řídící počítač do těla OCT přístroje. Poloha pacienta je fixována pomocí opěrky brady a čela, přičemž obě tyto opěrky jsou rozděleny na dvě části pro vyšetření pravého a levého oka.

Pacient tedy při vyšetření druhého oka musí změnit polohu. Obě opěrky jsou plně mechanizovány a elektricky řízeny pomocí ovládacího softwaru Cirrus HD-OCT. Opěrka brady umožňuje pohyb ve vertikálním a horizontálním směru, zatímco opěrka čela slouží zejména k upravení vzdálenosti oka pacienta od objektivu kamery. Zaostření obrazu lze měnit pomocí ovládacích prvků v řídícím softwaru stejně jako pohyb opěrek. U tohoto OCT přístroje se laserový zdroj zapíná automaticky v momentě, kdy operátor vybere pacienta z databáze a spustí měření. Uvnitř objektivu kamery se pacientovi zobrazuje zelený fixační bod, jehož polohu

lze měnit v řídícím softwaru. Mimo již zmíněných řídících vlastností softwaru Cirrus HD-OCT zde lze procházet databázi pacientů a provést kvalitativní či kvantitativní analýzu naměřených obrazových dat.

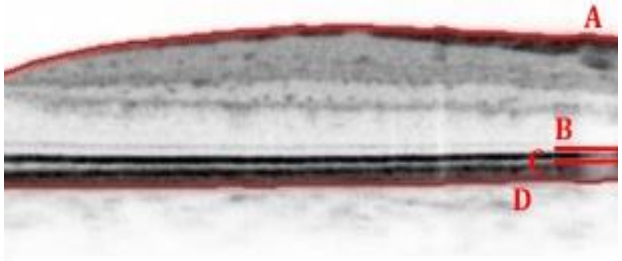
Cirrus HD-OCT pracuje jako SD-OCT a mimo režimu OCT nabízí například také možnost OCTA. Základem kamery je super luminiscenční dioda o vlnové délce 840 nm pro OCT režim a super luminiscenční dioda o vlnové délce 750 nm pro konfokální laserové skenování (zobrazení očního fundu). Přístroj v režimu OCT nabízí 5 μm axiální a 15 μm transverzální rozlišení dosahující hloubky ve tkáni až 2 mm [31; 32].

4.5.3 Anatomický popis OCT skenu

Interpretace OCT snímku je založena na rozlišení jednotlivých retinálních vrstev z důvodu odlišné reflektivity. Pro následnou kvantitativní analýzu je bezpodmínečně důležitá automatická detekce těchto vrstev pomocí segmentačních algoritmů, jejichž výsledkem je naměřená retinální tloušťka. Algoritmy jednotlivých výrobců OCT přístrojů se však liší dvojicí vrstev, mezi kterými je retinální tloušťka měřena. Nejčastěji využívanými vrstvami k měření retinální tloušťky jsou:

- vnitřní limitující membrána ILM (Inner limiting membrane)
- zevní limitující membrána ELM (External limiting membrane)
- zóna elipsoidů vnitřních segmentů fotoreceptoců ISe
- retinální pigmentový epitel RPE (Retinal pigment epithelium)
- Bruchova membrána BM (Bruch's membrane)

Za normálních okolností je rozhraní mezi vrstvou RPE a Bruchovou membránou téměř nerozeznatelné. Avšak při spoustě patologických stavů je Bruchova membrána pozorovatelná, jelikož vrstva RPE je defektní [26; 27]. Obrázek 4.8 zachycuje výše vyjmenované retinální vrstvy na fyziologickém OCT snímku.

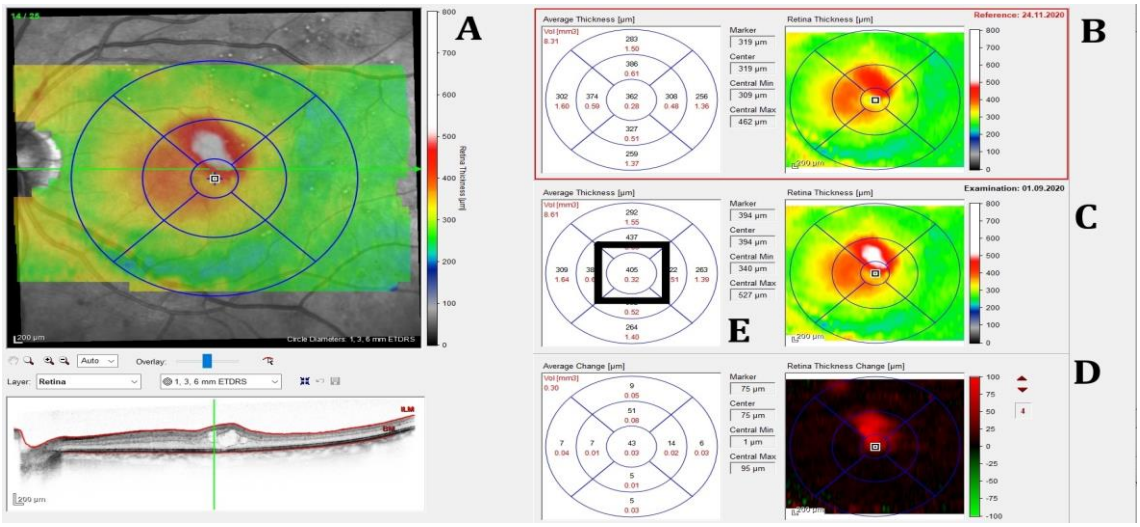


Obrázek 4.8 Fyziologický OCT snímek s vyznačenými vrstvami používanými pro kvantitativní analýzu. A - ILM, B - ELM, C - ISe, D - RPE/Bruchova membrána. Obrázek: Autor, databáze Oční kliniky 1. LF UK a ÚVN

Tato diplomová práce se zaměřuje na segmentaci přístrojů Spectralis a Cirrus. Zatímco Spectralis retinální tloušťku měří mezi vrstvami ILM a BM, tak Cirrus využívá detekci vrstev ILM a RPE.

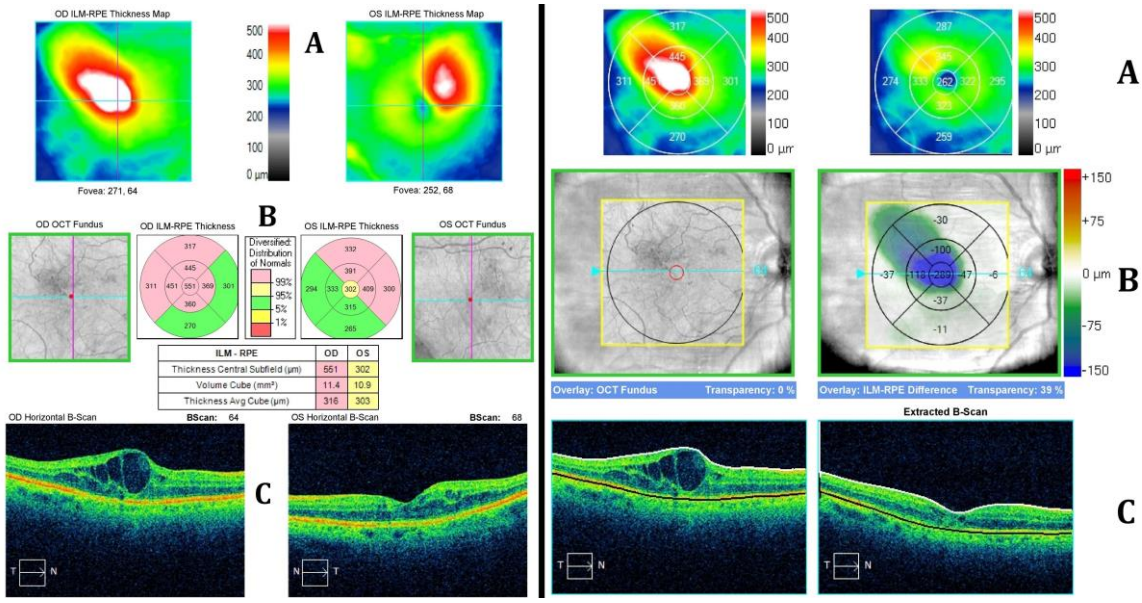
4.5.4 Kvantitativní analýza naměřených dat

Obrovskou výhodou optické koherenční tomografie je možnost hodnotit naměřená data jak kvalitativně, tak kvantitativně, využitím vhodných skenovacích vzorců. Pro kvalitativní analýzu patologických změn sítnice pacienta je vhodnější lineární sken, který nabízí vyšší kvalitu detailů jednoho konkrétního tomogramu. Z hlediska kvantitativní analýzy lze hodnotit zejména retinální tloušťku či objem. Pro kvantitativní analýzu je velmi vhodný rastrový sken (popřípadě skenovací vzorec Macular Cube přístroje Cirrus), který umožňuje konstrukci mapy retinální tloušťky snímaného regionu. Mapa je realizována jak grafickou podobou, kde je retinální tloušťka znázorněna ve formě teplotní mapy aplikované na topogram OCT snímku, tak numerickou podobou do kruhových segmentů dle ETDRS segmentace. Použití funkce Follow–up na rastrový sken nabízí možnost objektivní komparace aktuálně analyzovaného měření se zvoleným referenčním měřením výše zmíněnými formami výstupu. Mimo konstrukce mapy retinální tloušťky je u rastrového skenu možné kvalitativně i kvantitativně analyzovat jednotlivé tomografické řezy. Pro kvantitativní analýzu snímků pacientů s DME je důležitá zejména hodnota retinální tloušťky v makulární krajině – tzv. centrální retinální tloušťka CRT, která je kvantifikována v numerickém schématu v centrálním kruhu [26]. Obrázek 4.9 zachycuje výstupní mapu retinální tloušťky zkonstruovanou z rastrového skenu ovládacím softwarem Heidelberg Eye Explorer (Spectralis).



Obrázek 4.9 Výstupní mapa retinální tloušťky z rastrového skenu levého oka pacienta s DME konstruovanou ovládacím softwarem přístroje Spectralis. Na levé straně lze pozorovat teplotní mapu retinální tloušťky analyzovaného měření aplikovanou na topogram OCT snímku (A). Na pravé straně lze pozorovat zvolené referenční měření pro funkci Follow-up (B) a aktuálně analyzované měření (C) v grafické i numerické formě, ale také rozdíl těchto dvou měření opět v grafické i numerické formě (D). Numerickou hodnotu parametru CRT lze pozorovat v centrálním kruhu numerické mapy (E). Obrázek: Autor, databáze Oční kliniky 1. LF UK a ÚVN

Pro porovnání Obrázek 4.10 zachycuje výstupní mapu retinální tloušťky zkonstruovanou ze skenovacího vzorce Macular Cube 512x128 ovládacím softwarem Cirrus HD-OCT společně s komparací dvou měření.

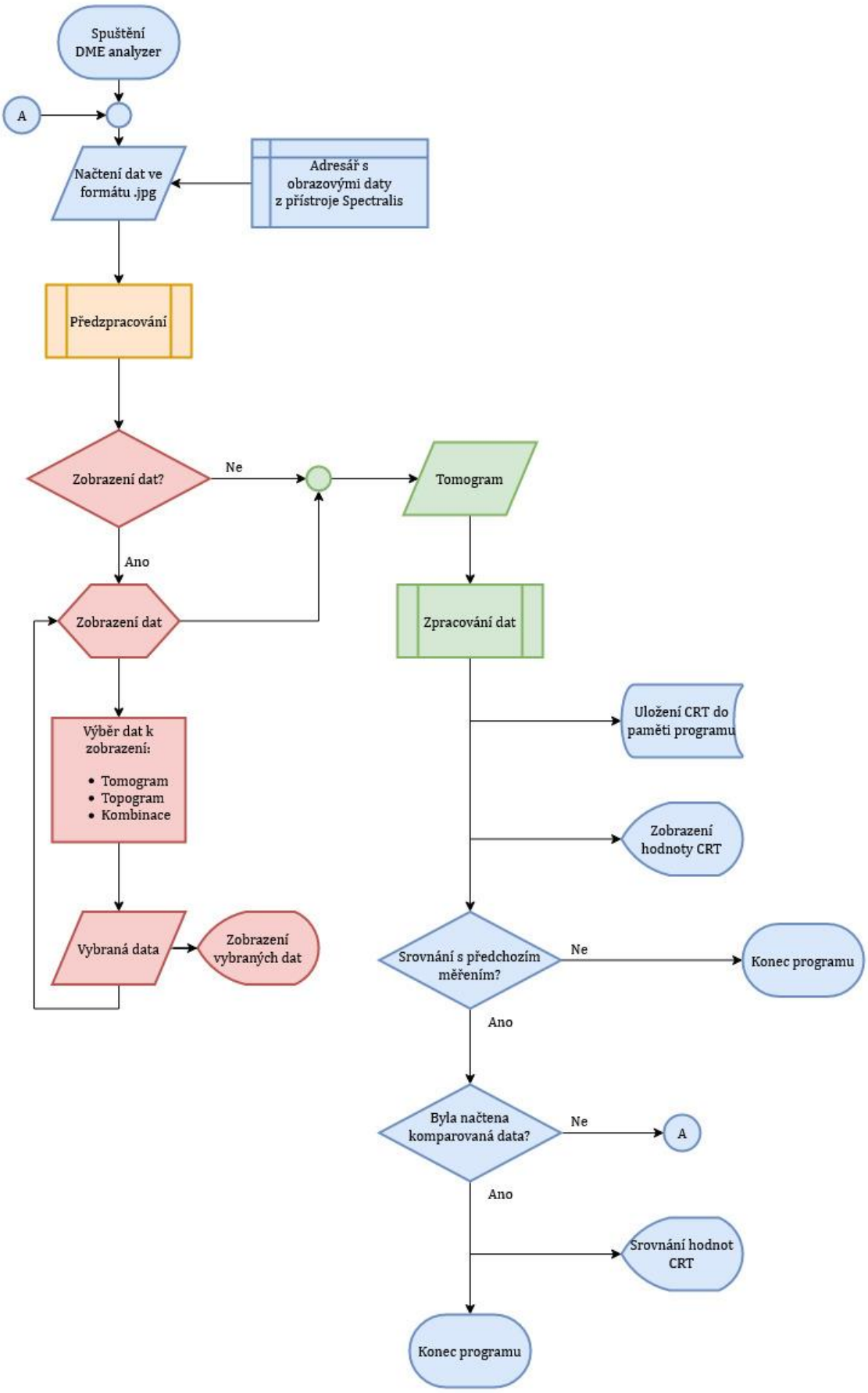


Obrázek 4.10 Výstupní mapa retinální tloušťky ze skenovacího vzorce Macular Cube 512x128 vyhodnoceném softwarem Cirrus HD-OCT společně s komparací dvou měření pacienta s DME. V levé části se nachází mapa retinální tloušťky obou měřených očí. V pravé části obrázku se nachází komparace dvou měření pravého oka. Oba obrázky obsahují výstup ve formě teplotní mapy (A), numerické mapy (B) a horizontálního tomogramu vedeného přes makulu. Obrázek: Autor, databáze Oční kliniky 1. LF UK a ÚVN

4.6 Algoritmus DME Analyzer

Algoritmus DME Analyzer byl navržen v prostředí MATLAB a jeho hlavním účelem je analýza OCT dat z přístroje Spectralis u pacientů s diabetickým makulárním edémem. Algoritmus byl navržen v rámci plnění cíle diplomové práce zaměřeným na komparaci změny parametru CRT v průběhu loadingové fáze anti-VEGF léčby (viz kapitola 3 Cíle práce). Z původního MATLAB skriptu *DMEAnalyzer.m* byla vykonstruována samostatně spustitelná aplikace s grafickým uživatelským rozhraním, aby bylo možné algoritmus použít na počítačích bez nainstalovaného programu MATLAB – například v rámci nemocnice. Z tohoto důvodu se původní MATLAB skripty nepatrně liší od grafického uživatelského rozhraní ve formě uživatelských interakcí – například dialogová okna jsou nahrazena tlačítky apod. Avšak z funkčního hlediska zde žádné rozdílnosti nejsou.

Výsledky poskytnuté tímto algoritmem byly komparovány s výsledky získanými z analýzy OCT dat ovládacím softwarem výrobců (viz Tabulka 4.2 Použitý software pro zpracování naměřených dat i následnému statistickému zpracování). Algoritmus se skládá ze základní báze, která obsahuje dva subprogramy – Předzpracování a Zpracování dat. Vývojový diagram báze algoritmu DME Analyzer zachycuje Obrázek 4.11. Instalační soubor včetně původních MATLAB skriptů lze nalézt v souboru příloh k této diplomové práci.



Obrázek 4.11 Vývojový diagram báze algoritmu DME Analyzer. Obrázek: Autor

4.6.1 Báze algoritmu

Po spuštění programu DME Analyzer vybízí algoritmus uživatele k importu obrazových dat ve formátu *.jpg* z adresáře exportovaných dat přístroje Spectralis formou dialogového okna. Po načtení obrazových dat algoritmus přechází do subprogramu Předzpracování (viz kapitola 4.6.2 Subprogramy Předzpracování a Zpracování dat) jehož výstupem jsou předzpracovaná data vracející se zpět do báze algoritmu. Uživateli je formou dialogového okna nabídnuta možnost zobrazení dat. V případě, že si uživatel přeje zobrazit data, tak se mu zobrazí nabídka obsahující následující možnosti: tomogram, topogram a kombinace obou modalit. Po zobrazení vybraných obrazových dat pracuje algoritmus pouze se samotným tomogramem sítnice, který vstupuje do subprogramu Zpracování dat (viz kapitola 4.6.2 Subprogramy Předzpracování a Zpracování dat). Výstupem tohoto subprogramu je výsledná hodnota parametru CRT, která je nejen zobrazena na displeji, ale také uložena v paměti programu pro případnou komparaci, která je uživateli nabídnuta vzápětí. V případě, že si uživatel přeje komparovat hodnotu CRT s jiným měřením (například se vstupním měřením loadingové fáze), tak si algoritmus vyžádá import komparovaných dat. V opačném případě se program ukončí. Bázi algoritmu tvoří původní MATLAB skript *DMEAnalyzer.m*, jež byl následně aplikován do grafického uživatelského prostředí (vit kapitola 4.6.3 Grafické uživatelské rozhraní).

4.6.2 Subprogramy Předzpracování a Zpracování dat

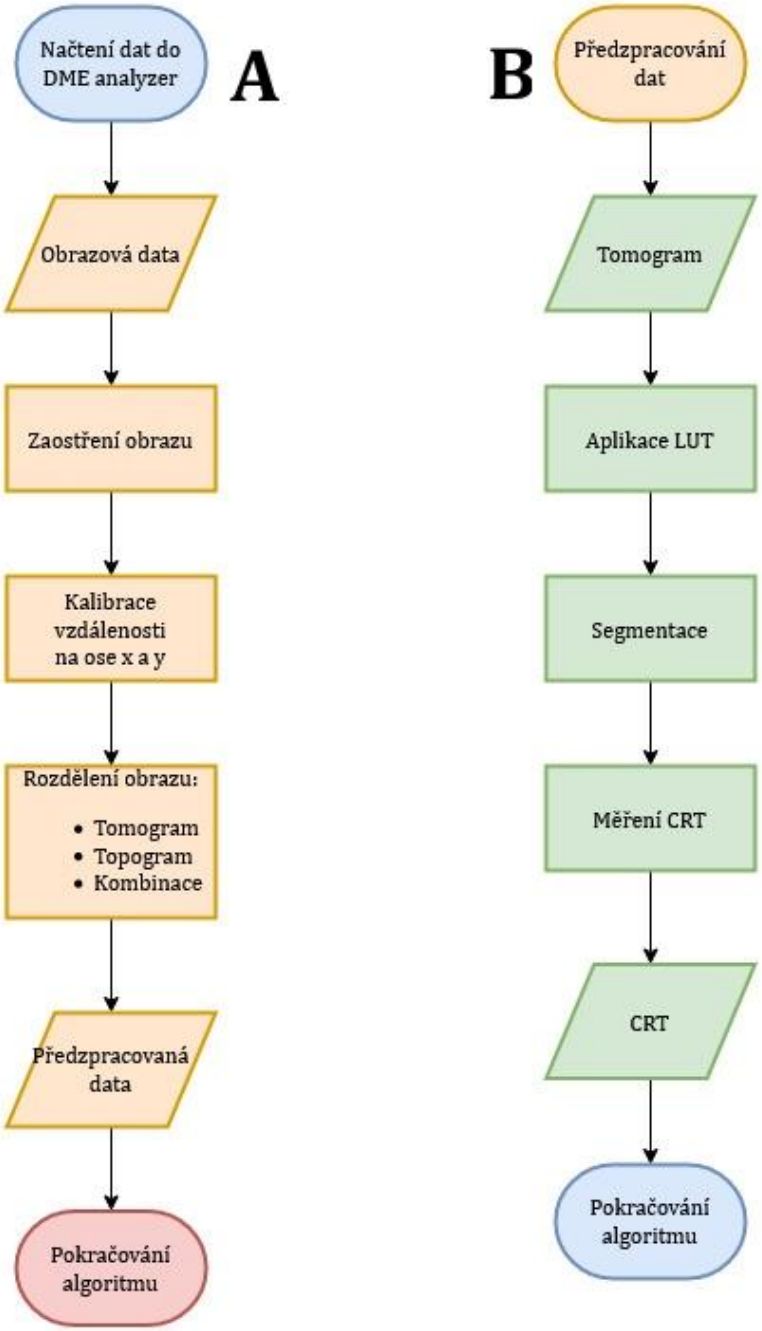
Součástí báze algoritmu jsou dva subprogramy, které jsou v prostředí MATLAB realizovány formou funkce, charakterizované vstupními a výstupními proměnnými, které jsou volané skriptem *DMEAnalyzer.m*. Toto řešení bylo zvoleno především za účelem větší přehlednosti kódu. Obě funkce obsahují standardní nápovědu k použití, jako všechny ostatní funkce MATLAB.

Předzpracování

Subprogram Předzpracování je v rámci kmenového skriptu realizován funkcí *ImagePreprocessing.m*, jejíž vstupem jsou načtená obrazová OCT data. Načtená obrazová data jsou nejprve doostřena aplikací konvoluční masky. Vstupní data se skládají z kombinace tomogramu a topogramu doplněné o měřítko, které podává informaci o počtu pixelů, který ve skutečnosti odpovídá vzdálenosti 200 μm. Subprogram Předzpracování proto provede kalibraci vzdálenosti jejíž výsledek jsou kalibrační konstanty ve směru osy x a y jak pro tomogram, tak pro topogram. Mimo těchto dvou konstant je vypočítána také kalibrační konstanta pro převod vzdálenosti mezi topogramem a tomogramem. Nakonec dochází k rozdělení vstupního obrazu na tomogram, topogram a kombinaci těchto modalit pro budoucí potenciální zobrazení v bázi algoritmu.

Výstupem tohoto subprogramu jsou předzpracovaná data – konkrétně rozdělená obrazová data (tomogram, topogram, kombinace) a kalibrační konstanty pro osu x a y.

Vývojový diagram subprogramu Předzpracování zachycuje Obrázek 4.12 A. MATLAB funkce *ImagePreprocessing.m* je součástí souboru s přílohami.



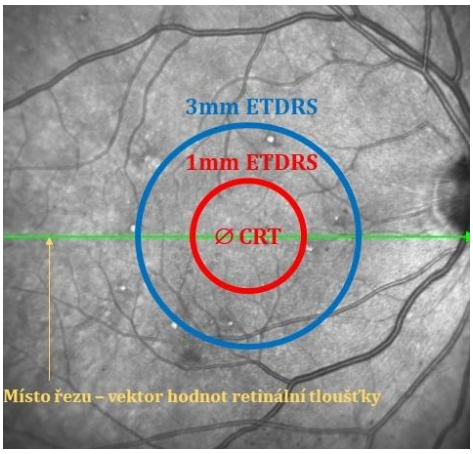
Obrázek 4.12 Vývojový diagram subprogramů Předzpracování (A) a Zpracování dat (B). Obrázek: Autor

Zpracování dat

Subprogram Zpracování dat je realizován funkcí *ImageProcessing.m* jejíž vstupem jsou obrazová data tomogramu a kalibrační konstanty (výstupy subprogramu Předzpracování).

Vzhledem k tomu, že data tomogramu mají z důvodu velkého počtu bílých pixelů histogram výrazně posunutý k hodnotám 255, tak funkce nejprve provede equalizaci histogramu pomocí navržené vyhledávací tabulky LUT (Lookup table). Následně jsou data prahována a upravena pomocí dilatace a uzavření, aby se z prahovaného obrazu odstranily nežádoucí malé shluky černých pixelů reprezentující v normálním OCT snímku méně reflektivní vrstvy, než jsou detekované vrstvy ILM a RPE/BM. Za účelem vyplnění případných nespojitostí vrstev je následně využito otevření upravených dat. Princip následné detekce vrstev ILM a RPE/BM využívá skutečnosti, že se jedná o vrstvy s nejvyšší mírou reflektivity, tudíž po prahování, a výše zmíněných úpravách, černé pixely těchto vrstev ohraničují tomografický řez. Programově je tedy detekce vrstev řešena pomocí *for* cyklů, které hledají v obraze první černý pixel (v případě detekce vrstvy ILM), respektive poslední černý pixel (v případě detekce vrstvy RPE/BM). Vzhledem k tomu, že retinální tloušťka je definována jako vzdálenost mezi těmito vrstvami, tak je v algoritmu vypočítána jako diference pozic pixelů vrstvy RPE/BM a ILM, čímž je po vynásobení kalibrační konstantou získána informace o retinální tloušťce v celé délce řezu (v μm).

Pro výpočet CRT z dat retinální tloušťky je využit princip dle ETDRS. Základem této metody je aplikace tří soustředných kruhů o průměrech 1, 3 a 6 mm, umístěných na topogram sítnice, což je možné pozorovat například na Obrázku 4.9 v kapitole 4.5.4 Kvantitativní analýza dat. ETDRS kruh o průměru 3 mm na topogramu ohraničuje makulární oblast, tudíž ETDRS kruh o průměru 1 mm ohraničuje oblast, kde by měla být měřena CRT. V rámci algoritmu jsou tedy určeny intervaly pixelů na topogramu, jež odpovídají velikostem a umístění ETDRS kruhů o průměrech 1 a 3 mm. Tyto intervaly jsou následně přepočítány pomocí kalibrační konstanty pro aplikaci na datech tomogramu, konkrétně pro aplikaci na vektor retinální tloušťky. Z tohoto vektoru je vybrán interval hodnot retinální tloušťky odpovídající ETDRS kruhu o průměru 1 mm a vypočítána CRT jako průměr hodnot v tomto intervalu. Demonstraci měření CRT dle ETDRS zachycuje Obrázek 4.13.

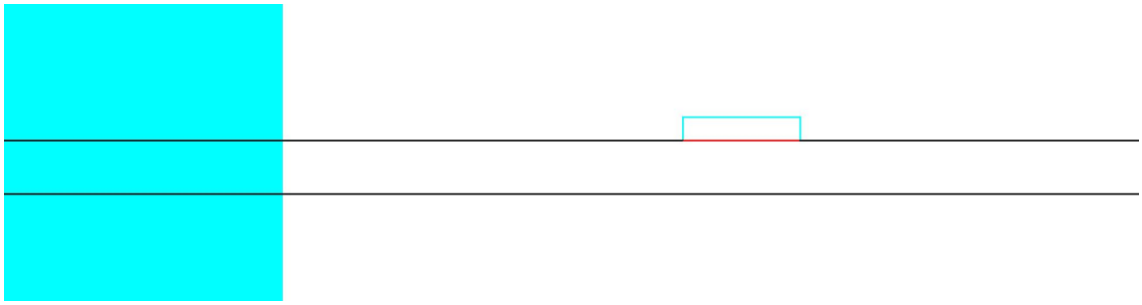


Obrázek 4.13 Demonstrace principu měření CRT dle ETDRS. Obrázek: Autor

Vývojový diagram subprogramu Zpracování dat zachycuje Obrázek 4.12 B. MATLAB funkce *ImageProcessing.m* je součástí souboru s přílohami.

4.6.3 Testování algoritmu pomocí testovacího obrazce

Pro ověření validity výsledků CRT získaných pomocí algoritmu DME Analyzer byl vytvořen testovací obrazec, jež reprezentoval řez sítnice s lehkou poruchou demonstrující edematizaci. Testovací obrazec byl navrhnut tak, aby svými rozměry, ale také rozložením, odpovídal exportovaným OCT datům z přístroje Spectralis – tedy aby ho bylo možné rozložit na topogram a tomogram, jako originální OCT data. Vzhledem k tomu, že topogram u testovacího obrazce nebude využit, tak byl nahrazen pouhou barevnou výplní. Retinální vrstvy jsou v tomto případě nahrazeny vodorovnými přímkami a edematizaci demonstruje obdélník usazený na vrstvu ILM. Edematizace byla umístěna do oblasti 1mm ETDRS kruhu, kde je následně CRT měřena. Retinální tloušťka je přesně definována v pixelech jak v místě edematizace, tak i mimo ni. Základní vzdálenost mezi vrstvami je 100 pixelů, v místě edematizace poté 143 pixelů, což dle kalibračního měřítka odpovídá hodnotě $CRT = 550\ \mu m$. Testovací obrazec zachycuje Obrázek 4.14 a je součástí příloh v instalační složce programu.



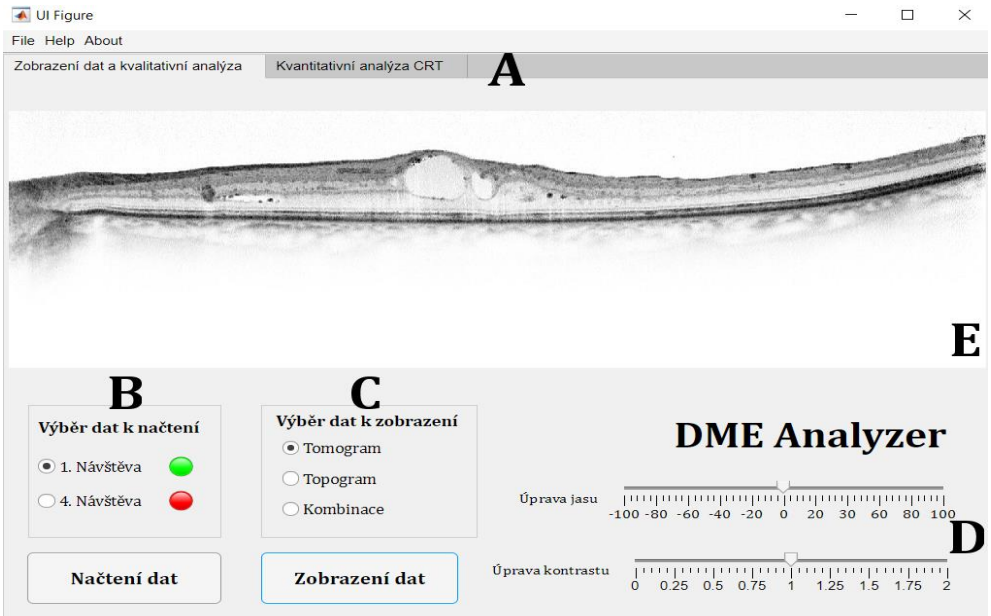
Obrázek 4.14 Testovací obrazec pro ověření validity měření CRT pomocí algoritmu DME Analyzer. Obrázek: Autor

4.6.4 Grafické uživatelské rozhraní

Pro uživatelsky přívětivější použití programu DME Analyzer bylo navrženo grafické uživatelské rozhraní GUI (Graphic User Interface), aplikující bázi algoritmu *DMEAnalyzer.m* i oba výše uvedené podprogramy. GUI je tvořeno dvěma základními panely – „Zobrazení dat a kvalitativní analýza" a „Kvantitativní analýza CRT". V obou panelech lze využít kontextové menu, které mimo informací o programu nabízí také kontextovou nápovědu pro použití obou panelů.

Zobrazení dat a kvalitativní analýza

Po spuštění aplikace se uživateli načte panel „Zobrazení dat a kvalitativní analýza". Primárním účelem tohoto panelu je načtení dat a jejich zobrazení. Nejprve je uživatel vyzván k výběru čísla návštěvy, ze které chce nahrát data. Po zvolení a kliknutí na tlačítko „Načtení dat" se uživateli zobrazí dialogové okno vyzívající ke zvolení obrazového souboru. Po načtení dat je uživateli umožněn výběr typu dat k zobrazení a po kliknutí na tlačítko „Zobrazení dat" se mu vybraná data zobrazí. O tom, zdali jsou data z konkrétní návštěvy nahrána, uživatele informují kontrolní diody, které se v případě správně nahraných dat rozsvítí zelenou barvou. Uživatel má dále možnost aplikovat na zobrazená data základní obrazové úpravy – konkrétně změnu jasu a kontrastu, přičemž obě funkce jsou z programového hlediska řešeny pomocí vyhledávací tabulky LUT. Vzhled tohoto panelu zachycuje Obrázek 4.15.

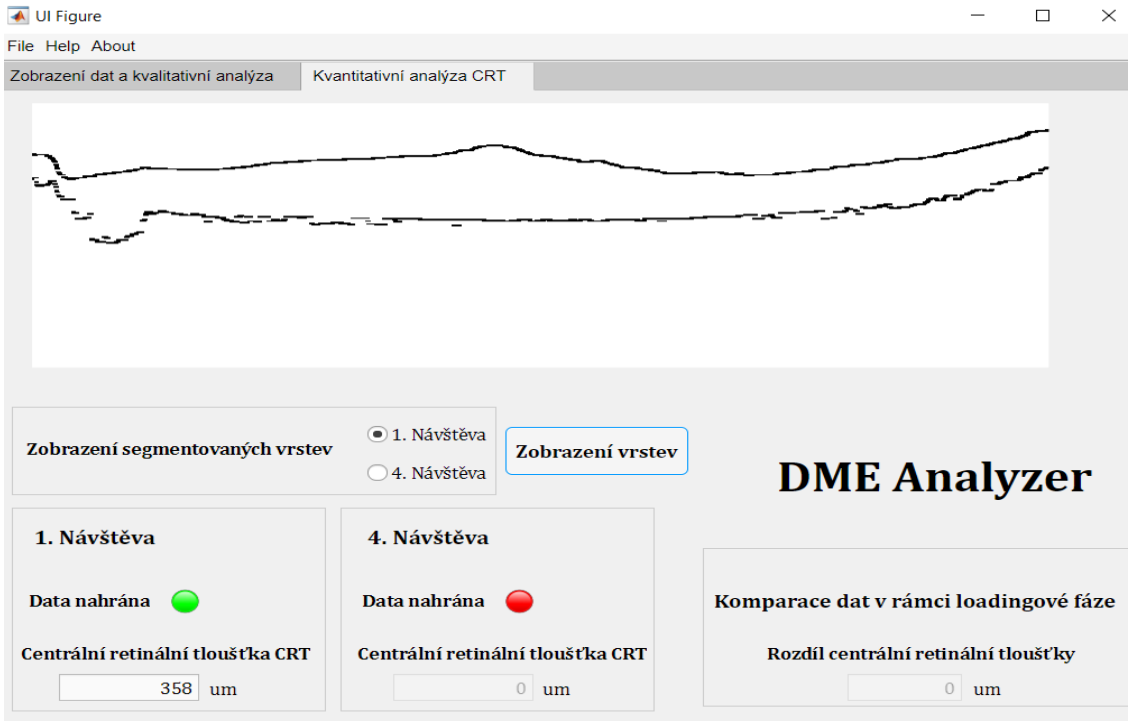


Obrázek 4.15 GUI panelu Zobrazení dat a kvalitativní analýza. A – výběr funkčního panelu, B – výběr dat k načtení (pořadové číslo návštěvy) a načtení dat, C – výběr dat a jejich následné zobrazení, D – úprava jasu a kontrastu formou nastavitelného posuvníku, E – grafické okno pro zobrazení dat. Obrázek: Autor

Kvantitativní analýza CRT

V případě, že uživatel bude chtít kvantitativně analyzovat CRT tomogramu, tak má možnost se přesunout do panelu „Kvantitativní analýza CRT“. Zde uživatel může pozorovat segmentované vrstvy sítnice – konkrétně vrstvu ILM a RPE/BM, přičemž program dává uživateli na výběr zobrazení segmentovaných vrstev z první, nebo čtvrté návštěvy. Pod grafickým oknem se nachází tři oddíly označující data z první návštěvy, čtvrté návštěvy a komparaci těchto dat. V každém oddílu je okno s numerickou hodnotou CRT [μm]. Do každého oddílu byla také přiložena kontrolní dioda indikující stav nahrání dat. V případě, že byla data z konkrétní návštěvy nahrána, tak kontrolní dioda má zelenou barvu a hodnota CRT je zobrazena. Naopak v případě, že data nahrána nebyla, tak dioda červenou barvou uživatele informuje, že pro zobrazení hodnoty CRT musí nejprve data nahrát. Ze stejného důvodu se v případě absence dat z jedné z návštěv nezobrazí ani jejich rozdíl.

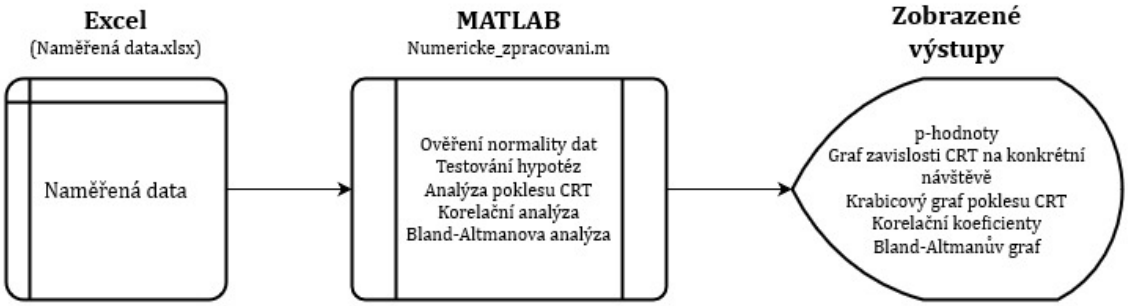
O všech těchto případech je uživatel informován také v kontextové nápovědě. Vzhled tohoto panelu zachycuje Obrázek 4.16.



Obrázek 4.16 GUI panelu Kvantitativní analýza CRT. Obrázek: Autor

4.7 Statistické zpracování dat

Pro kompletní statistické zpracování a grafickou reprezentaci naměřených dat byl ve vývojovém prostředí MATLAB navržen algoritmus *Numericke_zpracovani.m*, který vychází z naměřených dat obsažených v Excelovém souboru *Naměřená data.xlsx*. Schéma tohoto algoritmu zachycuje Obrázek 4.17.



Obrázek 4.17 Schéma algoritmu pro statistické zpracování a grafickou reprezentaci dat. Obrázek: Autor

4.7.1 Zpracování dat za účelem ověření první hypotézy

Graf závislosti CRT na konkrétní návštěvě

V průběhu loadingové fáze anti-VEGF léčby DME bylo pacientovi při každé ze čtyř návštěv provedeno OCT vyšetření, při kterém mu byla změřena CRT (viz kapitola 4.3 Průběh měřicího procesu). Data z každé návštěvy byla zprůměrována a graficky prezentována formou grafické závislosti CRT na konkrétní návštěvě. Algoritmus tuto grafickou závislost tvoří jak pro celkový soubor dat, tak pro jednotlivé použité preparáty – tedy Eyleu a Lucentis. Cílem této grafické prezentace dat bylo zejména zjištění trendu naměřených dat. V algoritmu tento proces zajišťuje vytvořená funkce *CRTPlot.m*.

Testování hypotéz

Jedním ze stěžejních bodů výsledků první hypotézy je testování hypotéz, které je z důvodu plánovaného účelu komparace dat pacienta před začátkem a po ukončení loadingové fáze anti-VEGF léčby realizováno formou párového Wilcoxonova testu na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$. Cílem tohoto testu bylo především ověření signifikance rozdílu naměřených dat mezi první a čtvrtou návštěvou. Tento neparametrický test byl zvolen z toho důvodu, že nebyla splněna podmínka normality vstupních souborů dat z první a čtvrté návštěvy, jež byla ověřena prostřednictvím Lillieforsova testu normality.

Výstupem tohoto testu normality i párového Wilcoxonova testu je nejen p-hodnota, ale také proměnná logického datového typu h, která indikuje přijmutí nulové (H_0) či alternativní hypotézy (H_1).

Analýza poklesu CRT v rámci loadingové fáze

Stěžejní částí výsledků první hypotézy je analýza poklesu CRT za období loadingové fáze anti-VEGF léčby. Za tímto účelem byl vypočten soubor procentuálních diferencí CRT mezi první a čtvrtou návštěvou pacientů a následně byl zprůměrován. Tato průměrná hodnota *LoadingResult* byla komparována s hranicí stanovenou v zadání práce, tedy zdali CRT poklesla v průběhu loadingové práce o 25 % (viz kapitola 3 Cíle práce).

Dále byla zvolena grafická prezentace tohoto výsledku formou krabicového grafu, který znázorňuje medián, dolní a horní kvantil společně s minimální a maximální hodnotou souboru. Krabicový graf byl vytvořen jak pro celý soubor pacientů, tak pro pacienty léčené jednotlivými preparáty. V rámci algoritmu je tvorba krabicových grafů zajištěna vytvořenou funkcí *BoxPlotCRT.m*.

Korelační analýza

V klinické praxi je efekt anti-VEGF léčby posuzován jak pomocí měření vizu dle stupnice ETDRS, tak pomocí měření CRT. Za účelem ověření korelace mezi těmito parametry byl použit Pearsonův korelační koeficient výběrového souboru r, který určuje sílu vztahu mezi veličinami, jež vykazují normální rozdělení. Z toho důvodu byl tento požadavek nejprve ověřen pomocí Lillieforsovova testu normality. Cílem korelační analýzy je kvantifikace míry vztahu mezi těmito parametry, respektive zdali se vztah mezi veličinami blíží lineární funkci. Pearsonův korelační koeficient r nabývá hodnot z intervalu $\langle -1; 1 \rangle$, přičemž platí:

- Pokud je $r = 1$, mezi veličinami lze sledovat přímou závislost
- Pokud je $r = -1$, mezi veličinami lze sledovat nepřímou závislost
- Pokud je $r = 0$, tak jsou veličiny nekorelované

Pearsonův korelační koeficient byl počítán mezi soubory diferencí těchto dvou parametrů v rámci loadingové fáze – tedy diferencemi mezi první a čtvrtou návštěvou CRT a vizu. Vzhledem k tomu, že soubor pacientů v rámci této diplomové práce byl malého rozsahu (<50), tak byl výsledný koeficient r porovnán s kritickými hodnotami na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$ pro $(n - 2)$ stupňů volnosti [33]. V algoritmu tento proces zajišťuje vytvořená funkce *CorrelationCoeff.m*.

4.7.2 Zpracování dat za účelem ověření druhé hypotézy

Testování hypotéz

Stěžejním cílem druhé hypotézy je ověření, že rozdíly CRT měřené na dvou přístrojích nepřesáhnou hladinu 5 %. Vzhledem k tomu, že se porovnávají dvě různé metody, tak byl pro vyhodnocení zvolen nepárový T-test. V tomto případě jsou vstupními daty soubory diferencí CRT mezi první a čtvrtou návštěvou změřených na přístrojích Spectralis a Cirrus, ale zároveň pomocí vlastního algoritmu DME Analyzer. Aby bylo možné ověřit tuto hypotézu, tak byly realizovány dva nepárové testy – Spectralis/Cirrus a Spectralis/DME Analyzer, jelikož přístroj Spectralis byl v této diplomové práci zvolen za zlatý standard. Předpokladem nepárového T-testu je normalita všech vstupních souborů dat, což bylo opět ověřeno Lillieforsovým testem normality. V případě, že nebyla splněna podmínka normality vstupních dat, tak byl pro ověření druhé hypotézy použit Wilcoxonův nepárový test. Výstupem nepárového T-testu i Wilcoxonova nepárového testu byla opět p-hodnota a proměnná logického datového typu *h*.

Bland-Altmanova analýza

Dále byla pro vyhodnocení rozdílů mezi přístroji a vlastním algoritmem zvolena Bland-Altmanova analýza. Jedná se o grafickou závislost diferencí naměřených hodnot stejného parametru různými měřícími metodami na průměru těchto hodnot. V grafu jsou zvýrazněny důležité hranice hodnot osy y, konkrétně nulová hodnota rozdílu, průměrná hodnota a limity shody, což jsou průměrné hodnoty zvětšené/zmenšené o 1,96 násobek směrodatné odchylky [34].

V tomto případě byla zvolena Bland-Altmanova analýza zejména pro přehledné ověření shody měření přístrojů Spectralis, Cirrus a algoritmu DME Analyzer. Výstupem byly dva grafy pro dvojice Spectralis/Cirrus a Spectralis/DME Analyzer. V rámci algoritmu pro zpracování naměřených dat je tento proces realizován vytvořenou funkcí *BlandAltmanPlot.m*.

5 Výsledky

V rámci této kapitoly jsou prezentovány výsledky studie řešené v této diplomové práci. Kapitola je členěna na dvě části, za účelem prezentace výsledků první a druhé hypotézy.

5.1 Analýza poklesu CRT v rámci loadingové fáze anti-VEGF terapie

V rámci plnění hlavního cíle a ověření platnosti první hypotézy, tedy zdali po loadingové fázi anti-VEGF terapie u pacientů s DME dojde ke snížení CRT o 25 %, byla pomocí OCT přístroje Spectralis naměřena data, která zachycuje Tabulka 5.1.

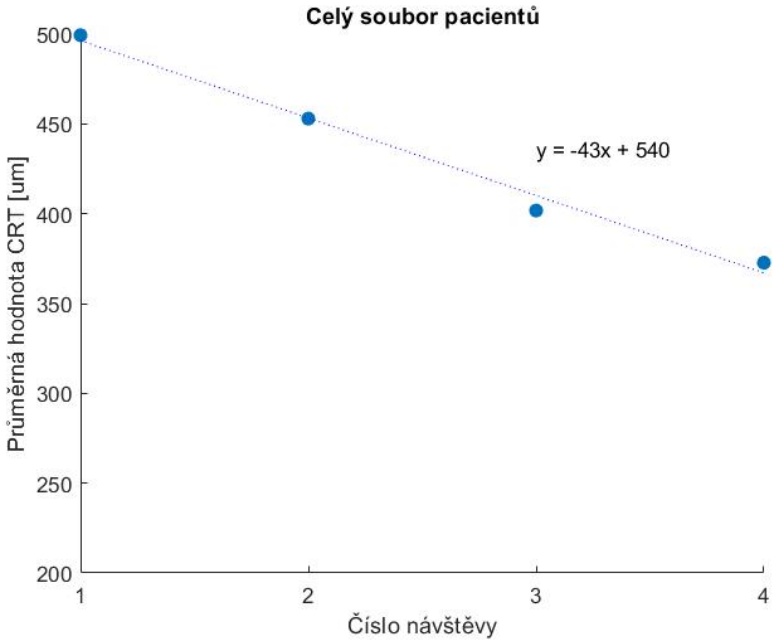
Tabulka 5.1 Naměřená data CRT přístrojem Spectralis pro jednotlivé návštěvy v rámci loadingové fáze anti-VEGF terapie

ID	Léčené oko	Použitý preparát	CRT (µm)				
			1. návštěva	2. návštěva	3. návštěva	4. návštěva	Rozdíl
1	OP	Eylea	336	330	328	323	13
1	OL	Eylea	374	359	354	351	23
2	OP	Lucentis	352	337	301	509	-157
2	OL	Lucentis	462	449	459	443	19
3	OP	Lucentis	558	342	283	263	295
3	OL	Lucentis	331	299	274	268	63
5	OL	Lucentis	355	337	311	312	43
101	OL	Eylea	405	351	352	362	43
102	OP	Eylea	741	709	653	594	147
102	OL	Eylea	843	871	778	486	357
103	OP	Lucentis	440	536	259	227	213
104	OP	Lucentis	523	281	239	223	300
104	OL	Lucentis	463	397	291	252	211
106	OL	Lucentis	432	378	338	315	117
107	OP	Eylea	646	680	638	653	-7
107	OL	Eylea	607	593	545	532	75
108	OL	Lucentis	429	357	295	277	152
109	OP	Eylea	473	487	434	445	28
110	OP	Eylea	410	341	327	316	94
111	OL	Eylea	395	362	353	346	49
112	OP	Lucentis	433	323	323	312	121
112	OL	Lucentis	322	313	315	307	15
113	OL	Lucentis	339	326	322	328	11

Pro následné zpracování dat v rámci ověření první hypotézy museli být vyloučeni pacienti, jejichž vstupní CRT nesplňovala podmínku $CRT > 350$ µm. Pacienti, kteří byli vyřazeni ze souboru naměřených hodnot, jsou v Tabulce 5.1 vyznačeni červenou barvou. V případě, že se pacient léčil s oběma očima, tak bylo vyřazeno pouze oko, které nesplňovalo výše uvedené kritérium. Kromě pacientů nesplňující tuto podmínku, bylo vyřazeno také pravé oko pacienta s ID (2), jelikož došlo k výraznému zhoršení zdravotního stavu a vzniklá odchylka by zanášela do výsledků chybu.

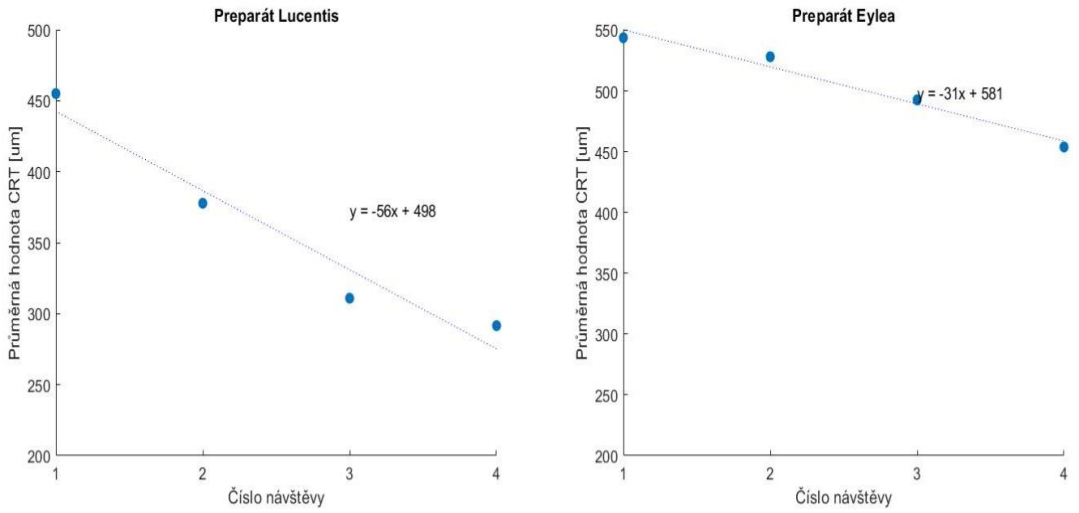
5.1.1 Tendence parametru CRT v rámci loadingové fáze

Na naměřených datech z Tabulky 5.1 byla sledována tendence parametru CRT v rámci loadingové fáze anti-VEGF terapie u pacientů s DME. Tuto tendenci lze sledovat na Obrázku 5.1, jako grafickou závislost průměrné CRT na konkrétní návštěvě pro celý soubor pacientů.



Obrázek 5.1 Grafická závislost průměrné CRT na konkrétní návštěvě pro celý soubor pacientů. Obrázek: Autor

Na základě Obrázku 5.1 lze potvrdit předpoklad, že v průběhu loadingové fáze má CRT klesající tendenci. Srovnání použitých anti-VEGF preparátů formou grafické závislosti průměrné CRT na konkrétní návštěvě zachycuje Obrázek 5.2.



Obrázek 5.2 Grafická závislost průměrné CRT na konkrétní návštěvě pro použité anti-VEGF preparáty Lucentis a Eylea. Obrázek: Autor

Na Obrázku 5.2 lze pozorovat, že u pacientů léčených preparátem Lucentis došlo v průběhu loadingové fáze k výraznějšímu poklesu CRT, což dokládá také směrnice regresní přímky, která má v komparaci se směrnicí preparátu Eylea větší spád.

5.1.2 Analýza poklesu CRT v průběhu loadingové fáze

Za účelem ověření signifikance rozdílu naměřených hodnot CRT mezi první a čtvrtou návštěvou byl proveden Wilcoxonův párový test na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$. Výsledky párového Wilcoxonova testu společně s výsledky ověření normality zachycuje Tabulka 5.2.

Tabulka 5.2 Výsledky testování hypotéz formou p-hodnoty. Otestování normality dat z první a čtvrté návštěvy Lillieforsovým testem a následný Wilcoxonův párový test pro ověření signifikance rozdílu mezi daty z jednotlivých návštěv

Provedený test	**p-hodnota (-)**	**Výsledek testu**
Lillieforsův test – 1. návštěva	0,0053	Data nepochází z normálního rozdělení
Lillieforsův test – 4. návštěva	0,0517	Data pochází z normálního rozdělení
Wilcoxonův párový test	$2{,}33 \cdot 10^{-4}$	Statisticky signifikantní rozdíl

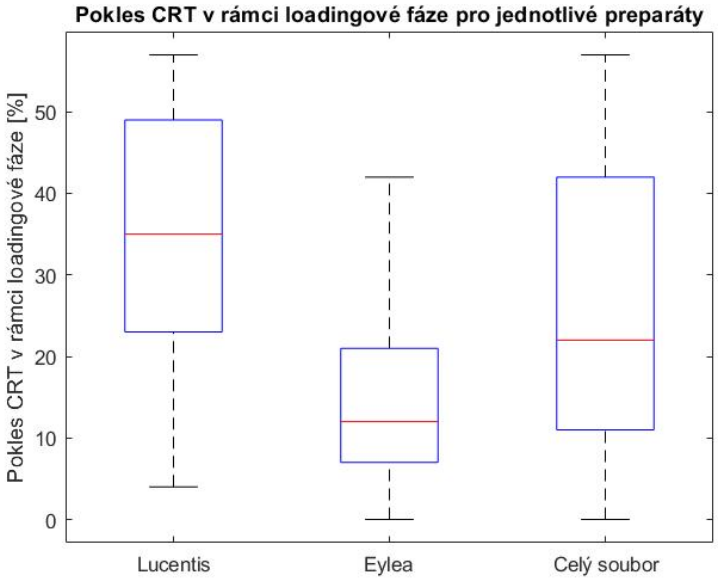
P-hodnota získaná Wilcoxonovým párovým testem potvrzuje, že v důsledku anti-VEGF terapie dochází ke statisticky signifikantnímu rozdílu CRT mezi začátkem a koncem loadingové fáze. Pro ověření signifikance nemohl být použit párový T-test, jelikož p-hodnota dat z první návštěvy nepřesahuje hladinu významnosti.

V rámci analýzy poklesu CRT v průběhu loadingové fáze anti-VEGF terapie bylo zjištěno, že u sledovaného souboru došlo k průměrnému 24,5% snížení CRT, tedy že po zaokrouhlení průměrný pokles CRT činil rovných 25 %. Komparací tohoto výsledku s hranicí stanovenou v cílech práce byla potvrzena první hypotéza, tedy že u pacientů s DME došlo po loadingové fázi anti-VEGF terapie k 25% snížení CRT. Výsledné hodnoty průměrného poklesu CRT zachycuje Tabulka 5.3.

Tabulka 5.3 Hodnoty poklesu CRT v rámci loadingové fáze. Průměrná hodnota poklesu CRT je prezentována v mikrometrech a v procentech společně s minimální a maximální dosaženou hodnotou.

	Průměr (min; max)
Pokles CRT v rámci loadingové fáze (µm)	127 (-7; 357)
Pokles CRT v rámci loadingové fáze (%)	25 (-1; 57)

Krabicový graf procentuálního poklesu CRT v rámci loadingové fáze zachycuje Obrázek 5.3.



Obrázek 5.3 Krabicový graf zachycující procentuální pokles CRT v rámci loadingové fáze anti-VEGF léčby. Obrázek obsahuje parciální grafy reprezentující výsledky jednotlivých preparátů společně s grafem celého souboru. Obrázek: Autor

Z Obrázku 5.3 bylo také zjištěno, že preparát Lucentis dosáhl vyššího procentuálního poklesu oproti preparátu Eylea, což dokládá i komparace mediánů (Lucentis – 35, Eylea – 12).

Analýza poklesu CRT po změně vylučovacího kritéria

Výše uvedené výsledky byly získané ze souboru pacientů, z něhož byli odstraněni pacienti nesplňující kritérium $CRT > 350$ µm. Mimo tohoto vylučovacího kritéria bylo zvoleno navíc optimalizované vylučovací kritérium, které činilo $CRT > 400$ µm. Toto kritérium nebylo splněno u pacientů, jež jsou v Tabulce 5.1 označeni červenou a modrou barvou.

Výsledek párového Wilcoxonova testu a Lillieforsových testů normality souboru pacientů po změně vylučovacího kritéria zachycuje Tabulka 5.4.

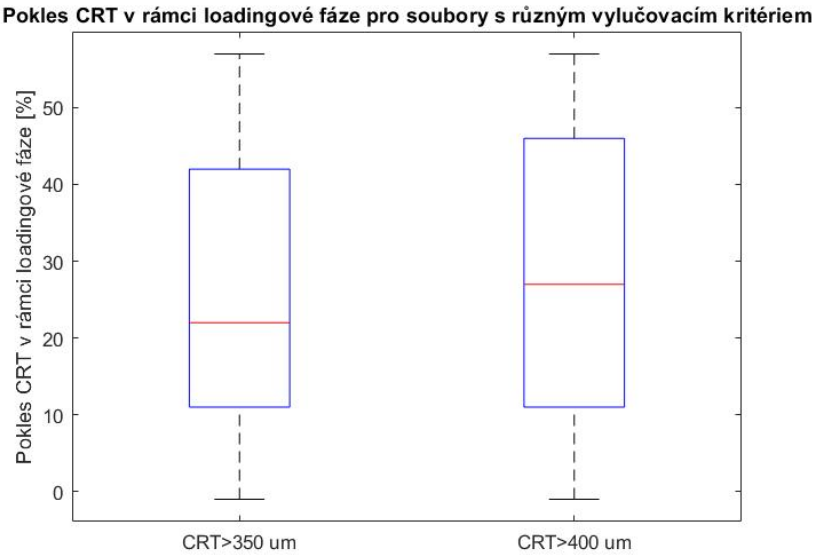
Tabulka 5.4 Výsledky testování hypotéz souboru pacientů po změně vylučovacího kritéria. Otestování normality dat z první a čtvrté návštěvy Lillieforsovým testem a následný Wilcoxonův párový test pro ověření signifikance rozdílu mezi daty z jednotlivých návštěv

Provedený test	**p-hodnota (-)**	**Výsledek testu**
Lillieforsův test – 1. návštěva	0,0110	Data nepochází z normálního rozdělení
Lillieforsův test – 4. návštěva	0,0648	Data pochází z normálního rozdělení
Wilcoxonův párový test	$1{,}22 \cdot 10^{-4}$	Statisticky signifikantní rozdíl

P-hodnota získaná Wilcoxonovým testem potvrdila statisticky významný rozdíl CRT v rámci loadingové fáze anti-VEGF terapie. Analýzou poklesu CRT u souboru pacientů po změně vylučovacího kritéria bylo detekováno zvýšení procentuálního poklesu CRT na 27,4 %, tedy přibližně 2% zvýšení po zaokrouhlení. Změnou vylučovacího kritéria byl zvýšen přesah hranice stanovené v cílech práce pro potvrzení první hypotézy, čímž byla opět potvrzena. Komparaci poklesu CRT mezi oběma soubory zachycuje Tabulka 5.5 a Obrázek 5.4.

Tabulka 5.5 Komparace poklesu CRT mezi soubory pacientů s vylučovacím kritériem CRT>350 µm a CRT>400 µm. Průměrná hodnota poklesu CRT je prezentována v mikrometrech a procentech společně s minimální a maximální hodnotou

	Průměr (min; max)	
	$\boldsymbol{CRT > 350}$ **µm**	$\boldsymbol{CRT > 400}$ **µm**
Pokles CRT v rámci loadingové fáze (µm)	127 (-7; 357)	144 (-7; 357)
Pokles CRT v rámci loadingové fáze (%)	25 (-1; 57)	27 (-1; 57)



Obrázek 5.4 Komparace poklesu CRT v rámci loadingové fáze s různým vylučovacím kritériem formou krabicového grafu.
Obrázek: Autor

Komparací těchto dvou souborů bylo zjištěno, že změna vylučovacího kritéria způsobila zejména zvýšení průměrné hodnoty poklesu CRT, avšak extrémní hodnoty zůstaly stejné (Tabulka 5.5). Dále změna vylučovacího kritéria vedla ke zvýšení mediánu a horního kvartilu (Obrázek 5.4).

5.1.3 Korelační analýza

Na základě korelační analýzy provedené Pearsonovým korelačním koeficientem nebylo možné prokázat korelaci, jelikož hodnota koeficientu r byla menší v komparaci s kritickou hodnotou pro daný počet pacientů ve zkoumaném souboru. Korelační analýza byla provedena pro oba soubory lišící se vylučovacím kritériem. Výsledné hodnoty r komparované s kritickými hodnotami zachycuje Tabulka 5.6 a kompletní tabulku naměřených hodnot lze dohledat v Příloze A.

Tabulka 5.6 Výsledky korelační analýzy společně s výsledkem Lillieforsova testu normality

	$\boldsymbol{CRT > 350}$ **µm**	$\boldsymbol{CRT > 400}$ **µm**
Lillieforsův test (CRT) – p-hodnota (-)	0,3216	0,5000
Lillieforsův test (vizus) – p-hodnota (-)	0,5000	0,5000
Pearsonův korelační koeficient r_s (-)	-0,0711	0,1984
Kritické hodnoty pro daný počet pacientů (-)	0,468	0,514
Průměrný zisk písmen (%)	11	8
Průměrný zisk písmen (ETDRS)	6	4

5.2 Komparace dvou OCT přístrojů společně s vlastním algoritmem DME Analyzer

V rámci druhé části diplomové práce byla za účelem ověření druhé hypotézy naměřena data CRT pomocí přístrojů Spectralis a Cirrus. Tabulka 5.7 zachycuje naměřená data, která byla vyhodnocena ovládacím softwarem výrobců a vlastním algoritmem DME Analyzer. Ověření validity měření algoritmu DME Analyzer bylo provedeno pomocí navrženého testovacího obrazce. Výsledek této zkoušky lze najít v Příloze E.

Tabulka 5.7 Naměřené hodnoty CRT pacientů v rámci loadingové fáze anti-VEGF léčby pomocí přístroje Spectralis a Cirrus. Data jsou zpracována pomocí ovládacího softwaru výrobců a vlastního algoritmu DME Analyzer

ID	Léčené oko	CRT (μm)					
		Spectralis		Cirrus		DME Analyzer	
		1. Návštěva	4. Návštěva	1. Návštěva	4. Návštěva	1. Návštěva	4. Návštěva
1	OP	336	323	327	313	344	328
1	OL	374	351	357	337	416	391
2	OP	352	509	342	515	348	519
2	OL	462	443	428	401	467	463
3	OP	558	263	551	258	637	292
3	OL	331	268	302	259	396	332
5	OL	355	312	317	299	408	415
101	OL	405	362	386	335	369	364
102	OP	741	594	727	552	792	658
102	OL	843	486	908	472	864	539
103	OP	440	227	426	240	-	-
104	OP	523	223	512	253	550	289
104	OL	463	252	450	237	501	315
106	OL	432	315	402	304	392	348
107	OP	646	653	634	647	723	777
107	OL	607	532	599	528	577	554
108	OL	429	277	419	268	419	258
109	OP	473	445	450	424	493	439
110	OP	410	316	333	261	390	219
111	OL	395	346	426	351	398	339
112	OP	433	312	415	307	535	470
112	OL	322	307	308	288	404	442
113	OL	339	328	340	332	-	-

Červenou barvou jsou v tabulce naměřených dat zvýrazněni pacienti, kteří byli z následné komparace vyloučeni. Pacienti s ID (103, 113) byli vyloučeni z důvodu špatného formátu exportovaného souboru a pacienti s ID (110, 112) z důvodu nevyhovující kvality snímku, která způsobovala výraznou odchylku měření.

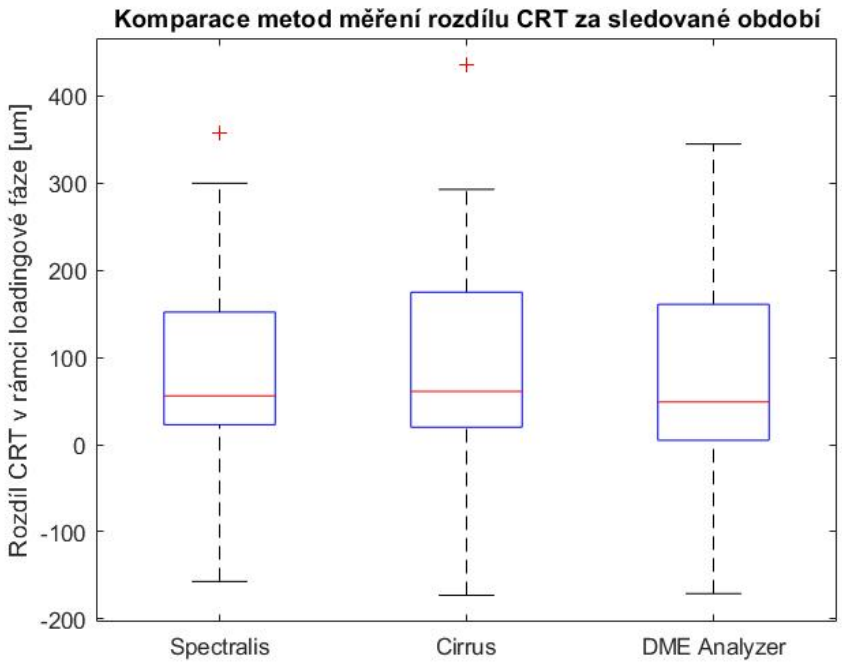
5.2.1 Komparace formou statistického testu

Hlavním zjištěním této části práce je, že v analyzovaném souboru dat rozdíl CRT, měřený na dvou přístrojích ve sledovaném období mezi první a čtvrtou návštěvou loadingové fáze anti-VEGF terapie, nepřesáhl statisticky signifikantní hladinu 5 %. Tímto zjištěním byla potvrzena druhá hypotéza stanovená v cílech diplomové práce. Dále bylo zjištěno, že tento analyzovaný rozdíl CRT nepřesáhl 5% hladinu významnosti ani v případě komparace s daty získanými prostřednictvím vlastního algoritmu DME Analyzer. Výsledky statistických testů zachycuje Tabulka 5.8.

Tabulka 5.8 Výsledky statistických testů provedených za účelem ověření druhé hypotézy. Testování normality provedeno Lillieforsovým testem normality. Následné ověření hypotéz pomocí nepárového T-testu v případě splnění podmínky normality, či pomocí nepárového Wilcoxonova testu v případě nesplnění normality

Provedený test	**p-hodnota (-)**	**Výsledek testu**
Lillieforsův test – Spectralis	0,1040	Data pochází z normálního rozdělení
Lillieforsův test – Cirrus	0,1188	Data pochází z normálního rozdělení
Lillieforsův test – DME Analyzer	0,0203	Data nepochází z normálního rozdělení
Nepárový T-test (Spectralis/Cirrus)	0,9871	Nelze potvrdit statisticky signifikantní rozdíl na hladině významnosti 5 %
Wilcoxonův nepárový test (Spectralis/DME Analyzer)	0,5797	Nelze potvrdit statisticky signifikantní rozdíl na hladině významnosti 5 %

P-hodnoty uvedené v Tabulce 5.8 dokazují, že druhá hypotéza byla v případě komparace přístrojů Spectralis a Cirrus potvrzena pomocí nepárového T-testu, jelikož byla splněna podmínka normality u obou vstupních souborů dat. Naopak v případě komparace přístroje Spectralis s vlastním algoritmem nebyla splněna podmínka normality u souboru dat měřených vlastním algoritmem, a proto bylo nutné použít pro ověření statisticky signifikantního rozdílu Wilcoxonův nepárový test. Srovnání rozdílu CRT formou krabicového grafu je možné pozorovat na Obrázku 5.5.



Obrázek 5.5 Srovnání použitých metod měření rozdílu CRT formou krabicového grafu. Obrázek: Autor

Na Obrázku 5.5 lze pozorovat, že při srovnání mediánů jednotlivých metod se zlatému standardu (přístroj Spectralis) přiblížil více přístroj Cirrus. U algoritmu DME Analyzer lze také pozorovat při komparaci s přístrojem Spectralis vyšší hodnoty extrémních hodnot. Tabulka 5.9 zachycuje komparaci průměrného rozdílu CRT společně s extrémními hodnotami.

Tabulka 5.9 Srovnání průměrných hodnot rozdílu CRT v průběhu loadingové fáze společně s extrémními hodnotami (maximem a minimem)

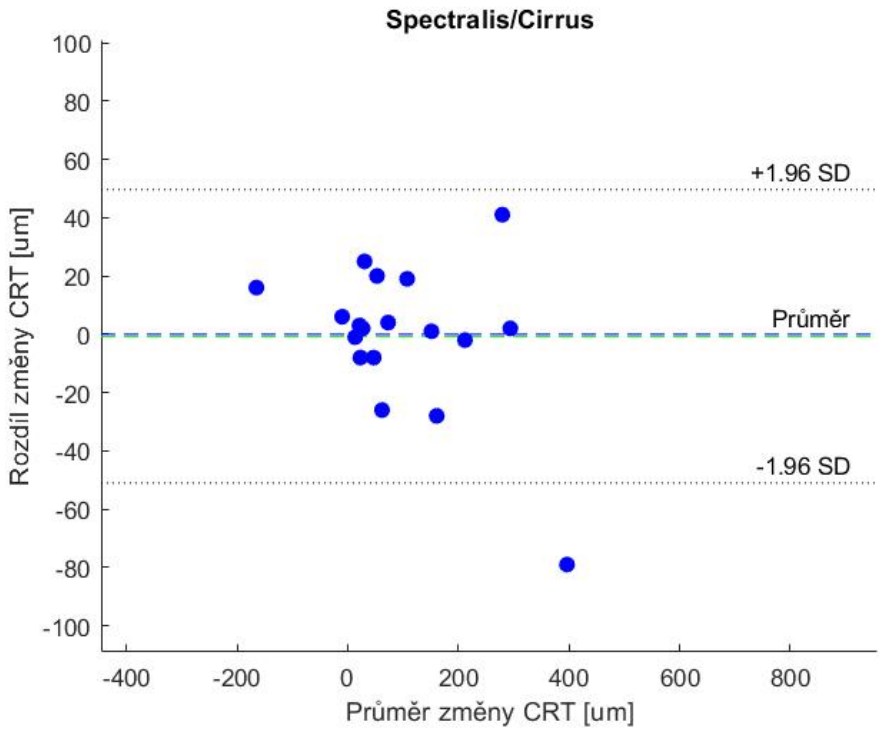
Použitá metoda měření CRT	**Průměr rozdílu CRT (min; max) (µm)**
Spectralis	98 (-157; 357)
Cirrus	99 (-173; 436)
DME Analyzer	82 (-171; 345)

Na základě dat z Tabulky 5.9 plyne zjištění, že přístroj Cirrus má výrazně nižší odchylku průměru rozdílů CRT v komparaci s algoritmem DME Analyzer. Avšak u algoritmu DME Analyzer je možné pozorovat větší shodu naměřených extrémních hodnot se zlatým standardem.

5.2.2 Komparace formou Bland-Altmanovy analýzy

Spectralis/Cirrus

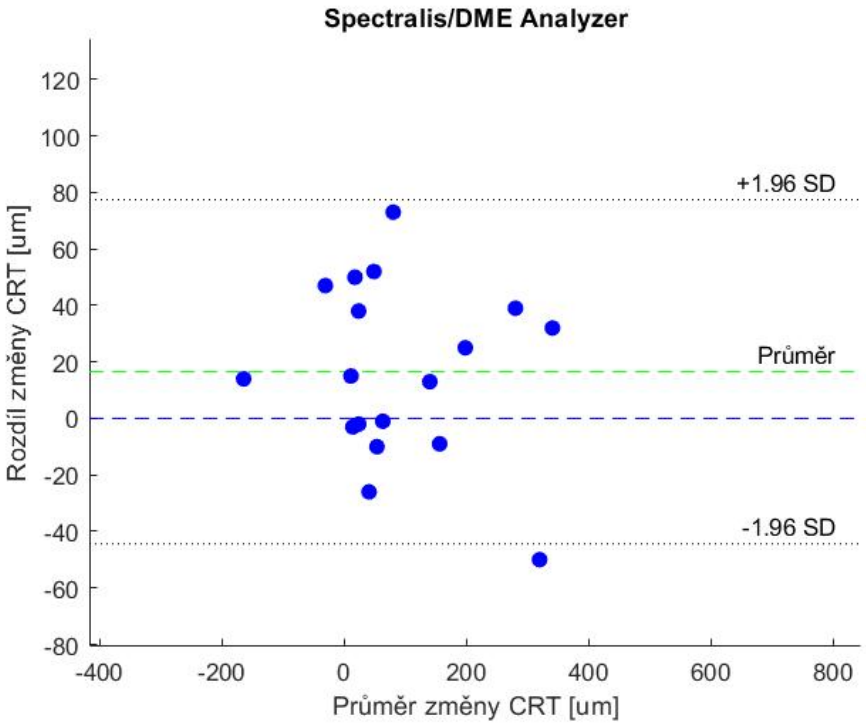
Zásadním zjištěním plynoucím z Bland-Altmanovy analýzy je shoda měření pomocí přístrojů Spectralis a Cirrus, která je doložena výskytem bodů v rámci 95% limitu shody a zejména oscilací bodů kolem osy nulové diference hodnot mezi jednotlivými přístroji. Dále je z Bland-Altmanovy analýzy této dvojice přístrojů patrné, že průměrný rozdíl CRT za sledované období loadingové fáze anti-VEGF léčby je u těchto komparovaných přístrojů téměř totožný. Toto zjištění je doloženo shodou průměrného rozdílu změny CRT za sledované období s nulovou diferencí hodnot mezi jednotlivými přístroji. Bland-Altmanovu analýzu této dvojice přístrojů zachycuje Obrázek 5.6.



Obrázek 5.6 Bland-Altmanův graf ověřující shodu přístrojů Spectralis a Cirrus. Bland-Altmanův graf je vynesen jako závislost diference rozdílu CRT za sledované období na průměrném rozdílu CRT. Modrá přímka – nulová diference mezi metodami, zelená přímka – průměrná diference mezi metodami, černé přímky – limity 95% shody měření. Obrázek: Autor

Spectralis/DME Analyzer

Na základě Bland-Altmanovy analýzy dvojice přístroje Spectralis a algoritmu DME Analyzer plyne zjištění, že bylo dosaženo shody měření rozdílů CRT za sledované období. Tohoto zjištění bylo dokázáno většinovým výskytem bodů v Bland-Altmanově grafu v rámci 95% limitu shody. Dále byla zjištěna odchylka průměrné diference změny CRT mezi jednotlivými měřicími metodami. Tato odchylka snižuje shodu měření algoritmu DME Analyzer se zlatým standardem, ale také indikuje přítomnost systematické chyby měření.



Obrázek 5.7 Bland-Altmanův graf ověřující shodu přístrojů Spectralis a algoritmu DME Analyzer. Bland-Altmanův graf je vynesen jako závislost diference rozdílu CRT za sledované období na průměrném rozdílu CRT. Modrá přímka – nulová diference mezi metodami, zelená přímka – průměrná diference mezi metodami, černé přímky – limity 95% shody měření. Obrázek: Autor

6 Diskuse

Hlavním cílem této diplomové práce bylo měření CRT u pacientů s diabetickým makulárním edémem v průběhu loadingové fáze intravitreální anti-VEGF terapie s využitím obrazových dat z optické koherenční tomografie přístroje Spectralis, který byl v této studii zvolen za zlatý standard (viz dále). Ve shodě s tímto cílem byla práce rozdělena na dvě části za účelem ověření dvou hypotéz stanovených v cílech práce. Hlavním zjištěním této práce bylo potvrzení platnosti obou hypotéz stanovených v cílech práce. Jedním ze dvou nejdůležitějších zjištění této práce je, že u zkoumaného souboru pacientů bylo dosaženo hranice poklesu CRT v průběhu loadingové fáze o 25 %. Druhým zásadním zjištěním bylo potvrzení shody měření rozdílu CRT za sledované období u dvou OCT přístrojů Spectralis a Cirrus.

V první části práce byla řešena problematika analýzy CRT v průběhu loadingové fáze anti-VEGF léčby DME. V rámci této analýzy byl ověřen klesající trend parametru CRT v případě obou použitých preparátů, následně byla ověřena signifikance rozdílu CRT mezi vstupem a výstupem z loadingové fáze, a nakonec potvrzena platnost první hypotézy. V druhé části práce byla řešena problematika komparace dvou OCT přístrojů s vlastním algoritmem DME Analyzer formou srovnání rozdílů CRT mezi první a čtvrtou návštěvou v rámci loadingové fáze anti-VEGF léčby, přičemž byla potvrzena shoda měření obou komparovaných měřicích metod se zlatým standardem formou statistického testu a Bland-Altmanovy analýzy.

Pro analýzu CRT v rámci loadingové fáze byla naměřena data pomocí přístroje Spectralis, která jsou zachycena v Tabulce 5.1. Z naměřených dat bylo třeba vyloučit pacienty, jejichž vstupní CRT nepřesahovala hranici vylučovacího kritéria. Použití vylučovacího kritéria bylo doporučeno, panem primářem i lékaři z Oční kliniky 1.LF UK a ÚVN zabývajícími se anti-VEGF terapií, za účelem redukce chyby v průměrné hodnotě poklesu CRT, kterou by zanesli pacienti nesplňující toto kritérium z důvodu fyziologické limitace léčebného efektu na tyto pacienty (viz dále). V rámci této analýzy byly stanoveny dvě hranice vylučovacího kritéria – 350 a 400 μm. První zkoumaný soubor tvořili pacienti, jejichž vstupní CRT $>$ 350 μm, tudíž ze souboru naměřených dat bylo třeba vyřadit 4 pacienty. Mimo tyto pacienty bylo nutné vyloučit pacienta s ID (2), u kterého došlo k výraznému zhoršení zdravotního stavu, jelikož tato odchylka by zanesla do průměru chybu. Toto zhoršení zdravotního stavu mohlo způsobit větší množství faktorů, jelikož *diabetes mellitus* je komplexní chronické onemocnění způsobující diabetickou retinopatii, nefropatii či hypertenzi. Hlavní příčinnou mohl být vznik dekompenzace glykémie, respektive zvýšení dlouhodobého indikátoru glykovaného hemoglobinu HbA1c. Další příčinnou mohlo být zvýšení hladiny kreatininu, které by indikovalo zhoršení funkce ledvin v důsledku diabetické nefropatie [1; 3]. V Tabulce 5.1 je však možné pozorovat, že u tohoto pacienta došlo k 45% zhoršení

zdravotního stavu pouze u jednoho léčeného oka (OP), nýbrž u druhého oka (OL) bylo dosaženo progrese léčby. Je však nutné poznamenat, že i u tohoto léčeného oka v průběhu loadingové fáze docházelo k oscilaci CRT, která nakonec vedla pouze k progresi léčby o 4 %.

Druhý zkoumaný soubor tvořili pacienti, jejichž vstupní CRT > 400 µm. V tomto případě bylo potřeba vyloučit ze souboru naměřených dat mimo již vyloučených 5 pacientů další 3 pacienty.

V rámci první části byla zjištěna klesající tendence parametru CRT v průběhu loadingové fáze, což potvrdilo teoretický předpoklad (Obrázek 5.1). Na základě komparace jednotlivých preparátů však bylo zjištěno, že preparát Lucentis dosáhl vyšší progrese léčby ve srovnáním s preparátem Eylea (Obrázek 5.2). Toto zjištění je podloženo komparací směrnic regresních přímek, kde lze pozorovat větší spád u preparátu Lucentis. Tento rozdíl v efektu léčby však je pravděpodobně způsoben zejména použitím preparátu Eylea u pacientů s vyšší vstupní CRT. V Tabulce 5.1 je možné si všimnout, že maximální vstupní hodnota CRT pro preparát Lucentis je $CRT_{max} = 558$ µm, zatímco pro preparát Eylea $CRT_{max} = 843$ µm. Takto rozsáhlá edematizace se vyznačuje rozsáhlou cystoidní přestavbou a tvorbou tvrdých exsudátů v důsledku dlouhotrvající dekompenzace glykémie či pozdního startu léčby. V takovém případě je pravděpodobné, že efekt léčby se bude zvyšovat až s vyšším počtem aplikací anti-VEGF faktoru, jelikož při takto rozsáhlé edematizaci je nejen pravděpodobný delší start regenerace postižené tkáně, ale také je zprvu obtížné léčbu podpořit i laserovou fotokoagulací [3]. Z tohoto důvodu lze vysvětlit i lehký nárůst CRT u pacienta s ID (107, OP). Vzhledem k tomu, že u preparátů nebyl srovnatelný vstupní rozsah CRT, tak není možné toto zjištění aplikovat na celou populaci, nýbrž lze pouze poukázat na skutečnost, že v rámci zkoumaného souboru pacientů bylo dosaženo tohoto zjištění. Dále je třeba zmínit, že neexistuje přesná metodika o volbě preparátu. Lékaři na Oční klinice 1.LF UK a ÚVN střídají volbu použitého preparátu v poměru 1:1 a v případě neúspěšného efektu léčby preparát po loadingové fázi vymění. Jelikož nasazení preparátů bylo náhodné, tak lze potvrdit zjištění, že v rámci tohoto sledovaného souboru preparát Lucentis dosáhl výraznějšího efektu léčby.

Samotnému vyhodnocení průměrného poklesu CRT, a komparaci s hranicí stanovenou první hypotézou v cílech práce, předcházela statistická analýza signifikance rozdílu CRT před vstupem a při výstupu z loadingové fáze anti-VEGF léčby. Statisticky signifikantní rozdíl byl prokázán (Tabulka 5.2), což významně přispělo k jednomu ze dvou hlavních zjištění této práce, tedy že po loadingové fázi anti-VEGF léčby diabetického makulárního edému došlo k průměrnému 25% snížení CRT, čímž byla potvrzena první hypotéza. Komparace s hranicí stanovenou první hypotézou byla provedena pro již zmíněné dva soubory pacientů. V případě souboru pacientů splňující kritérium vstupní

CRT $>$ 350 µm bylo dosaženo přesně 25% poklesu CRT, zatímco u pacientů splňující kritérium vstupní CRT $>$ 400 µm dokonce 27% poklesu CRT (Tabulka 5.5). Tento rozdíl odpovídá teoretickému předpokladu, jelikož vylučovací kritérium s hranicí 350 µm je z klinického hlediska limitní z důvodu potenciálního poklesu CRT do nefyziologických hodnot. Při uvažování přesně 25% poklesu CRT u pacienta se vstupní CRT $=$ 350 µm by výsledná hodnota teoreticky měla činit 263 µm, což spadá do oboru fyziologických hodnot zdravého pacienta, který dle studie z roku 2020 činí 232 $\pm$ 30,85 µm [35]. U pacientů nesplňujících toto kritérium by tedy v případě 25% poklesu muselo dojít k poklesu do nefyziologických hodnot a z toho důvodu dosahovali nižšího poklesu CRT, jelikož jejich CRT náležela oboru fyziologických hodnot. U pacientů jejichž vstupní CRT náležela intervalu (350; 400) µm však stále nebyl takový pokles z klinického hlediska pravděpodobný a z toho důvodu bylo vylučovací kritérium optimalizováno a následně komparováno s původním vylučovacím kritériem. Na základě dat z Tabulky 5.5 a Obrázku 5.4 bylo zjištěno, že dle teoretického předpokladu byl pozorovatelný vyšší efekt léčby u pacientů, jejichž vstupní CRT $>$ 400 µm. Minimální i maximální pokles byl u obou souborů pacientů stejný z toho důvodu, že u pacienta s ID (107, OP) došlo v průběhu loadingové fáze k mírnému nárůstu CRT (viz výše). Dále bylo zjištěno, že preparát Lucentis prokázal vyšší léčebný efekt při komparaci s preparátem Eylea (Obrázek 5.4). Toto zjištění má však stejné opodstatnění jako rozdílný sklon přímek závislosti CRT na konkrétní návštěvě v průběhu loadingové fáze. Zjištění této studie lze komparovat například s výsledkem studie z Wonkwang University Hospital, kde byl detekován průměrný pokles CRT o přibližně 23 % (průměrný pokles 100 µm) při použití preparátu Lucentis za období šesti měsíců [36].

Posledním zjištěním první části této diplomové práce bylo, že nelze prokázat korelaci mezi změnou CRT a zrakové ostrosti měřené dle ETDRS stupnice. Teoretický předpoklad byl takový, že s klesající CRT bude narůstat zraková ostrost ve formě zisku ETDRS písmen. Korelace nebyla prokázána pomocí Pearsonova korelačního koeficientu ani u jednoho souboru lišícího se vylučovacím kritériem. V Tabulce 5.6 lze pozorovat, že vyšší průměrný zisk písmen ETDRS měl soubor s vylučovacím kritériem CRT $>$ 350 µm – konkrétně 6 písmen (11% zlepšení zrakové ostrosti), zatímco soubor s vylučovacím kritériem CRT $>$ 400 µm pouze 4 písmena (8% zlepšení zrakové ostrosti). Na základě těchto dat lze konstatovat, že pacienti s nižší vstupní CRT dosáhli výraznějšího efektu léčby z hlediska zlepšení zrakové ostrosti. Výrobci preparátů Lucentis i Eylea na svých webových stránkách uvádí, že průměrný zisk ETDRS písmen u pacientů s DME v průběhu 24 měsíců anti-VEGF léčby je $\geq$ 15 písmen ETDRS [37; 38]. Na základě dat z Tabulky 5.6 lze potvrdit předpoklad, že se snižující se CRT roste zraková ostrost. Avšak korelaci mezi těmito parametry nebylo možné prokázat, jelikož zisk písmen ETDRS nebyl tak výrazný, jako pokles CRT. Větší zisk písmen u pacientů s nižší vstupní CRT je z klinického

hlediska opodstatněný, jelikož sítnice pacienta neprodělala tak rozsáhlou strukturní přestavbu. U rozsáhlých diabetických makulárních edémů mohlo také dojít k výrazné ischemii makulárního regionu sítnice, která má vliv na zrakovou ostrost pacienta [3]. Komparovat výsledky této diplomové práce z hlediska zrakové ostrosti s deklarovanými výsledky obou výrobců anti-VEGF preparátů není možné, jelikož studie nemají stejný časový rozsah.

Jednou z limitací této práce je velikost analyzovaného souboru pacientů. Celkově bylo do studie zařazeno 16 pacientů s celkovým počtem 23 léčených očí. Z tohoto souboru bylo vyloučeno 5 měřených očí v případě prvního vylučovacího kritéria, a další 3 oči v případě druhého vylučovacího kritéria. S větším počtem pacientů v analyzovaném souboru roste i reprezentativnost výsledků. Do této studie však nebylo možné začlenit více pacientů ze tří zásadních důvodů. Jedním z důvodů je časová náročnost studie. Po navržení kompletní metodiky studie a získání souhlasu etické komise ÚVN bylo možné začít se sběrem dat v září 2020. Vzhledem k tomu, že sledované období pacienta jsou tři měsíce, tak bylo nutné, aby dorazil na první návštěvu nejpozději v průběhu ledna 2021. Časovou náročnost studie zvyšuje skutečnost, že do studie bylo možné zařadit pouze pacienty nastupující do loadingové fáze anti-VEGF terapie – tedy před první aplikací. Pacienti zahajující terapii na Oční klinice 1.LF UK a ÚVN byli většinou odesíláni od obvodních očních lékařů, po konzultaci s diabetology, z celé republiky. Tito pacienti však nezahájili léčbu okamžitě, nýbrž až po rozsáhlém diagnostickém vyšetření v rámci Oční kliniky 1.LF UK a ÚVN zahrnující vyšetření fluorescenční angiografií. Dalším faktorem jsou indikační a vylučovací kritéria anti-VEGF léčby (viz kapitola 4.1.2 Specifikace probandů, část indikační a vylučovací kritéria). Větší množství pacientů přijatých na Oční klinice 1.LF UK a ÚVN nemohla vstoupit do loadingové fáze, protože nesplňovala tato kritéria. Jedním z hlavních důvodů byla také situace související s pandemií COVID-19. Jedním z důsledků pandemického stavu bylo omezení provozu oční kliniky z důvodu relokace či zdravotní indispozice zdravotnického personálu. Dále je třeba vzít v potaz, že diabetičtí pacienti jsou vysoce riziková skupina onemocnění COVID-19, pro které návštěva nemocnice, ve spojení s případnou transportní náročností a pokročilejším věkem, zvyšuje riziko nákazy a komplikovaného průběhu onemocnění. Tato situace tudíž také přispěla k nižší návštěvnosti nových diabetických pacientů na Oční klinice 1.LF UK a ÚVN.

V rámci druhé části této diplomové práce byla zjištěna shoda měření přístroje Cirrus a algoritmu DME Analyzer se zlatým standardem, za který byl zvolen přístroj Spectralis. Důkazem tohoto zjištění jsou výsledky statistických testů, na základě kterých nebylo možné na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$ zamítnout nulovou hypotézu, tedy že rozdíly CRT měřené pomocí výše zmíněných metod nepřesáhnou za sledované období 5% hranici (Tabulka 5.8). Při komparaci průměrných rozdílů CRT za sledované období bylo zjištěno, že přístroj Cirrus dosahuje přesnějších

výsledků, jelikož odchylka průměru od zlatého standardu činila pouhý 1 µm, zatímco odchylka algoritmu DME Analyzer činila 16 µm. Tato odchylka algoritmu DME Analyzer pravděpodobně plynula z limitací metody (viz dále). Avšak z hlediska naměřených extrémních hodnot je možné sledovat, že maximální hodnota rozdílu CRT naměřená pomocí přístroje Cirrus se enormně odchyluje od maximální hodnoty přístroje Spectralis i algoritmu DME Analyzer. Tato odchylka je pravděpodobně způsobena špatnou segmentací retinálních vrstev – zejména detekcí vrstvy ILM, která mohla být způsobena záměnou za jinou silně reflektující vrstvu vitreoretinálního rozhraní. Příkladem může být vitreomakulární adheze či nastávající vitreomakulární trakce. Při těchto stavech dochází k postupnému odloučení sklivce z vitreoretinálního rozhraní, což se na OCT snímku projevuje přítomností sklivcové membrány nad vrstvou ILM [26]. Pokud je sklivcová membrána na OCT snímku výrazná, tak může dojít k záměně za vrstvu ILM při zpracování obrazových dat a k následnému nesprávnému určení CRT. V takovém případě je potřeba provést detekci vrstvy ILM manuálně. Ovládací software obou výrobců dokáže v mnoha případech tuto chybu sám eliminovat, avšak v tomto případě to pravděpodobně způsobilo výše zmíněnou odchylku maximální hodnoty rozdílu CRT.

Detailnější analýzu shody měření se zlatým standardem poskytla Bland-Altmanova analýza. Na základě této analýzy bylo zjištěno, že obě metody jsou ve shodě se zlatým standardem. Při vzájemné komparaci přístrojů Spectralis a Cirrus, formou měření rozdílu CRT za sledované období, nelze dokázat signifikantní rozdíl měření, což odpovídá teoretickému předpokladu. Toto zjištění je doloženo nejen výsledkem statistického testu (Tabulka 5.8), ale také shodou průměrné hodnoty rozdílu změny CRT a nulové diference změny CRT mezi jednotlivými metodami na Bland-Altmanově grafu (Obrázek 5.6). Avšak při pohledu na tabulku naměřených dat je možné pozorovat odchylky mezi jednotlivými měřeními. Tyto odchylky jsou způsobené použitím jiných detekčních algoritmů a měřením CRT mezi odlišnými retinálními vrstvami (viz Kapitola 4.5.3 Anatomický popis OCT skenu). Za normálních okolností je pravděpodobné, že vrstva RPE bude splývat s BM, avšak u některých pacientů může z důvodu patologických změn dojít k viditelnosti samostatné BM a tím ke změření jiné hodnoty CRT. Další příčinnou odchylek může být odlišná pozice středu ETDRS kruhů, která by následně ovlivnila výpočet výsledného parametru CRT. Z těchto důvodů nebylo možné porovnávat jednotlivá měření, nýbrž jejich rozdíl za sledované období.

Při vzájemné komparaci výsledků dvojic Spectralis/Cirrus a Spectralis/DME Analyzer bylo zjištěno, že přístroj Cirrus dosahuje přesnějších výsledků, což dokazuje zejména oscilace bodů okolo nulové diference změny CRT mezi jednotlivými metodami na Bland-Altmanově grafu (Obrázek 5.6). Naopak v případě algoritmu DME Analyzer byla zjištěna odchylka průměrné diference změny CRT

mezi jednotlivými metodami od nulové diference (Obrázek 5.7). Tato odchylka je pravděpodobně způsobena jednou z hlavních limitací algoritmu DME Analyzer, kterou je skutečnost, že CRT je získána pouze z jednoho lineárního skenu, zatímco u obou softwarů výrobců z rastrového skenu. Vzhledem k tomu, že dle ETDRS je CRT určena jako průměr hodnot retinální tloušťky uvnitř 1mm ETDRS kruhu, tak je pravděpodobné, že pokud není nastavena příliš nízká hustota řezů v rámci rastrového skenu, tak bude 1mm ETDRS kruhem procházet více řezů. CRT je následně určena jako průměr všech hodnot retinální tloušťky uvnitř tohoto kruhu – tedy z více řezů v případě rastrového skenu.

Přestože byla prokázána shoda mezi měřením rozdílu CRT ovládacím softwarem přístroje Spectralis a algoritmem DME Analyzer, tak existují limitace, které způsobují odchylky mezi jednotlivými měřeními. Limitace pramení zejména z detekční metody algoritmu. Jednou z příčin odchylek mezi měřeními je již zmíněná možná přítomnost vitreoretinální adheze/trakce a následná záměna vrstvy ILM za membránu. Zatímco v případě softwaru výrobců je možné manuálně změnit detekovanou vrstvu ILM, tak v případě algoritmu DME Analyzer to možné není. Jedna ze zásadních limitací algoritmu plyne z konstantního nastavení prahování před samotnou detekcí retinálních vrstev. V případě, že byl práh pro konkrétní obrazová data moc nízký, tak došlo ke vzniku nespojitostí zejména ve vrstvě ILM. Důsledek nespojitosti je detekce prvních černých pixelů mimo oblast vrstvy ILM. V případě, že došlo k nespojitosti ve foveální oblasti, tak došlo k ovlivnění průměru hodnot retinální tloušťky v rámci 1mm ETDRS kruhu a následně nižší hodnotě CRT v porovnání s přístrojem Spectralis. Touto chybou byl zatížen například pacient s ID (101) u první návštěvy. V opačném případě, tedy když byl práh příliš vysoký, tak sice došlo ke zlepšení spojitosti vrstvy ILM, avšak byly zvýrazněny také méně reflektující vrstvy – zejména pod vrstvou RPE, což způsobilo zvýraznění cévnatky (*choroidea*). Důsledkem zvýraznění cévnatky byl zejména vznik černých shluků pixelů pod vrstvou RPE, které následně byly detekovány jako poslední černé pixely namísto vrstvy RPE. V případě, že k tomuto jevu došlo v oblasti 1mm ETDRS kruhu, tak byl opět průměr hodnot retinální tloušťky ovlivněn a v konečném důsledku došlo k naměření vyšších hodnot CRT v komparaci s přístrojem Spectralis. Mimo zvýraznění cévnatky mohlo dojít také k případnému zvýraznění sklivcové membrány a následnou záměnou místo vrstvy ILM. V rámci algoritmu je vědomě nastavena vyšší hladina prahu za účelem zvýšení pravděpodobnosti spojitosti obou detekovaných vrstev, přičemž výše zmíněný problém je částečně kompenzovaný uzavřením obrazu, které velké množství odlehlých černých pixelů od detekovaných vrstev odstraní. Jednou z možností kompenzace limitace plynoucí z konstantního prahovaní je aplikace metody neuronových sítí, či jiného pokročilého strojového učení, za účelem eliminace parazitních jevů vzniklých použitím vyšší hladiny prahu. Tato pokročilá programová část však přesahuje rámec diplomové práce. Dále by

limitace plynoucí z konstantního prahování mohla být řešena individuální možností určení prahu pro každá obrazová data zvlášť, což by však zvyšovalo uživatelskou náročnost ovládání programu v klinickém provozu.

Další limitací algoritmu je určení pozice ETDRS kruhů. V případě, že by nebyla pozice správně určena, tak software obou výrobců umožňuje tuto pozici manuálně změnit, čímž dojde ke změně CRT. Příčinou odchylek od hodnot zlatého standardu tedy může být i posun středu ETDRS kruhů vůči pozici středu přístroje Spectralis. Vzhledem k tomu, že se jedná o společný problém s komparací dvojice přístrojů Spectralis/Cirrus, tak tato skutečnost potvrzuje důležitost komparace změny CRT za sledované období, a nikoliv konkrétních hodnot. Tato limitace algoritmu DME Analyzer by mohla být pro případné klinické využití řešena formou přídavné funkcionality, umožňující zobrazit ETDRS kruhy na topogramu sítnice a případně změnit pozici jejich středu za účelem korekce výpočtu CRT.

Z důvodu potvrzení shody měření algoritmu DME Analyzer se zlatým standardem vyplývá na povrch potenciální využití algoritmu v klinické praxi. V případě, že by byla do algoritmu přidána výše uvedená funkcionalita týkající se změny středu ETDRS kruhů, tak by tento algoritmus mohl představovat alternativu pro prohlížeč od společnosti Heidelberg Engineering, jehož licence je velice nákladná. Z tohoto důvodu se nabízí například také využití u obvodních očních lékařů, kteří odesílají své pacienty na samostatné OCT vyšetření do nemocnic. V tomto případě by stačilo, kdyby obdrželi exportovaný transfoveolární lineární sken ve formátu *.jpg*, a mohli by si provést základní analýzu OCT snímku ve vlastních podmínkách. Pro zvýšení přesnosti výsledků by také musel být vyřešen již zmíněný problém spojený s prahováním.

Výsledky této práce podporují význam anti-VEGF terapie u diabetických pacientů, u kterých bylo prokázáno, že efekt této léčby má významný vliv na regeneraci retinální struktury, se kterou souvisí nejen zastavení ztráty zrakové ostrosti, ale zejména její postupné zlepšení. Z tohoto důvodu se dá do budoucna očekávat rozšíření indikací u diabetických pacientů, zejména ze strany úhrady zdravotními pojišťovnami. Dalším významným zjištěním je shoda měření CRT u jednotlivých přístrojů i vlastního algoritmu, přestože každý software využívá jiné segmentační a detekční metody.

7 Závěr

V rámci této diplomové práce byla měřena CRT u pacientů s DME pomocí OCT přístroje dvou výrobců, s cílem srovnání efektu anti-VEGF léčby s hranicí stanovenou v cílech práce, a vzájemné komparace těchto dvou přístrojů a vlastního algoritmu formou měření změny CRT za sledované období. Součástí diplomové práce byl návrh metodiky a dokumentace spojené s výzkumem na probandech Oční kliniky 1.LF UK a ÚVN.

V rámci první části práce byl ověřen klesající trend CRT v průběhu loadingové fáze anti-VEGF léčby, a to jak pro celý soubor, tak pro oba použité preparáty. Dále byl ověřen statisticky signifikantní rozdíl naměřené CRT mezi vstupem a výstupem z loadingové fáze terapie. V rámci analýzy poklesu CRT v průběhu loadingové fáze byl splněn jeden z hlavních cílů práce, jelikož byla ověřena platnost první hypotézy stanovené v cílech práce – tedy že v průběhu loadingové fáze anti-VEGF léčby bylo u pacientů s DME dosaženo 25% poklesu CRT. Tohoto poklesu CRT bylo dosaženo u obou souborů pacientů lišících se vylučovacím kritériem. Dále nebylo možné prokázat korelaci mezi poklesem CRT a ziskem ETDRS písmen při měření zrakové ostrosti za takto krátkou dobu sledování.

V souladu s cíli práce byl pro druhou část této práce navržen algoritmus DME Analyzer ve vývojovém prostředí MATLAB, jehož primárním účelem je kvantitativní analýza lineárního transfoveolárního OCT tomogramu – konkrétně pro měření CRT.

V rámci druhé části práce byla provedena komparace dvou OCT přístrojů společně s vlastním algoritmem DME Analyzer formou komparace změny CRT za sledované období. V důsledku statistické analýzy byl splněn druhý hlavní cíl této práce, jelikož byla potvrzena platnost druhé hypotézy – tedy že rozdíly CRT měřené na dvou OCT přístrojích nepřesáhnou za sledované období hladinu 5 %. Shoda měření rozdílu CRT za sledované období se zlatým standardem byla potvrzena jak u přístroje Cirrus, tak u algoritmu DME Analyzer formou statistické analýzy a následné detailnější Bland-Altmanovy analýzy.

Shoda měření algoritmu se zlatým standardem nabízí možnost klinického využití, například u obvodních očních lékařů. Pro zvýšení přesnosti by bylo třeba vyřešit limitace detekční metody vrstev ILM a RPE/BM. Pro využití v klinické praxi dále navrhuji přeprogramování algoritmu do jiného programovacího jazyka. Přestože bylo pro algoritmus navrženo GUI, tak při instalaci aplikace vyžaduje stažení potřebného runtime systému MATLABu, což zvyšuje velikost instalačního balíčku.

Seznam použité literatury

[1] RYBKA, Jaroslav. *Diabetes mellitus - komplikace a přidružená onemocnění: diagnostické a léčebné postupy* [online]. 1. vyd. Praha: Grada, 2007 [cit. 2021-05-13]. ISBN 978-80-247-1671-8. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/diabetes-mellitus-komplikace-a-pridruzena-onemocneni-225534/

[2] Diabetes. *Mayo Clinic* [online]. Mayo Clinic Staff, 2018 [cit. 2020-08-07]. Dostupné z: https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/diabetes/symptoms-causes/syc-20371444

[3] NĚMEC, Pavel. Diabetický makulární edém. *Ophtalmology news* [online]. Praha, 2020 [cit. 2020-08-05]. Dostupné z: https://ophthalmology.euni.cz/clanek/6540-diabeticky-makularni-edem?bid=5

[4] DYLEVSKÝ, Ivan. *Funkční anatomie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-3240-4.

[5] ČIHÁK, Radomír. *Anatomie 3* [online]. Třetí, upravené a doplněné vydání. Ilustroval Ivan HELEKAL, ilustroval Jan KACVINSKÝ, ilustroval Stanislav MACHÁČEK. Praha: Grada, 2011-2016 [cit. 2021-05-13]. ISBN 978-80-247-9552-2. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/anatomie-3-224619/#

[6] SYNEK, Svatopluk a Šárka SKORKOVSKÁ. *Fyziologie oka a vidění* [online]. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada, 2014 [cit. 2020-08-03]. ISBN 978-80-247-3992-2. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/fyziologie-oka-a-videni-224614/

[7] SCANLON, Peter H. Diabetic retinopathy. *Medicine* [online]. 2019, **47**(2), 77-85 [cit. 2020-08-07]. ISSN 13573039. Dostupné z: doi:10.1016/j.mpmed.2018.11.013

[8] LALLY, David, Chirag SHAH a Jeffrey HEIER. Vascular endothelial growth factor and diabetic macular edema. *Survey of Ophthalmology* [online]. 2016, **61**(6), 759-768 [cit. 2020-08-05]. ISSN 00396257. Dostupné z: doi:10.1016/j.survophthal.2016.03.010

[9] DARUICH, Alejandra, Alexandre MATET, Alexandre MOULIN et al. Mechanisms of macular edema: Beyond the surface. *Progress in Retinal and Eye Research* [online]. 2018, **63**, 20-68 [cit. 2020-08-05]. ISSN 13509462. Dostupné z: doi:10.1016/j.preteyeres.2017.10.006

[10] SAEEDI, Pouya, Inga PETERSOHN, Paraskevi SALPEA et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice* [online]. 2019, **157**(2019), 1-10 [cit. 2020-08-08]. ISSN 01688227. Dostupné z: doi:10.1016/j.diabres.2019.107843

[11] Činnost oboru diabetologie, péče o diabetiky v roce 2013. *ÚZIS ČR* [online]. 2015, **2015**, 1-7 [cit. 2020-08-08]. Dostupné z: https://www.uzis.cz/sites/default/files/knihovna/ai_2015_02.pdf

[12] MAGGIO, Emilia, Mauro SARTORE, Marcella ATTANASIO, Giorgia MARAONE, Massimo GUERRIERO, Antonio POLITO a Grazia PERTILE. Anti–Vascular Endothelial Growth Factor Treatment for Diabetic Macular Edema in a Real-World Clinical Setting. *American Journal of Ophthalmology* [online]. 2018, **195**, 209-222 [cit. 2020-08-05]. ISSN 00029394. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajo.2018.08.004

[13] BHAGAT, Neelakshi, Ruben GRIGORIAN, Arthur TUTELA a Marco ZARBIN. Diabetic Macular Edema: Pathogenesis and Treatment. *Survey of Ophthalmology* [online]. 2009, **54**(1), 1-32 [cit. 2020-08-11]. ISSN 00396257. Dostupné z: doi:10.1016/j.survophthal.2008.10.001

[14] MOOKIAH, Muthu, U. ACHARYA, Hamido FUJITA, Jen TAN, Chua CHUA, Sulatha BHANDARY, Augustinus LAUDE a Louis TONG. Application of different imaging modalities for diagnosis of Diabetic Macular Edema: A review. *Computers in Biology and Medicine* [online]. 2015, **66**(12015), 295-315 [cit. 2020-08-11]. ISSN 00104825. Dostupné z: doi:10.1016/j.compbiomed.2015.09.012

[15] ABRAMOFF, Michael, Mona GARVIN a Milan SONKA. Retinal Imaging and Image Analysis. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering* [online]. 2010, **3**(1), 169-208 [cit. 2020-08-11]. ISSN 1937-3333. Dostupné z: doi:10.1109/RBME.2010.2084567

[16] SONKA, Milan a Michael ABRàMOFF. Quantitative analysis of retinal OCT. *Medical Image Analysis* [online]. 2016, **33**(2016), 165-169 [cit. 2020-08-15]. ISSN 13618415. Dostupné z: doi:10.1016/j.media.2016.06.001

[17] BREZINSKI, Mark E. *Optical coherence tomography: principles and applications* [online]. 1st. Boston: Academic Press, 2006 [cit. 2021-05-13]. ISBN 9780080464947. Dostupné z: https://ebookcentral.proquest.com/lib/cvut/detail.action?docID=274698

[18] FUJIMOTO, James, Costas PITRIS, Stephen BOPPART a Mark BREZINSKI. Optical Coherence Tomography: An Emerging Technology for Biomedical Imaging and Optical Biopsy. *Neoplasia* [online]. 2000, **2**(1-2), 9-25 [cit. 2020-08-16]. ISSN 14765586. Dostupné z: doi:10.1038/sj.neo.7900071

[19] SOSNA, T., R. ŠVANCAROVÁ, M. NETUKOVÁ a J. STUDNIČKA. Současný pohled na diabetický makulární edém. *Česká a Slovenská Oftalmologie* [online]. 2012, **68**(3), 91-97 [cit. 2020-08-16]. Dostupné z: https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-slovenska-oftalmologie/2012-3/soucasny-pohled-na-diabeticky-makularni-edem-39266/download?hl=cs

[20] YUNG, Madeline, Michael KLUFAS a David SARRAF. Clinical applications of fundus autofluorescence in retinal disease. *International Journal of Retina and Vitreous* [online].

2016, **2**(1), 1-25 [cit. 2020-08-16]. ISSN 2056-9920. Dostupné z: doi:10.1186/s40942-016-0035-x

[21] DE CARLO, Talisa, Andre ROMANO, Nadia WAHEED a Jay DUKER. A review of optical coherence tomography angiography (OCTA). *International Journal of Retina and Vitreous* [online]. 2015, **1**(1), 1-15 [cit. 2020-08-16]. ISSN 2056-9920. Dostupné z: doi:10.1186/s40942-015-0005-8

[22] MOLNÁROVÁ, Mária a Miroslava ZELNÍKOVÁ. Angio OCT - nová neinvazívna zobrazovacia vyšetrovacia metóda diagnostiky a monitoringu diabetickej retinopatie: Angio OCT - a new non-ivasive imaging examination method of diagnosing and monitoring of diabetic retinopathy. *Forum diabetologicum* [online]. Brno: Facta Medica, 2017, **6**(1), 11-18 [cit. 2021-05-13]. ISSN 1805-3807. Dostupné z: https://www.prolekare.cz/casopisy/forum-diabetologicum/2017-1/angio-oct-nova-neinvazivna-zobrazovacia-vysetrovacia-metoda-diagnostiky-a-monitoringu-diabetickej-retinopatie-60676

[23] LEE, Su, Jay CHHABLANI, Candy CHAN et al. Characterization of Microaneurysm Closure After Focal Laser Photocoagulation in Diabetic Macular Edema. *American Journal of Ophthalmology* [online]. 2013, **155**(5), 905-9122 [cit. 2020-08-26]. ISSN 00029394. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajo.2012.12.005

[24] FOGLI, Stefano, Selene MOGAVERO, Colin EGAN, Marzia DEL RE a Romano DANESI. Pathophysiology and pharmacological targets of VEGF in diabetic macular edema. *Pharmacological Research* [online]. 2016, **103**(), 149-157 [cit. 2020-08-27]. ISSN 10436618. Dostupné z: doi:10.1016/j.phrs.2015.11.003

[25] HAVLÍČKOVÁ, Zuzana. *Vliv šířky zornice na hloubku ostrosti* [online]. Kladno, 2016 [cit. 2021-03-27]. Dostupné z: https://dspace.cvut.cz/bitstream/handle/10467/67495/FBMI-BP-2016-Havlickova-Zuzana-prace.pdf?sequence=-1&isAllowed=y. Bakalářská práce. České vysoké učení technické v Praze, Fakulta Biomedicínského inženýrství.

[26] NĚMEC, Pavel, Veronika LÖFFLEROVÁ a Bohdan KOUSAL. *Optická koherenční tomografie: klinický atlas sítnicových patologií*. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Mladá fronta, 2017. ISBN 978-80-204-4414-1.

[27] KARAMPELAS, MICHAEL, DAWN SIM a PEARSE KEANE. Spectral-domain OCT of the RPE: Optical coherence tomography has evolved to the extent that we can now image the retinal microstructure. *Retinal Physician* [online]. [cit. 2021-01-01]. Dostupné z: https://www.retinalphysician.com/issues/2014/april-2014/spectral-domain-oct-of-the-rpe

[28] SEDLÁŘ, Martin. *Optická koherenční tomografie: (Optical Coherence Tomography – OCT)*. Biofyzikální ústav LF MU v Brně, 2013. Dostupné také z: https://www.med.muni.cz/biofyz/zobrazovacimetody/files/OCT.pdf

[29] *Spectralis Spectralis HRA + OCT, Spectralis HRA Spectralis OCT Hardware Operating Instructions*. 001. Heidelberg Engineering GmbH, Germany, 2007. Dostupné také z: https://cdn.ymaws.com/www.opsweb.org/resource/collection/8C09696C-D8CA-4647-A6BF-B0B83369CA24/Spectralis_Hardware_Operating_Manual.pdf

[30] Heidelberg Spectralis HRA + OCT. In: *Nava Ophtalmic* [online]. [cit. 2021-02-11]. Dostupné z: https://navaophthalmic.com/product/spectralis-hra-oct/

[31] Cirrus HD-OCT 5000. In: *Nava Ophtalmic* [online]. [cit. 2021-02-13]. Dostupné z: https://navaophthalmic.com/product/cirrus-hd-oct-5000/

[32] *Cirrus HD-OCT: Uživatelská příručka - Modely 500, 5000*. Dublin, 2015. Dostupné také z: https://eregpublicsecure.ksrzis.cz/Registr/RZPRO/ZdravotnickyProstredek/Detail/68615

[33] PAVLÍK, Tomáš a Ladislav DUŠEK. *Biostatistika*. Vyd. 1. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2012. ISBN 978-80-7204-782-6.

[34] MARTIN BLAND, J. a DouglasG. ALTMAN. STATISTICAL METHODS FOR ASSESSING AGREEMENT BETWEEN TWO METHODS OF CLINICAL MEASUREMENT. *The Lancet* [online]. 1986, **327**(8476), 307-310 [cit. 2021-05-13]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(86)90837-8

[35] ALSAAD, Mouna, Amjad SHATARAT a Saif ALRYALAT. Normative values of the retinal macular thickness in a middle eastern population. *BMC Ophthalmology* [online]. 2020, **20**(1) [cit. 2021-04-22]. ISSN 1471-2415. Dostupné z: doi:10.1186/s12886-020-01391-3

[36] Effects of Intravitreal Ranibizumab for Macular Edema With Nonproliferative Diabetic Retinopathy. *Clinical Trials* [online]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine, 2020 [cit. 2021-04-25]. Dostupné z: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02834663

[37] The first FDA-approved anti-VEGF for diabetic retinopathy (DR) with or without DME. *Lucentis: Ranibizumab injection* [online]. [cit. 2021-04-26]. Dostupné z: https://www.lucentis.com/hcp/dr/efficacy.html

[38] EYLEA Achieved Rapid, Sustained Outcomes in DME. *Eylea: (Aflibercept) injection* [online]. [cit. 2021-04-26]. Dostupné z: https://hcp.eylea.us/about/dme-diabetic-macular-edema-vision-outcomes

[39] Diabetic macular edema. *Mayo Clinic* [online]. Mayo Foundation for Medical Education and Research [cit. 2020-08-05]. Dostupné z: https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/diabetic-retinopathy/multimedia/diabetic-macular-edema/img-20124558

Seznam příloh

Příloha A	Naměřená data zrakové ostrosti	71
Příloha B1	Souhlas etické komise	72
Příloha B2	Informovaný souhlas	75
Příloha C	Karta probanda	77
Příloha D	Protokol měření	78
Příloha E	Verifikace měření algoritmem DME Analyzer	84
Příloha F	Obsah souboru příloh	85

Příloha A: Naměřená data zrakové ostrosti

Tabulka 1 Naměřené hodnoty CRT v průběhu loadingové fáze anti-VEGF léčby v komparaci s hodnotami písmen zrakové ostrosti dle ETDRS

	CRT (µm)			Visus (ETDRS)		
ID	**1.návštěva**	**4. návštěva**	**Rozdíl**	**1.návštěva**	**4. návštěva**	**Rozdíl**
1	336	323	**13**	69	78	**9**
1	374	351	**23**	60	78	**18**
2	352	509	**-157**	37	48	**11**
2	462	443	**19**	67	69	**2**
3	558	263	**295**	42	45	**3**
3	331	268	**63**	65	60	**-5**
5	355	312	**43**	68	83	**15**
101	405	362	**43**	51	39	**-12**
102	741	594	**147**	50	50	**0**
102	843	486	**357**	34	40	**6**
103	440	227	**213**	50	66	**16**
104	523	223	**300**	58	56	**-2**
104	463	252	**211**	49	53	**4**
106	432	315	**117**	58	64	**6**
107	646	653	**-7**	44	47	**3**
107	607	532	**75**	57	59	**2**
108	429	277	**152**	55	67	**12**
109	473	445	**28**	67	74	**7**
110	410	316	**94**	60	54	**-6**
111	395	346	**49**	45	60	**15**
112	433	312	**121**	45	59	**14**
112	322	307	**15**	77	78	**1**
113	339	328	**11**	80	71	**-9**

Příloha B1: Souhlas etické komise

ÚVN
ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

ETICKÁ KOMISE ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÉ NEMOCNICE – VOJENSKÉ FAKULTNÍ NEMOCNICE PRAHA
Ethics Committee of the Central Military Hospital Prague
U vojenské nemocnice 1200, 169 02 Praha 6 ☎ 973 203 550 973 208 386 eticka.komise@uvn.cz
www.uvn.cz

STANOVISKO ETICKÉ KOMISE K PROJEKTU VVI

OPINION OF THE ETHICS COMMITTEE ON RESEARCH PROJECT

Název projektu a stručně cíl projektu / *Full Title of the Project and short message:*

Měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem

Řešitel (Příjmení, Jméno, Titul, Adresa instituce) / *Applicant (Surname, Name, Title, Adress of Institution):*

Bc. Stanislav Moravec, Oddělení zdravotní techniky ÚVN, student ČVUT v Praze

Uchazeč (Název, Adresa) / *Sponsor (Name, Adress):*

Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze, nám. Sítná 3105, 272 01 Kladno 2

Projekt má charakter klinického hodnocení léku - nutno doložit žádost na SUKL, pojištění studie ☐
Project has the characteristics of clinical trial on human medicinal product-regulatory body approval and insurance required

Projekt má charakter experimentu na zvířeti - je nutno požádat o stanovisko veterinární etické komise ☐
Project has the characteristics of animal trial - opinion of EC for animal trials required

Jedná se o klinickou intervenční studii (vyšetření navíc, odběr navíc, randomizace, užití placeba apod.) ☐
The charasteristics of the trial is interventional (extra samples, diagnostics procedure, randomisation or use of placebo)

Jedná se o běžný, neintervenční postup - observační studie / *The study is non-interventional (observative)* ☒

Etická komise ÚVN zde potvrzuje text Informovaného souhlasu pacienta/osoby zařazené do výzkumného souboru ☒

Etická komise ÚVN potvrzuje, že daný projekt není v rozporu s ochranou lidských bytostí ☒

1

Seznam hodnocených dokumentů: název, verze, datum / *List of all submitted documents: Document title, version, date*

Seznam hodnocených dokumentů: název, verze, datum *List of all submitted documents: Document title, version, date*	Schváleno *Approved*		Na vědomí *Due notice*	
	Ano *Yes*	Ne *No*	Ano *Yes*	Ne *No*
Dotazník Etické komise	☒	☐	☐	☐
Informovaný souhlas se zařazením do studie	☒	☐	☐	☐
Popis projektu	☒	☐	☐	☐

EK vydává / *EC issues* ☒ **souhlasné stanovisko / *favourable opinion***

☐ nesouhlasné stanovisko / *not favourable*

Datum přijetí / *Date of Submission:* 27.7.2020 **Jednací číslo / Reference Number: 108/15-78/2020**

Datum jednání EK / *Date of EC Session:* 21.9.2020

Etická komise prohlašuje, že byla ustavena a pracuje podle jednacího řádu v souladu se správnou klinickou praxí (GCP) a platnými předpisy / *The Ethics committee hereby declares that it was established and operates in accordance with its Rules of Procedure in compliance with Good Clinical Practice (GCP) and valid legal regulations.*

21.9.2020
Datum / *Date*

Předseda EK / *Chairman of the EC*
doc. MUDr. Ing. Jaroslav Plas

Podpis předsedy EK / *Signature of Chairman the EC*

Přiložen Seznam členů Etické komise / *List of the IEC members see attached document* ☒

2

Seznam členů Etické komise / *List of the IEC members*

Jméno a příjmení *Name and Surname*	Muž / Žena *Male / Female*	Odbornost *Occupation*	Závislost *Liability*	Hlasoval *Voted*
doc. MUDr. Ing. Jaroslav Plas	M	Gastroenterologie	☒	☒
Mgr. Matyáš Monhart	M	Právo a právní věda	☒	☒
MUDr. Petr Hrabal	M	Patologická anatomie	☒	☒
MUDr. Zdeněk Šňupárek	M	Soudní lékařství	☒	☐
MUDr. Luboš Zach	M	Anesteziologie a intenzivní medicína	☒	☐
MUDr. Svatopluk Solař	M	Diabetologie	☒	☒
MUDr. Libor Kameník, Ph.D.	M	Kardiologie	☒	☒
mjr. Mgr. Jan Blažek	M	Teologie	☒	☒
Mgr. Martina Němečková	F	Pedagogika a ošetřovatelství	☒	☒
plk. PhDr. Jiří Klose, Ph.D.	M	Klinická psychologie	☒	☒
prof. MUDr. Mojmír Kasalický, CSc.	M	Chirurgie	☒	☐
MUDr. Petr Výborný, CSc. FEBO	M	Oftalmologie	☐	☒
doc. MUDr. Bohumil Seifert, Ph.D.	M	Všeobecné praktické lékařství	☐	☒
MUDr. Tomáš Hnátek	M	Kardiologie	☒	☒
doc.MUDr. Štěpán Suchánek	M	Gastroenterologie	☒	☐

21.9.2020
Datum / *Date*

Předseda EK / *Chairman of the EC*
doc. MUDr. Ing. Jaroslav Plas

Podpis předsedy EK / *Signature of Chairman the EC*

3

Příloha B2: Informovaný souhlas

ÚVN
ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ ČVUT V PRAZE

Informovaný souhlas se zařazením do studie

Měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem

Vážená pacientko, vážený paciente,

na oční klinice 1. LF UK a ÚVN právě probíhá studie zaměřená na měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem. Vzhledem ke skutečnosti, že právě začínáte s anti-VEGF léčbou tohoto onemocnění, bych Vás touto formou chtěl oslovit s nabídkou účasti v této studii.

Účel studie

Cílem této studie je měření centrální retinální tloušťky v závislosti na počtu aplikovaných nitroočních injekcích anti-VEGF během loadingové fáze *(interval prvních čtyř návštěv, během kterých Vám budou aplikovány tři injekce anti-VEGF)*, za účelem zjištění, zdali po loadingové fázi dojde ke snížení centrální retinální tloušťky o 25 %. Zároveň je ověřována skutečnost, zdali rozdíly centrální retinální tloušťky měřené na dvou přístrojích nepřesahují hladinu 5 %.

Účelem studie je tedy zjištění dopadu aplikace nitroočních injekcí anti-VEGF na centrální retinální tloušťku, ale také komparace výpočtu tohoto parametru dvou různých přístrojů.

Základní informace o studii

V rámci loadingové fáze léčby diabetického makulárního edému Vás čekají čtyři návštěvy, přičemž při prvních třech Vám bude aplikována nitrooční injekce anti-VEGF. Každou aplikaci předchází diagnostické vyšetření pomocí optické koherenční tomografie na přístroji HRA+OCT Spectralis na základě kterého je zjištěn efekt této léčby. Účast v této studii nad rámec běžné návštěvy spočívá v provedení dalšího diagnostického vyšetření na přístroji Cirrus HD-OCT 5000 při první návštěvě, tedy před aplikací první injekce, a při čtvrté návštěvě, tedy po aplikaci všech tří injekcí. Doplňkové vyšetření na přístroji Cirrus HD-OCT 5000 je také založeno na principu optické koherenční tomografie, což je neinvazivní diagnostické vyšetření pro zobrazení sítnice pomocí laserového paprsku.

Průběh studie

Při **první návštěvě** s Vámi bude vyplněn tento informovaný souhlas a karta probanda. Před podepsáním informovaného souhlasu budete odborným pracovníkem informován/a o cíli a průběhu studie. Následně Vám bude provedeno diagnostické vyšetření na přístroji HRA+OCT Spectralis a přístroji Cirrus HD-OCT 5000. Výsledky budou zpracovány odborným pracovníkem a vyhodnoceny lékařem. **Při druhé a třetí návštěvě** Vám bude provedeno pouze diagnostické vyšetření na přístroji HRA+OCT Spectralis. Výsledky budou opět zpracovány odborným pracovníkem a vyhodnoceny lékařem. **Při čtvrté návštěvě** Vám bude opět provedeno vyšetření na obou přístrojích, tedy na HRA+OCT Spectralis i Cirrus HD-OCT 5000. Výsledky budou zpracovány odborným pracovníkem a vyhodnoceny lékařem. Tímto pro Vás bude účast ve studii končit. Ze studie máte právo kdykoliv a bez udání důvodu odstoupit.

Možný přínos a rizika spojené s účastí v této studii

Možným přínosem této studie je zjištění dopadu intravitreální terapie injekcemi anti-VEGF na centrální retinální tloušťku u pacientů s diabetickým makulárním edémem, ale také komparace dvou OCT přístrojů z hlediska výpočtu centrální retinální tloušťky. S účastí v této studii nejsou spojena žádná rizika ani nežádoucí účinky. Do studie se mohou zapojit pouze pacienti, kteří vstupují do loadingové fáze intravitreální léčby anti-VEGF, a tudíž splnili indikační kritéria této léčby.

Měření v rámci této studie nijak neovlivňuje průběh Vaší léčby. Vaše dobrovolná účast v této studii přispívá pouze dosažení cíle této akademické studie. Pokud se rozhodnete zúčastnit této studie, budete požádáni o podepsání tohoto informovaného souhlasu a dostanete jeho kopii. Podpisem tohoto dokumentu souhlasíte s účastí v této studii a umožníte nahlédnutí odpovědnému odbornému pracovníkovi do Vaší zdravotní dokumentace a zpracování naměřených dat z přístrojů HRA+OCT Spectralis a Cirrus HD-OCT 5000 včetně následného zveřejnění výsledků v rámci akademické studie. Osobní údaje nebudou nikde zveřejňovány a nakládání s nimi se řídí platnou legislativou České republiky, včetně Obecného nařízení o ochraně osobních údajů (GDPR). V rámci studie jsou identifikační údaje nahrazeny identifikačním číslem přiděleném v kartě probanda, která s Vámi bude vyplněna při vstupu do studie.

Informace pro pacientku/pacienta:

1. Přečtěte si laskavě pozorně obě strany tohoto listu.
2. Pokud jste plně nerozuměl/a vysvětlení odpovědného odborného pracovníka, nebo pokud potřebujete doplňující informace, neváhejte se odpovědného odborného pracovníka zeptat.
3. Pokud souhlasíte s účastí ve studii, podepište tento Informovaný souhlas

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem byl/a odborným pracovníkem informován/a o plánovaném měření, jeho možných přínosech i rizikách. Měl/a jsem možnost klást doplňující dotazy ohledně vstupu do studie a v případě, že tato situace nastala, tak veškeré dotazy byly plně zodpovězeny. Prohlašuji a svým vlastnoručním podpisem stvrzuji, že souhlasím se vstupem do studie, že jsem plně porozuměl/a výše uvedenému poučení, že souhlasím s provedením měření, že souhlasím s nahlížením níže uvedené osoby do své zdravotnické dokumentace a zpracováním naměřených dat včetně následného zveřejnění výsledků v rámci studie a publikací.

.....

Datum, jméno, příjmení a podpis odborného pracovníka

.....

Datum, jméno, příjmení a podpis pacientky/pacienta

Příloha C: Karta probanda

ÚVN ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE Vojenská fakultní nemocnice Praha

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ ČVUT V PRAZE

Karta Probanda

Měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem

ID probanda:

Základní údaje

Jméno:	Rodné číslo:
Příjmení:	Datum narození:
Pohlaví:	Věk:

Zdravotní stav

Diabetes Mellitus	**I. typu** ☐	**II. typu** ☐	Terapie	**Inzulin** ☐	**PAD** ☐
Hodnota HbA1c [mmol · mol^{-1}]:			Hodnota kreatininu [µmol · l^{-1}]:		
Hodnota krevního tlaku [mmHg]:			Délka trvání DME:		

	Ano	**Ne**
Proliferativní diabetická retinopatie	☐	☐
CRT větší než 300 µm	☐	☐
Stav po iktu	☐	☐

Údaje o terapii

Léčené oko	**Pravé** ☐	**Levé** ☐
Použitý preparát	**Eylea** ☐	**Lucentis** ☐

Zaznamenal: **Dne:**

1

Příloha D: Protokol měření

ÚVN
ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ ČVUT V PRAZE

Protokol měření na probandovi

Měření centrální retinální tloušťky u pacientů s diabetickým makulárním edémem

ID probanda:	

Personální zajištění

Pracovník	Popis činnosti	Jméno a příjmení
Zkoušející	Řízení chodu měření, vyplnění karty probanda, poučení pacienta, vyplnění protokolu	
Obsluha OCT přístroje HRA+OCT Spectralis	Pořízení snímků na přístroji HRA+OCT Spectralis	
Obsluha OCT přístroje Cirrus HD-OCT 5000	Pořízení snímků na přístroji Cirrus HD-OCT 5000	

Technické zajištění

Přístroj	Model přístroje	Sériové číslo	Připraven
OCT přístroj	HRA+OCT Spectralis	02063-S3300	☐
Řídící počítač			☐
OCT přístroj	Cirrus HD-OCT 5000	5000-18906	☐

Materiální zajištění

Materiál	Připraven
Dezinfekční ubrousky	☐
Dezinfekce na ruce	☐

ID probanda:

Příprava měření

Následující kroky je nutné provést před měřením prvního pacienta v daný den.

- ☐ Příprava přístroje HRA+OCT Spectralis
  - ☐ Zapnutí přístroje
  - ☐ Splnění všech auto testů přístroje
  - ☐ Zapnutí řídícího počítače
  - ☐ Spuštění ovládacího softwaru přístroje
  - ☐ Spojení přístroje s ovládacím softwarem
- ☐ Příprava přístroje Cirrus HD-OCT 5000
  - ☐ Zapnutí přístroje
  - ☐ Splnění všech auto testů
  - ☐ Spuštění ovládacího softwaru přístroje

První návštěva

Datum měření:	Vizus:	Místo měření:	Měření provedl:

- ☐ Převzetí karty pacienta od zdravotní sestry přidělené k ambulanci zajišťující aplikace injekcí anti-VEGF
- ☐ Poučení probanda o průběhu experimentu, jeho potenciálního přínosu a rizikách
- ☐ Převzetí podepsaného informovaného souhlasu od probanda
- ☐ Kontrola shody identifikačního kódu (ID) mezi protokolem a kartou probanda
- ☐ Měření na přístroji HRA+OCT Spectralis
  - ☐ Nastavení výšky hydraulického stolku s přístrojem tak, aby proband mohl opřít bradu a čelo do opěrky přístroje
  - ☐ Nastavení výšky opěrky brady tak, aby koutek oka probanda byl v rovině s optimální ryskou přístroje
  - ☐ Vyhledání elektronické karty pacienta podle jména, příjmení a data narození v ovládacím softwaru přístroje
  - ☐ Zapnutí zdroje světelného paprsku
  - ☐ Zaměření světelného paprsku na makulu pravého oka a zvolení režimu snímání OCT
  - ☐ Zaostření snímku pomocí změny dioptrií čočky
  - ☐ Snímání příčného řezu pravého oka
  - ☐ Snímání tomografického rastru pravého oka
  - ☐ Zaměření světelného paprsku na makulu levého oka
  - ☐ Zaostření snímků pomocí změny dioptrií čočky
  - ☐ Snímání příčného řezu levého oka
  - ☐ Snímání tomografického rastru levého oka
  - ☐ Vypnutí zdroje světelného paprsku
  - ☐ Dezinfekce opěrky
- ☐ Měření na přístroji Cirrus HD-OCT 5000
  - ☐ Nastavení výšky hydraulického stolku s přístrojem tak, aby proband mohl opřít bradu a čelo do opěrky přístroje

ID probanda:

- ☐ Vyhledání elektronické karty pacienta podle jména, příjmení a data narození v ovládacím softwaru přístroje
- ☐ Zapnutí zdroje světelného paprsku
- ☐ Zaměření makuly pravého oka pomocí pohybu s opěrkou přístroje
- ☐ Zaostření snímku pomocí změny dioptrií čočky
- ☐ Snímání módu Macular Cube 512x128 pravého oka
- ☐ Zaměření makuly levého oka pomocí pohybu s opěrkou přístroje
- ☐ Zaostření snímku pomocí změny dioptrií čočky
- ☐ Snímání módu Macular Cube 512x128 levého oka
- ☐ Vypnutí zdroje světelného paprsku
- ☐ Dezinfekce opěrky

☐ Analýza centrální retinální tloušťky pomocí softwaru výrobce na základě snímků z přístroje HRA+OCT Spectralis

Naměřená centrální retinální tloušťka přístrojem HRA+OCT Spectralis [μm]	
OP:	OL:

☐ Uložení příčného řezu makulou z přístroje HRA+OCT Spectralis na pevný disk ve formátu *DME_UVN_ID_léčené oko_číslo návštěvy.jpg*

☐ Analýza centrální retinální tloušťky pomocí softwaru výrobce na základě snímků z přístroje Cirrus HD-OCT 5000

Naměřená centrální retinální tloušťka přístrojem Cirrus HD-OCT 5000 [μm]	
OP:	OL:

Druhá návštěva

Datum měření:	**Vizus:**	**Místo měření:**	**Měření provedl:**

☐ Převzetí karty pacienta od zdravotní sestry přidělené k ambulanci zajišťující aplikace injekcí anti-VEGF

☐ Měření na přístroji HRA+OCT Spectralis

- ☐ Nastavení výšky hydraulického stolku s přístrojem tak, aby proband mohl opřít bradu a čelo do opěrky přístroje
- ☐ Nastavení výšky opěrky brady tak, aby koutek oka probanda byl v rovině s optimální ryskou přístroje
- ☐ Vyhledání elektronické karty pacienta podle jména, příjmení a data narození v ovládacím softwaru přístroje
- ☐ Zapnutí zdroje světelného paprsku
- ☐ Zaměření světelného paprsku na makulu pravého oka a zvolení režimu snímání OCT
- ☐ Zaostření snímku pomocí změny dioptrií čočky
- ☐ Snímání příčného řezu pravého oka
- ☐ Snímání tomografického rastru pravého oka

ID probanda:

- ☐ Zaměření světelného paprsku na makulu levého oka
- ☐ Zaostření snímků pomocí změny dioptrií čočky
- ☐ Snímání příčného řezu levého oka
- ☐ Snímání tomografického rastru levého oka
- ☐ Vypnutí zdroje světelného paprsku
- ☐ Dezinfekce opěrky

☐ Analýza centrální retinální tloušťky pomocí softwaru výrobce na základě snímků z přístroje HRA+OCT Spectralis

Naměřená centrální retinální tloušťka přístrojem HRA+OCT Spectralis [*μm*]	
OP:	OL:

Třetí návštěva

Datum měření:	**Vizus:**	**Místo měření:**	**Měření provedl:**

☐ Převzetí karty pacienta od zdravotní sestry přidělené k ambulanci zajišťující aplikace injekcí anti-VEGF

☐ Měření na přístroji HRA+OCT Spectralis
- ☐ Nastavení výšky hydraulického stolku s přístrojem tak, aby proband mohl opřít bradu a čelo do opěrky přístroje
- ☐ Nastavení výšky opěrky brady tak, aby koutek oka probanda byl v rovině s optimální ryskou přístroje
- ☐ Vyhledání elektronické karty pacienta podle jména, příjmení a data narození v ovládacím softwaru přístroje
- ☐ Zapnutí zdroje světelného paprsku
- ☐ Zaměření světelného paprsku na makulu pravého oka a zvolení režimu snímání OCT
- ☐ Zaostření snímku pomocí změny dioptrií čočky
- ☐ Snímání příčného řezu pravého oka
- ☐ Snímání tomografického rastru pravého oka
- ☐ Zaměření světelného paprsku na makulu levého oka
- ☐ Zaostření snímků pomocí změny dioptrií čočky
- ☐ Snímání příčného řezu levého oka
- ☐ Snímání tomografického rastru levého oka
- ☐ Vypnutí zdroje světelného paprsku
- ☐ Dezinfekce opěrky

☐ Analýza centrální retinální tloušťky pomocí softwaru výrobce na základě snímků z přístroje HRA+OCT Spectralis

Naměřená centrální retinální tloušťka přístrojem HRA+OCT Spectralis [*μm*]	
OP:	OL:

ID probanda:

Čtvrtá návštěva

Datum měření:	Vizus:	Místo měření:	Měření provedl:

- ☐ Převzetí karty pacienta od zdravotní sestry přidělené k ambulanci zajišťující aplikace injekcí anti-VEGF
- ☐ Měření na přístroji HRA+OCT Spectralis
  - ☐ Nastavení výšky hydraulického stolku s přístrojem tak, aby proband mohl opřít bradu a čelo do opěrky přístroje
  - ☐ Nastavení výšky opěrky brady tak, aby koutek oka probanda byl v rovině s optimální ryskou přístroje
  - ☐ Vyhledání elektronické karty pacienta podle jména, příjmení a data narození v ovládacím softwaru přístroje
  - ☐ Zapnutí zdroje světelného paprsku
  - ☐ Zaměření světelného paprsku na makulu pravého oka a zvolení režimu snímání OCT
  - ☐ Zaostření snímku pomocí změny dioptrií čočky
  - ☐ Snímání příčného řezu pravého oka
  - ☐ Snímání tomografického rastru pravého oka
  - ☐ Zaměření světelného paprsku na makulu levého oka
  - ☐ Zaostření snímků pomocí změny dioptrií čočky
  - ☐ Snímání příčného řezu levého oka
  - ☐ Snímání tomografického rastru levého oka
  - ☐ Vypnutí zdroje světelného paprsku
  - ☐ Dezinfekce opěrky
- ☐ Měření na přístroji Cirrus HD-OCT 5000
  - ☐ Nastavení výšky hydraulického stolku s přístrojem tak, aby proband mohl opřít bradu a čelo do opěrky přístroje
  - ☐ Vyhledání elektronické karty pacienta podle jména, příjmení a data narození v ovládacím softwaru přístroje
  - ☐ Zapnutí zdroje světelného paprsku
  - ☐ Zaměření makuly pravého oka pomocí pohybu s opěrkou přístroje
  - ☐ Zaostření snímku pomocí změny dioptrií čočky
  - ☐ Snímání módu Macular Cube 512x128 pravého oka
  - ☐ Zaměření makuly levého oka pomocí pohybu s opěrkou přístroje
  - ☐ Zaostření snímku pomocí změny dioptrií čočky
  - ☐ Snímání módu Macular Cube 512x128 levého oka
  - ☐ Vypnutí zdroje světelného paprsku
  - ☐ Dezinfekce opěrky

ID probanda:

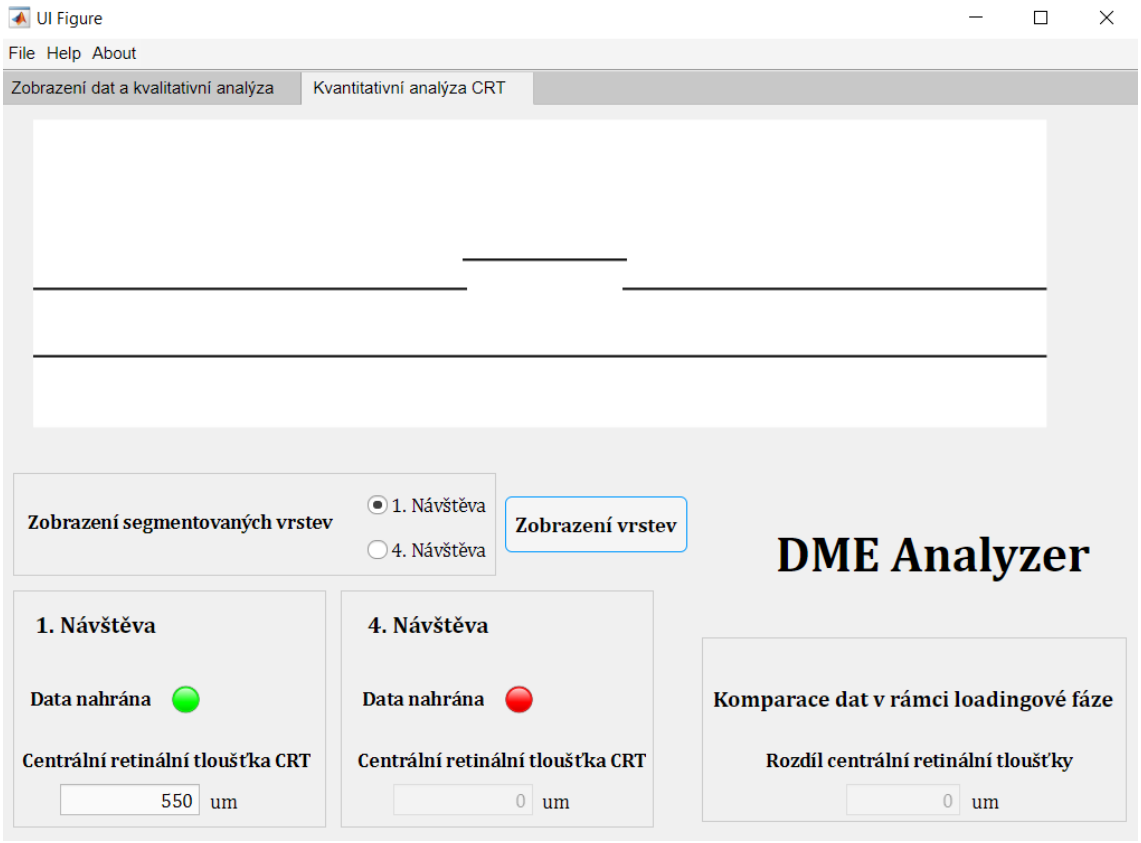
- ☐ Analýza centrální retinální tloušťky pomocí softwaru výrobce na základě snímků z přístroje HRA+OCT Spectralis

Naměřená centrální retinální tloušťka přístrojem HRA+OCT Spectralis [*µm*]	
OP:	OL:

- ☐ Uložení příčného řezu makulou z přístroje HRA+OCT Spectralis na pevný disk ve formátu *DME_UVN_ID_léčené oko_číslo návštěvy.jpg*
- ☐ Analýza centrální retinální tloušťky pomocí softwaru výrobce na základě snímků z přístroje Cirrus HD-OCT 5000

Naměřená centrální retinální tloušťka přístrojem Cirrus HD-OCT 5000 [*µm*]	
OP:	OL:

Příloha E: Verifikace měření algoritmem DME Analyzer



Obrázek 1 Verifikace správnosti měření CRT algoritmem DME Analyzer pomocí testovacího obrazce. Obrázek: Autor

Příloha F: Seznam příloh přiloženého souboru

Adresáře:

- DME Analyzer _ aplikace
- DME Analyzer _ výchozí MATLAB skripty
- Numerické zpracování dat
- Obrazová data

Soubory v PDF:

- Abstrakt v anglickém jazyce
- Abstrakt v českém jazyce
- Klíčová slova (v českém i anglickém jazyce)
- Naskenované zadání diplomové práce