

# *Wprowadzenie do angiografii indocyjaninowej*

Angiografia fluorescencyjna indocyjaninowa (ICG) została wprowadzona i zaprezentowana w 1973 r. przez Roberta W. Flowera i Bernarda F. Hochheimera<sup>1</sup>, ale powszechne zastosowanie kliniczne znalazła dopiero we wczesnych latach 90. Angiografia indocyjaninowa (ICG) zapewnia lepsze całkowite uwidocznienie krążenia naczyniówkowego w porównaniu z angiografią fluoresceinową, ponieważ fale w zakresie bliskiej podczerwieni, które są emitowane przez zielen indocyjaninową, łatwiej przenikają przez pigmentowane tkanki oka niż światło widzialne związane z fluoresceiną. Ponadto cząsteczki indocyjaniny wolniej niż cząsteczki fluoresceiny wydostają się poza naczynia krążenia naczyniówkowego.

Pierwotnie technika ta okazała się jednak zbyt trudna, ponieważ wykorzystywała do zapisu odbitek czarno-biały film o wysokiej prędkości, wrażliwy na podczerwień. Główną wadą było ustalenie optymalnej ekspozycji filmu dla szerokiego zakresu pigmentacji oczu.

Mimo że techniczne trudności związane z angiografią ICG zostały w dużej mierze przezwyciężone wraz z wprowadzeniem zapisu wideoangiogramu<sup>2</sup>, jednak kliniczne zastosowanie metody wzrosło znacząco dopiero od momentu wykorzystania jej w badaniach dotyczących neowaskularyzacji naczyniówkowej (zwłaszcza w bardzo późnych fazach angiogramu, 30-60 min po iniekcji barwnika)<sup>3, 4</sup>.

Obecnie wczesne fazy angiogramu ICG są wykorzystywane także do badania krążenia naczyniówkowego<sup>5, 6</sup>. Kliniczne zastosowanie angiografii naczyniówkowej jest nadal w stadium początkowym i wiele pozostaje do wyjaśnienia, jeśli chodzi o budowę naczyń-ki i interakcje między indocyjaniną a tkankami. Pewne stany patologiczne, jak np. przetoka między tętnicą szyjną wewnętrzną i zatoką jamistą, są badane we wczesnej angiografii ICG. Te badania znacznie poszerzają naszą wiedzę o hemodynamice krążenia naczyniówkowego<sup>7</sup>.

Zgodę Urzędu ds. Żywności i Leków (*Food and Drug Administration*) na użycie zieleni indocyjaninowej w okulistyce uzyskano w 1975 roku<sup>8</sup>. Do połowy lat 90. wiele różnych firm zaczęło wprowadzać na rynek aparaty do badania dna oka, z możliwością zastosowania angiografii indocyjaninowej. Gdy tylko niezbędne narzędzia stały się dostępne i zwiększyła się liczba stosujących je lekarzy, gwałtownie rozszerzył się zakres chorób badanych przy użyciu angiografii ICG. Dzisiaj wielu okulistów klinicznych uznaje angiografię indocyjaninową za przydatną technikę wspomagającą angiografię fluoresceinową.

Interpretacja angiogramów ICG jest złożona i wymaga bardziej analitycznego podejścia niż w przypadku angiografii fluoresceinowej, która jest metodą opierającą się na rozpozna-

waniu wzorów fluorescencji. Farmakokinetyka zieleni indocyjaninowej i fizjologia naczyniówkowego przepływu krwi stanowią podstawę do interpretacji angiogramu ICG.

Ten rozdział ma umożliwić zrozumienie podstawowych zasad tkwiących u podstaw wykonywania i interpretacji angiogramów ICG, a także służyć jako przegląd bieżących, głównych zastosowań klinicznych tej techniki. Przedstawiono tu przykłady jej zastosowania, takie jak np. wykrywanie ukrytej neowaskularyzacji naczyniówkowej.

### 3.1

#### CHARAKTERYSTYKA ZIELENI INDOCYJANINOWEJ

Zieleń indocyjaninowa to barwnik trikarbocyjaninowy występujący w formie sterylnego, liofilizowanego proszku. ICG zawiera mniej niż 5% jodku sodu w celu wzmocnienia jej rozpuszczalności i jest zaopatrzona w wodny rozpuszczalnik. W stanie rozpuszczenia jej pH wynosi 5,5-6,5. W postaci wodnej ICG ma ograniczoną stabilność. Wodny roztwór barwnika, po bezpośredniej ekspozycji na jasne światło (47 stóp - kandel), rozkłada się w ok. 10% w ciągu 10 godzin. Dlatego też barwnik powinien być zużyty w ciągu 10 godz. po rozpuszczeniu. Kiedy zieleń indocyjaninowa zostaje związana z białkami, staje się wysoce stabilna.

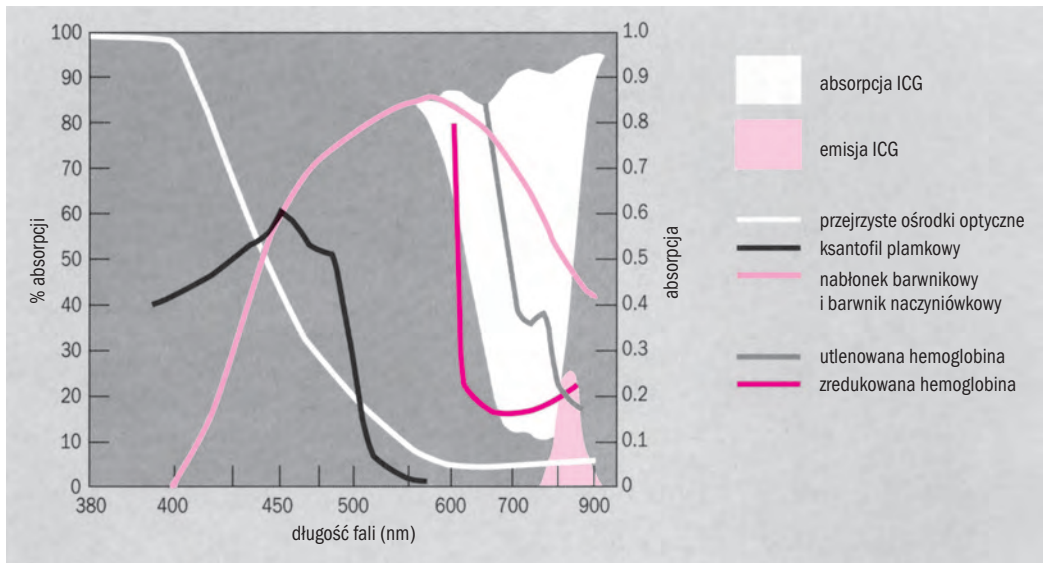
Po podaniu 98% ICG szybko wiąże się z białkami osocza. W surowicy ludzkiej krwi jest ona w 80% związana z globulinami, prawdopodobnie alfa-1-lipoproteinami<sup>9-11</sup>. Krążąca ICG jest usuwana z osocza wyłącznie przez wątrobę i wydzielana do żółci w postaci niezmienniej<sup>7</sup>. Nie jest ponownie wchłaniana z jelita i nie bierze udziału w krążeniu jelitowo-wątrobowym (z żółci psów odzyskano w postaci niezmetabolizowanej około 97% podanej zieleni indocyjaninowej<sup>12</sup>). ICG pojawia się w limfie

niezależnie od żółci w przypadku zablokowania dróg żółciowych, co sugeruje, że nienaruszona błona śluzowa dróg żółciowych dostatecznie zapobiega dyfuzji barwnika<sup>13</sup>. Z powodu silnego wiązania się ICG z białkami nie stwierdza się wydzielania barwnika przez nerki<sup>8</sup>. Nie został on także wykryty w płynie mózgowo-rdzeniowym<sup>11</sup> ani też nie stwierdzono jego przenikania przez łożysko.

Badania przeprowadzone na ludziach nie ujawniły toksycznego działania przy dawkach 5 mg/kg m.c.<sup>14</sup>, a w przesiewowym teście Amesa nie ujawniono działania mutagennego. Zanotowano 20 przypadków umiarkowanych, ciężkich lub śmiertelnych reakcji niepożądanych na podaną zieleń indocyjaninową<sup>12</sup>, ale związek między dawką a częstością wystąpienia tego typu reakcji jest nieznanym<sup>15</sup>.

Częstość występowania łagodnych reakcji niepożądanych na ICG wynosi 0,15%, umiarkowanych - 0,2 %, a ciężkich - 0,05%<sup>16</sup>. Zanotowane przypadki śmierci po podaniu ICG stanowią 1 na 333 333, a więc znacznie mniej niż po podaniu fluoresceiny (1 na 222 000)<sup>17</sup>. Z tego powodu ICG jest stosunkowo bezpiecznym barwnikiem. Ponieważ zieleń indocyjaninowa zawiera jod, powinna być ostrożnie stosowana u pacjentów uczulonych na ten pierwiastek. Podczas stosowania zieleni indocyjaninowej, tak samo jak w przypadku użycia fluoresceiny, powinny być dostępne odpowiednie przyrządy do resuscytacji krążeniowo-oddechowej i właściwie wyszkolony personel medyczny.

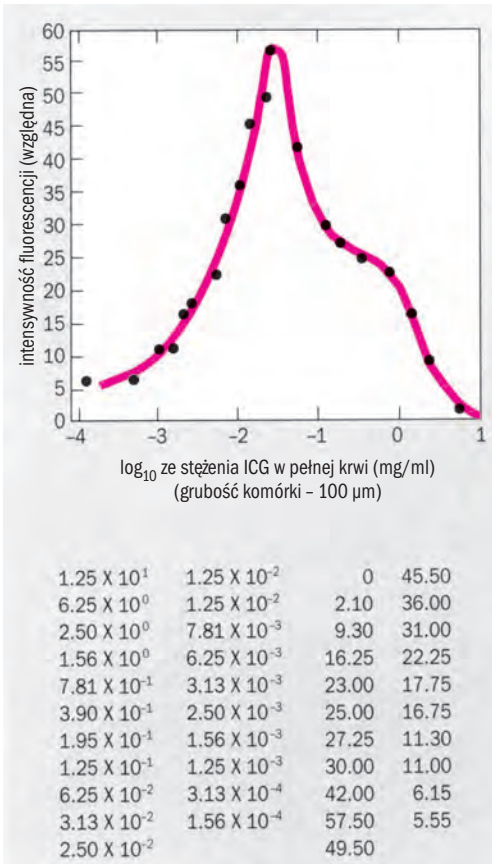
Zieleń indocyjaninowa absorbuje światło i fluoryzuje w rejonie bliskiej podczerwieni. Szczytowa absorpcja wynosi ok. 805 nm, a szczytowa emisja przesuwana się do 835 nm. Mimo że intensywność fluorescencji barwnika jest znacznie większa we krwi niż w wodzie, efektywność fluorescencji wynosi tylko około 0,3 fluorescencji pochodzącej z soli sodowej fluoresceiny znajdującej się we krwi.



Ponieważ jednak barwnik oczny występujący w siatkówce i naczyniówce dość dobrze przenosi światło w zakresie bliskiej podczerwieni, uwidocznienie fluorescencji ICG w układzie naczyniowym naczyniówki jest znacząco większe niż w przypadku fluorescencji pochodzącej z fluoresceiny (główne wzbudzenie i długości fal emisji fluoresceiny są znacznie gorzej przenoszone przez pigmentowane tkanki oka). Zakresy wzbudzenia i fluorescencji zieleni indocyjaninowej we krwi oraz pochodzące z pigmentowanych tkanek oka zostały pokazane na ryc. 3.1.

Godne uwagi w charakterystyce zieleni indocyjaninowej jest to, że powoduje ona tłumienie fluorescencji po osiągnięciu odpowiedniego stężenia. Normalnie wzrost stężenia barwnika we krwi powoduje wzrost intensywności fluorescencji. Jednakże po osiągnięciu szczytowej fluorescencji dalszy wzrost stężenia barwnika skutkuje jej zmniejszeniem.

**Ryc. 3.1** Charakterystyka transmisji głównych tkanek oka i krwi, z nałożonym zakresem absorpcji (biały) i fluorescencji (pomarańczowy) zieleni indocyjaninowej



**Ryc. 3.2** Względna intensywność fluorescencji ICG we krwi jako funkcja stężenia barwnika. Przy niskich stężeniach intensywność fluorescencji wzrasta wraz ze wzrostem stężenia. Po osiągnięciu szczytu fluorescencji wzrastające stężenie ICG zmniejsza fluorescencję. Jest to tłumienie fluorescencji, spowodowane prawdopodobnie powstaniem dimeru

To zjawisko tłumaczy się powstawaniem dimeru przy bardzo dużym stężeniu barwnika, co pokazano na ryc. 3.2 (dla obecności ICG w całej krwi). Jeśli zieleń indocyjaniny zostanie podana szybko i w wystarczająco dużym stężeniu, na angiogramach można zaobserwować tłumienie fluorescencji podczas przejścia barwnika przez układ naczyniowy oka. Sól sodowa fluoresceiny także wykazuje zdolność tłumienia fluorescencji, ale w odróżnieniu od ICG nie może być podana dożylnie w wystarczająco wysokim stężeniu, aby po rozcieńczeniu fluoresceiny w układzie krążenia (w przybliżeniu 600 razy) zjawisko to było obserwowane w naczyniach oka<sup>18</sup>.

Po iniekcji zieleń indocyjaniny łatwo łączy się ze składnikami białek krwi<sup>5-7</sup>, hamując tym samym jej szybkie wynaczynianie przez posiadające fenestracje choriokapilary. Mimo iż badania wykazały, że całkowite związanie się ICG z białkami krwi może trwać 20 min, około 90% tego sprzęgania zachodzi w trakcie przechodzenia barwnika z miejsca iniekcji, czyli żyły przedramienia, do oka. Barwnik najwyraźniej posiada wysokie powinowactwo do śródbłonna naczyniowego<sup>19</sup>, co może wyjaśniać jego utrzymywanie się w dużych naczyniach naczyniówki, szczególnie w żyłach, długo po iniekcji.

## 3.2

### SPRZĘT FOTOGRAFICZNY

Na rynku są dziś dostępne dwa podstawowe rodzaje funduskamer służących do wykonywania angiografii indocyjaninowej. Jeden jest oparty na oryginalnej optyce funduskamery Zeissa, ale wykorzystuje dołączone urządzenie cyfrowe (CCD) lub kamerę wideo Vidicon służącą do rejestracji obrazów. Inny typ aparatu

jest oparty na optyce laserowego oftalmoskopu skaningowego (SLO). Ogólnie rzecz biorąc, kamery cyfrowe CCD mają wyższą rozdzielczość przestrzenną (do  $1024 \times 1024$  pikseli), kamery wideo *Vidicon* zwykle mają rozdzielczość  $512 \times 480$  pikseli, a systemy SLO – typowo  $256 \times 256$  pikseli.

Jednakże maksymalna czasowa rozdzielczość kamer CCD o wysokiej rozdzielczości to tylko kilka zdjęć na sekundę, podczas gdy kamery wideo *Vidicon* i systemy SLO uzyskują 20-30 zdjęć na sekundę.

W funduskamerze opartej na optyce Zeissa generalnie stosuje się światło lampy ksenonowej przepuszczone przez filtr odcinający widmo ICG w celu uzyskania fluorescencji. Niektóre systemy stosują przepuszczone światło pochodzące ze stale palącej się kwarcowej lampy halogenowej. Systemy SLO wykorzystują światło pochodzące ze stałych diod laserowych.

Ponieważ szczytowy, bezpieczny dla siatkówki poziom napromieniania, pochodzący z pojedynczego impulsu wyzwalanego przez ksenonową lampę błyskową, jest znacznie wyższy niż ten doprowadzany w sposób ciągły, systemy funduskamer wykorzystujące ksenonowe lampy błyskowe są zwykle znacznie bardziej wrażliwe na małe ilości ICG niż te, które używają ciągłych źródeł światła (tak jak systemy SLO). W rezultacie te systemy, które łączą błysk lampy ksenonowej i urządzenie CCD, są lepsze dla zobrazowania fluorescencji w bardzo późnym okresie po iniekcji barwnika niż systemy używające ciągłego źródła światła. Z drugiej strony, ograniczenia dotyczące czasowej rozdzielczości, nakładane przez źródła w postaci lamp błyskowych i aparaty cyfrowe CCD, sprawiają, iż systemy te są mniej odpowiednie do rejestrowania przejścia barwnika przez krążenie naczyniówkowe niż systemy z ciągłym źródłem światła.

Oprócz intensywności światła wzbudzenia barwnika (jeden parametr naświetlania ustalany przez osobę wykonującą angiografię podczas rejestracji obrazów na kliszy fotograficznej) wygląd zarejestrowanych zdjęć wideo może być kontrolowany także przez manipulowanie CCD lub parametrami wideokamery, jej wrażliwością, a także funkcją detektora gamma. (Zwiększenie parametrów wideokamery wzmacnia zarówno sygnał detektora, jak i dźwięk pochodzący z obrazu. Zwiększenie detektora gamma wzmacnia kontrast obrazu). W praktyce jednakże, podczas wideoangiografii zmienia się jedynie intensywność światła i parametry wideokamery. Sposób i zakres, w jakim możliwe jest manipulowanie obrazami angiograficznymi, zależą od prędkości, z jaką są one rejestrowane.

### 3.3

#### ANGIOGRAFIA O NISKIEJ CZY O WYSOKIEJ PRĘDKOŚCI

Sekwencje o niskiej prędkości są definiowane jako kilka zdjęć wykonanych w ciągu 1 sekundy. Sekwencje angiogramu o małej rozdzielczości czasowej, takie jak uzyskiwane przy użyciu funduskamer wykorzystujących aparaty o wysokiej rozdzielczości przestrzennej CCD, pozwalają na dopasowanie jasności i ostrości każdego obrazu. Pierwotnym źródłem zakłócenia obrazów CCD i *Vidicon* jest hałas wywołany przez urządzenie elektroniczne będące wzmacniaczem aparatu fotograficznego: im silniejsze wzmocnienie, tym większy hałas. Z reguły najlepiej jest nastawić aparat fotograficzny na najniższym możliwym poziomie i używać najwyższego, jak to możliwe, poziomu oświetlenia dna.

Ponieważ maksymalne stężenie barwnika pojawia się wcześniej, podczas przejścia barwnika, rejestrowanie sekwencji angiogramu

można rozpocząć przy maksymalnym oświetleniu i najniższych możliwych parametrach aparatu. Gdy fluorescencja barwnika zmniejsza się w późniejszych fazach angiogramu, może być konieczne zwiększenie parametrów aparatu. Najlepiej jest używać ustawienia, które pozwala na osiągnięcie najniższych parametrów aparatu. Czasem możliwe jest uzyskanie zdjęć obrazujących wypełnianie się barwnikiem tętnic naczyniówki, nawet przy użyciu systemów o niskiej prędkości, zwłaszcza u pacjentów ze zwolnionym krążeniem krwi. Robienie zdjęć powinno się rozpocząć dość wcześnie po iniekcji barwnika. Większość obecnie stosowanych aparatów posiada sprzęt wzmacniający obraz, co umożliwia uwidocznienie wypełniania się naczyń tętniczych, mimo że pierwotne zdjęcia są bardzo niewyraźne.

Sekwencje o wysokiej prędkości są definiowane jako więcej niż 10 zdjęć wykonanych w ciągu 1 sekundy. Korzyści z możliwości dostosowywania parametrów dla każdego obrazu to maksymalny kontrast i idealna ostrość uzyskanych zdjęć. Niekorzystne jest to, że różniące się w czasie zmiany jasności związane z zawartością barwnika w krążeniu, informujące o hemodynamice krążenia, zostają utracone. Gdy obrazy są rejestrowane przy dużej prędkości, zanim zostanie podany barwnik, powinno się odpowiednio dostosować aparat i poziom oświetlenia, aby uzyskać optymalny współczynnik sygnał/hałas. Gdy nie zmieni się tych parametrów, istnieje korzystny związek między zdjęciami w sekwencji; z angiogramów można uzyskać informację o hemodynamice<sup>20</sup>. Gdy zakończone zostaje przejście barwnika, ustawienia aparatu i oświetlenia mogą być ponownie przystosowane do rejestrowania zdjęć późnej fazy, ale poziomy jasności tych zdjęć nie będą zawierać użytecznej informacji o związku z sekwencją kolejnych obrazów.

Prędkość, z jaką są uzyskiwane i rejestrowane zdjęcia ICG (sekwencje statyczne czy dynamiczne zdjęć), decyduje o znacznych różnicach w informacji, która jest zawarta w angiogramach naczyniówkowych. Początkowo metodologia angiografii ICG rozwijała się i doskonalila w kierunku uzyskiwania zdjęć z dużą prędkością (20-30 zdjęć na s) w celu zbadania dynamiki naczyniówki<sup>21</sup>. Obecnie większość okulistów praktyków wykorzystuje angiografię ICG do uzyskania statycznych obrazów krążenia naczyniówkowego. SLO, który rejestruje obrazy z dużą prędkością, jest dostępny, ale większość znajdujących się w sprzedaży aparatów ICG charakteryzuje się niską prędkością i rejestruje tylko żyłą fazę wypełniania. Dla tych badań o niskiej prędkości uzyskanie statycznego wzoru, tradycyjnie wykorzystywanego w angiografii fluoresceinowej, jest zwykle wystarczające. Jednakże wzory wypełniania naczyniówkowego zmieniają się znacząco i szybko podczas przejścia barwnika i są inne dla każdego oka. Dokonując analizy w oparciu o pojedynczy obraz angiogramu, pomija się większość informacji o złożonym charakterze przepływu naczyniówkowego, która jest dostępna na podstawie analizy wideoangiogramów ICG wysokiej prędkości.

Możliwe, że najbardziej znaczącymi objawami wielu chorób naczyniówki mogą być nieprawidłowości hemodynamiczne ujawniające się na angiogramie, a dotyczące raczej fazy przejścia barwnika niż objawiające się w fazie zastoju barwnika w tkance czy nieprawidłowości morfologicznych podczas późnej fazy. Analiza i interpretacja angiogramów wideo o wysokiej prędkości wymaga bardziej wyszukanych metod analitycznych niż te, które są obecnie wykorzystywane w pracy klinicznej. Doniesienia badaczy używających SLO wskazują, że zdjęcia wykonane w późnej fazie angiogramu oraz zdjęcia fazy przejścia dostarczają takich samych informacji o neowa-

skularyzacji naczyńkowej. W przyszłości uwaga zostanie skupiona na fazie przejścia angiogramu ICG.

### 3.4

#### PODANIE BARWNIKA

Przed podaniem barwnika powinno się wykonać zdjęcia dna oka w świetle bezczerwienym, używając właściwego filtra, oraz zdjęcia podstawowe z użyciem odbitego światła w zakresie bliskiej podczerwieni, uzyskane przez oświetlenie dna światłem wzbudzającym zieleń indocyjaniny, ale z usuniętym filtrem odcinającym. Zdjęcia wykonane w świetle bezczerwienym stanowią ważny punkt orientacyjny przy ocenie naczyń siatkówkowych. Zdjęcia podstawowe, wykonane w bliskiej podczerwieni przed iniekcją barwnika, są przydatne w różnieniu obszarów hipofluorescencyjnych i hiperfluorescencyjnych, będących wynikiem nieprawidłowości w przepływie krwi oraz tych, które wynikają z nieprawidłowości przenoszenia światła w tkankach siatkówki i naczyniówki.

Tak jak w przypadku angiografii fluorescencyjnej, pacjent siedzi wygodnie przed funduskamerą z jednym przedramieniem wyciągniętym i odsłoniętym do iniekcji barwnika. Technika podania barwnika różni się w zależności od tego, czy potrzebne są zdjęcia fazy wczesnej czy późnej. Dla angiogramów bardzo późnej fazy, wykonanych przy użyciu funduskamery o wysokiej rozdzielczości i przy użyciu ksenonowej lampy błyskowej jako źródła oświetlenia, barwnik podaje się do żyły przedramienia poprzez cewnik przeznaczony do żył skóry owłosionej głowy. Całkowita zawartość barwnika wynosi 25-50 mg w 2-4 ml wodnego rozpuszczalnika. Do tej pory nie przeprowadzono ostatecznych badań, które określiłyby cechy idealnej dawki służącej do uzyskania angiogra-

mów późnej fazy. Duże dawki barwnika zmniejszają możliwość wielokrotnych badań z powodu wysokiej resztkowej fluorescencji tła.

Przy wykonywaniu badań angiograficznych o dużej prędkości podawana jest mniejsza dawka barwnika o wysokim stężeniu. Barwnik o objętości 1 ml i stężeniu 15-20 mg/ml powinien być podany szybko i w całkowitej dawce (*bolus*), z następczym natychmiastowym podaniem 5 ml izotonicznego roztworu soli. W ten sposób uzyskuje się dobrze ukształtowaną przestrzennie dawkę, o maksymalnej fluorescencji<sup>17</sup>.

Jeśli barwnik ulega wynaczynieniu podczas podania, pacjent powinien być poinformowany, że bezbolesna zielononiebieska plama, która często przemieszcza się z miejsca iniekcji w kierunku łokcia, będzie się utrzymywać od kilku dni do tygodnia. Jeśli igła do iniekcji została usunięta, zanim podano cały barwnik, może powstać lekko zabarwiony barwnikiem ślad igły, ale znika on szybko.

### 3.5

#### INTERPRETACJA ANGIOGRAMU

Krążenie naczyniówkowe różni się od siatkówkowego w dwóch ważnych aspektach:

1. Układ naczyniowy naczyniówki jest trójwymiarowy, a jego łożysko naczyniowe tworzy prawdziwy splot naczyniowy. Układ naczyń siatkówki jest dwuwymiarowy, liniowy (lub złożony z tętniczek końcowych).
2. Prędkość przepływu krwi przez naczyniówkę przewyższa o około 2 rzędy wielkości prędkość przepływu krwi przez siatkówkę.

Każdy obraz na angiogramach barwników fluorescencyjnych zależy od własności optycznych wszystkich ośrodków, przez które przebiega światło fluorescencji.

Wpływ cech ośrodków optycznych na angiogram naczyńkowi z zastosowaniem ICG jest znacznie większy niż na angiogram siatkówkowy, z powodu większej liczby i różnych rodzajów tkanek, przez które musi przejść wzbudzenie i światło fluorescencji. Dlatego zrozumienie własności optycznych tkanek oka stanowi podstawę interpretacji angiogramów ICG, tak samo jak zrozumienie unikatowych cech morfologicznych układu naczyń naczyńkowi.

Kiedy wykonywany jest angiogram fluoresceinowy lub angiogram ICG, światło skierowane do oka może zostać pochłonięte, odbite, ugięte lub rozproszone, a przedmiotem tych oddziaływań jest światło fluorescencji opuszczające oko. Jeśli chodzi o pochłanianie i odbicie światła przez krew naczyń siatkówki, dane doświadczalne wskazują, że w porównaniu z żyłami ściany tętnic oka bardziej odbijają światło, są mniej przepuszczalne i w większym stopniu pochłaniają światło<sup>22</sup>. Z powodu tych własności optycznych naczyń w późnych fazach angiogramu ICG typowo widoczne są żyły naczyńkowiowe i siatkówkowe.

Dyfrakcja odgrywa ważną rolę w ustalaniu granic zdolności rozdziału lub wizualizacji struktur dna oka, narzuconych przez geometrię oka. Ta granica rozdzielczości może być zdefiniowana jako najmniejsza dająca się różnić odległość między dwoma fluoryzującymi punktami leżącymi w płaszczyźnie dna, jeśli są oglądane przez źrenicę przy użyciu narzędzia optycznego o bezgranicznej rozdzielczości. Jest to tzw. *rozdzielczość ograniczona dyfrakcją*, ponieważ to właśnie dyfrakcja, czyli ugięcie światła pochodzącego z każdego punktu źródłowego, gdy światło to przechodzi na brzegu źrenicy, powoduje, że

punkty zostają sprowadzone blisko siebie, co zamazuje ich obraz aż do momentu, kiedy stają się trudne do odróżnienia.

Rozdzielczość ograniczona dyfrakcją została obliczona dla dwóch długości fal (560 nm dla fluorescencji fluoresceiny i 835 nm dla fluorescencji ICG) i trzech średnic źrenicy (tab. 3.1)<sup>23</sup>. Wyniki dla źrenicy o średnicy 8 mm wykazują wyższe granice osiągalnej rozdzielczości dna, ponieważ jest to największa źrenica ludzkiego oka. Jednakże, ponieważ większość funduskamer nie zbiera światła z całkowicie rozszerzonej źrenicy, wyniki obliczone dla dwóch mniejszych źrenic stanowią granicę rozdzielczości, jaka może być uzyskana w konwencjonalnych funduskamerach, które w swoich projektach optycznych powszechnie uwzględniają mniejsze średnice źrenic.

Znaczenie tego ograniczenia rozdzielczości polega na tym, że aby można było uzyskać zdjęcie dna (np. zdjęcie barwne małej źrenicy – 1,5 mm średnicy), obserwowana struktura nie może być mniejsza ani oddalona od przyległych struktur o podobnej zdolności odbijającej o mniej niż 7  $\mu\text{m}$  w zakresie widzialnych długości fal i 11  $\mu\text{m}$  w zakresie fal bliskiej podczerwieni. Te ograniczenia wyjaśniają, dlaczego przydołkowa sieć naczyń włosowatych siatkówki nie może być uwidoczniiona bezpośrednio z zastosowaniem odbitego światła widzialnego ani na zdjęciu w świetle odbitym. Zdolność rozdzielcza funduskamery nie jest wystarczająca dla naczyń o małej średnicy. Także różnica w zdolności odbijania światła między naczyniami włosowatymi i otaczającymi tkankami jest niewielka. Jednakże na ciemnym tle jakkolwiek dostatecznie jasna, fluoryzująca struktura dna, niezależnie od rozmiaru, może być wykryta, jeśli tylko odległość między nią a każdą równie jasną, fluoryzującą strukturą wynosi przynajmniej 7  $\mu\text{m}$  dla długości fali świetlnej 520 nm i 11  $\mu\text{m}$  dla fali długości 830 nm.



W angiografii fluoresceinowej przydołkowa sieć naczyniowa może być uwidocznioma (mimo że średnica włóscinek wynosi tylko około 5  $\mu\text{m}$ ), ponieważ odległość pomiędzy przyległymi naczyniami włosowatymi wynosi około 30  $\mu\text{m}$ .

W przypadku choriokapilar istnieje inny problem. Mimo że średnica naczyń naczyniówki wynosi w przybliżeniu 21  $\mu\text{m}$ , to przestrzenie międzynaczyniowe – średnio tylko 5-7  $\mu\text{m}$ . Jest to poniżej granicy rozdzielczości dla zdjęć fluorescencji ICG (11  $\mu\text{m}$ ). W angiografii indocyjaninowej brzegu jednego naczynia włosowatego nie można odróżnić od brzegu naczynia przyległego. Dlatego też pojedyncze naczynia *choriocapillaris* praktycznie są nierozróżnialne w angiografii zdrowego oka.

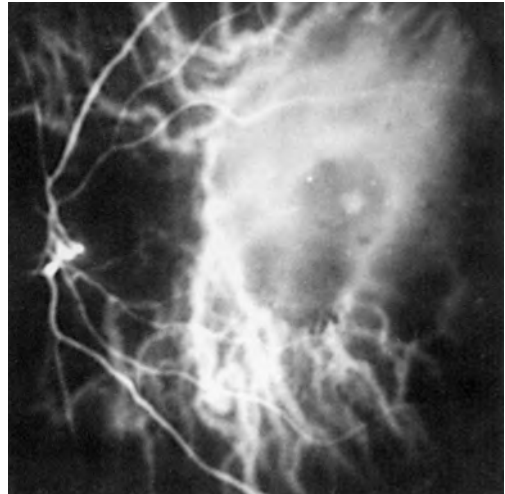
Zmętnienia w ośrodkach optycznych, takie jak skupiska barwnika i krwi, wpływają na jakość angiogramu, ponieważ rozpraszają i załamują światło. Ze względu na liczebność tych małych struktur w oku rozproszenie jest prawdopodobnie bardziej znaczącym zjawiskiem w angiografii indocyjaninowej. Ważne są dwa rodzaje rozproszenia: rozproszenie Rayleigha i rozproszenie *Mie*.

Rozproszenie Rayleigha pojawia się wtedy, gdy cząstki rozpraszające są małe w stosunku do długości padającego światła. Intensywność rozproszenia dla krótkich fal jest znacząco większa niż w przypadku fal dłuższych. Z tego powodu rozproszenie światła w angiografii fluoresceinowej jest około 10 razy większe niż w angiografii ICG. Dlatego też angiografia indocyjaninowa może być stosowana nawet wtedy, gdy ośrodki optyczne są zbyt mocno zamglone dla angiografii fluoresceinowej. Płyn surowiczy zniekształca obraz leżących poniżej naczyń naczyniówki właśnie z powodu procesu rozproszenia. Na ryc. 3.3 duże surowicze odwarstwienie wykazuje znaczne zniekształcenie leżących poniżej naczyń naczyniówki.

**Tab. 3.1**

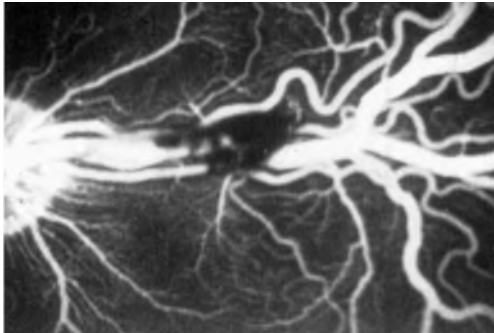
Rozdzielczość dna ograniczona dyfrakcją

Średnica źrenicy	560 nm	835 nm
1,5 mm	7,0 $\mu\text{m}$	11,0 $\mu\text{m}$
2,5 mm	5,2 $\mu\text{m}$	7,6 $\mu\text{m}$
8,0 mm	1,7 $\mu\text{m}$	2,4 $\mu\text{m}$

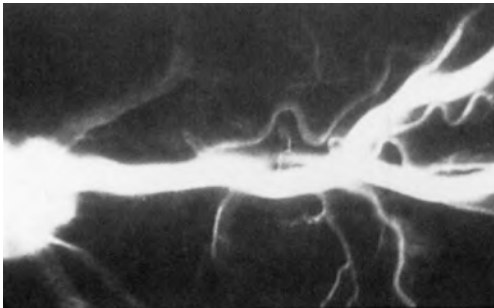


**Ryc. 3.3** Angiogram fluorescencji ICG surowiczego odwarstwienia siatkówki sensorycznej, ukazujący zniekształcenie leżących poniżej, wypełnionych barwnikiem naczyń naczyniówki

**UWAGA** Czytelnik powinien pamiętać, że obrazy angiografii indocyjaninowej z reguły wykazują mniejszy kontrast niż obrazy angiograficzne wykonywane z zastosowaniem soli sodowej fluoresceiny. Ponadto zdjęcia pochodzące z angiografii ICG, wydrukowane w tej książce, są z konieczności częściowo wyeliminowane (o jeden proces wytwarzania) w odniesieniu do zdjęć oryginalnych, inaczej niż w angiografii fluoresceinowej. Zalecane jest, aby zdjęcia ICG były zawsze przeglądane na wideomonitorze o wysokiej rozdzielczości.



A



B

**Ryc. 3.4** Równoczesowy (A) angiogram fluoresceinowy i (B) angiogram indocyjaninowy (u małpy). Krwotok siatkówkowy przesłania fluorescencję fluoresceiny, ale fluorescencja zieleni indocyjaninowej ukazuje naczynia siatkówkowe z powodu rozproszenia Mie

Największe zniekształcenie pojawia się w centrum odwarstwienia, ponieważ droga, którą przebywa światło fluorescencji przez płyn surowiczy, jest najdłuższa.

Rozproszenie *Mie*, zwane rozproszeniem „do przodu”, występuje, gdy średnica cząstek rozpraszających jest bliska długości fali padającego światła. Rozproszenie *Mie* może być znaczące, gdy światło o długości fali 800 nm, użyte w angiografii indocyjaninowej, oddziałuje z czerwonymi krwinkami, ponieważ umożliwia uwidocznienie naczyń krwionośnych, które nie byłyby widoczne w angiografii fluoresceinowej. Mimo że zieleń indocyjaninowa nie wiąże się z erytrocytami, zawarta w nich hemoglobina skutecznie blokuje transmisję światła o długości fali w zakresie bliskiej podczerwieni. Z powodu rozproszenia *Mie* nawet znaczne zagęszczenie czerwonych krwinek nie blokuje całkowicie fluorescencji indocyjaninowej. Na ryc. 3.4 pokazano zdjęcie ICG ukazujące naczynia siatkówkowe, w porównaniu ze zdjęciem z angiografii fluoresceinowej, na którym naczynia siatkówkowe są ukryte za krwotokiem. To zjawisko wydaje się funkcjonować w przypadku dużych naczyń. Jednakże mechanizm rozproszenia skutkuje zniekształceniem, które może być na tyle duże, aby w przypadku małych naczyń, a nawet sieci małych naczyń leżących pod krwotokiem, uniemożliwić ich rozróżnienie.

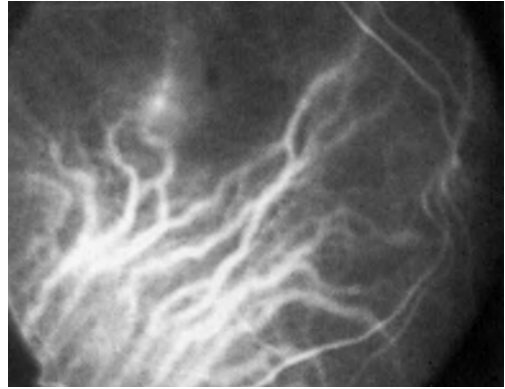
Przeciętna średnica przekroju poprzecznego obszaru choriokapilar jest znacznie mniejsza niż średnica leżących pod nimi naczyń tętniczych i żylnych. Te ostatnie odżywiają choriokapilary i odprowadzają z nich krew, tak więc trudno odróżnić ich fluorescencję od fluorescencji choriokapilar. Fluorescencja indocyjaninowa pochodząca z różnych warstw naczyniowych sumuje się. Addycyjność fluorescencji wydaje się wzrastać w sposób liniowy do momentu osiągnięcia zsumowanej grubości ok. 50  $\mu\text{m}$ . Od tego momentu proces

nie jest liniowy i ostatecznie zostaje osiągnięte plateau jasności, kiedy to stopień jasności jest stały bez względu na zsumowaną grubość.

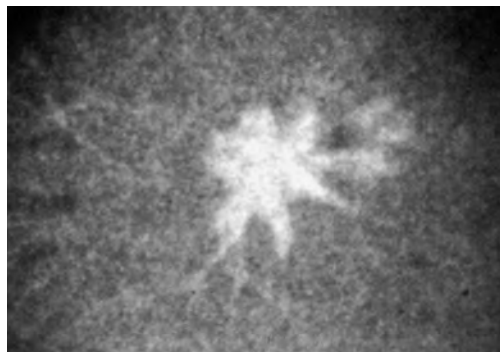
To może być ważne klinicznie w interpretacji angiogramu ICG. Na ryc. 3.5 przedstawiono odwarstwienie nabłonka barwnikowego. Jasne miejsce w obrębie odwarstwienia nie oznacza przecieku barwnika; raczej jest wynikiem skrzyżowania się dwóch naczyń. Efekt rozproszenia Mie, dotyczący addytywnej fluorescencji pochodzącej ze skrzyżowania naczyń, ma powodować, że jasny obszar staje się zamazany i większy.

Terminy *hipofluorescencja* i *hiperfluorescencja* powinny być stosowane bardzo ostrożnie podczas interpretacji angiogramów ICG. Wiele zjawisk optycznych może wpływać na jasność fluorescencji. Zdjęcia dna oka o niskim kontraście odbitego światła, tworzone przez fale w zakresie bliskiej podczerwieni, mogą być bardzo przydatne do wyjaśnienia znaczenia obszarów hipofluorescencyjnych i hiperfluorescencyjnych na angiogramach ICG. Tkanki i barwniki oka nie przeszkadzają w przenoszeniu fal leżących w zakresie podczerwieni w tak dużym stopniu jak w przypadku fal widzialnych. Nie oznacza to, że obrazy bliskiej podczerwieni niczym się nie wyróżniają. Cechują się jedynie niskim kontrastem. Dokładna analiza zdjęć dna, wykonanych w świetle odbitym przed iniekcją zieleni indocyjaninowej i jedynie przy użyciu światła wzbudzenia (805 nm), ujawnia subtelne różnice w transmisji światła przez tylny biegun.

W prawidłowym oku różnice te, ogólnie rzecz biorąc, są niewielkie i zmieniają się stopniowo od jednego do innego obszaru, tak więc dość dobrze odgraniczone obszary wysokiej lub niskiej transmisji mogą sugerować nieprawidłowość barwnika. Takie obszary często łatwo jest rozróżnić po wzmocnieniu kontrastu obrazu. Jeśli okaże się, że odpowiadają one obszarom hiperfluorescencji lub

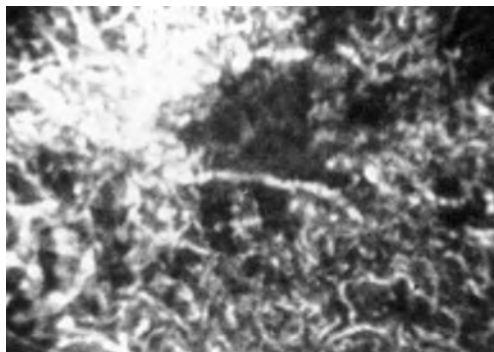


**Ryc. 3.5** Angiogram ICG odwarstwienia nabłonka barwnikowego siatkówki, ukazujący jasną plamę powstałą z przecięcia się dwóch leżących poniżej naczyń naczyniówki



A

**Ryc. 3.6** Porównanie zdjęcia wykonanego przed iniekcją ICG w świetle odbitym o długości fali 805 nm (A), ukazującego niejednorodność charakterystyki transmisji tkanek dna oka, ze zdjęciem tego samego obszaru podczas fluorescencji ICG (B)



B

hipofluorescencji na późniejszych angiogramach ICG, nieprawidłowości w jasności fluorescencji mogą zostać przypisane nieprawidłowej charakterystyce transmisji światło-tkanka.

W przypadku braku takiej korespondencji, nieprawidłowości mogłyby być przypisane nieprawidłowemu przepływowi krwi lub nieprawidłowemu barwieniu tkanek przez zieleń indocyjaniny (ICG). Jako przykład może służyć zdjęcie dna w świetle odbitym (ryc. 3.6A) i odpowiadające mu zdjęcie z zastosowaniem ICG (ryc. 3.6B).

## PIŚMIENNICTWO

1. Flower R.W., Hochheimer B.F.: A clinical technique and apparatus for simultaneous angiography of the separate retinal and choroidal circulations. *Invest. Ophthalmol.* 1973; 12: 248-261.
2. Tokoro T., Hayashi K.: Recording ICG angiograms by means of an infrared sensitive video camera. *Proceedings of the Workshop on Clinical Choroidal Angiography*. Alicante, Spain. October 1984: 20-28.
3. Destro M., Puliafito C.A.: Indocyanine green videoangiography of choroidal neovascularization. *Ophthalmology* 1989; 96: 846-853.

4. Yannuzzi L.A., Slakter J.S., Sorenson J.A., et al.: Digital indocyanine green videoangiography and choroidal neovascularization. *Retina* 1992; 12: 191-223.
  5. Midena E., Segato T., Valenti M., et al.: The effect of external eye irradiation on choroidal circulation. *Ophthalmology* 1996; 103: 1651-1660.
  6. Valluri S., Adelberg D.A., Curtis R.S., Olk R.J.: Diagnostic indocyanine green angiography in preeclampsia. *Am. J. Ophthalmol.* 1996; 122: 672-677.
  7. Sutoh N., Murakoka K., Takahashi K., et al.: Remodeling of choroidal circulation in carotid cavernous sinus fistula. *Retina* 1996; 16: 497-504.
  8. Flower R.W.: Choroidal angiography today and tomorrow. *Retina* 1992; 12: 189-190.
  9. Paumgartner G.: The handling of indocyanine dye by the liver. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*. Basel/Stuttgart: Schrift and Co. Verlag; 1996: 5-30.
  10. Cherrick G.R., Stein S.W., Leevy C.M., Davidson C.S.: Indocyanine green: observation of its physical properties, plasma decay and hepatic excretion. *J. Clin. Invest.* 1960; 39: 502-600.
  11. Baker K.J.: Binding of sulfobromophthalein (BSP) sodium and indocyanine green (ICG) by plasma alpha-1 lipoproteins. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1966; 122: 957-963.
  12. Wheeler H.O., Cranston W.I., Meltzer J.I.: Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green in the dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. (NY)* 1958; 99: 11-14.
  13. Paumgartner G.: The handling of indocyanine green by the liver. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*. Basel/Stuttgart: Schrift and Co. Verlag; 1966: 5-30. Supplementum 1975.
  14. Door M.B., Pollack G.M.: Specific assay for the quantitation of indocyanine green in rat plasma using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Pharm. Sci.* 1989; 78: 328-333.
  15. Benya R., Quintana J., Brundage B.: Adverse reactions to indocyanine green: a case report and a review of the literature. *Cathet Cardiovasc. Diagn.* 1989; 176: 231-233.
  16. Hope-Ross M., Yannuzzi L.A., Gragoudas E.S., et al.: Adverse reactions to indocyanine green. *Ophthalmology* 1994; 101: 529-533.
  17. Luty G.: The acute intravenous toxicity of biological stains, dyes and other fluorescent substances. *Toxicol. App. Pharmacol.* 1978; 44: 225-249.
  18. Flower R.W.: Injection technique for indocyanine green and sodium fluorescein dye angiography of the eye. *Invest. Ophthalmol.* 1973; 12: 881-895.
  19. Flower R.W.: Does preinjection binding of indocyanine green to serum actually improve angiograms? *Arch. Ophthalmol.* 1994; 112: 1137-1139.
  20. Klein G.J., Baumgartner R.H., Flower R.W.: An image processing approach to characterizing choroidal blood flow. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1990; 31: 629-637.
  21. Flower R.W.: Choroidal fluorescent dye filling patterns: a comparison of high speed indocyanine green and fluorescein angiograms. *Int. Ophthalmol.* 1980; 2: 143-149.
  22. Jenkins F.A., White H.E.: *Fundamentals of Optics*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 1957: 306.
  23. Flower R.W., Klein G.J.: Pulsatile flow in the choroidal circulation: a preliminary investigation. *Eye* 1990; 4: 310-318.
- 
- ## ZALECANA LITERATURA
- Yannuzzi L.A., Flower R.W., Slakter J.S., eds.: *Indocyanine Green Angiography*. St. Louis: C.V. Mosby Co.: 1997.