

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ**

*Evaluarea retinopatiei diabetice prin investigații cu  
rezoluție înaltă*

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. ZĂGREAN LEON**

**Student-doctorand:**

**CRISTESCU IRINA-ELENA**

**2019**

# Cuprins

<b>I. Partea generală</b>	<b>6</b>
Introducere în studiul retinopatiei diabetice prin investigații cu rezoluție înaltă	7
<b>1. Retinopatia diabetică</b>	<b>11</b>
1.1. Factorii de risc ai retinopatiei diabetice	11
1.2. Patogeneza retinopatiei diabetice	12
1.3. Leziunile clinice ale retinopatiei diabetice	14
1.4. Clasificarea retinopatiei diabetice	15
1.5. Tratamentul retinopatiei diabetice	18
1.6. Alte metode imagistice de screening ale retinopatiei diabetice	19
1.7. Ghidurile actuale și aspecte neurovasculare ale retinopatiei diabetice	3
<b>2. Optica adaptivă în imagistica retiniană</b>	<b>25</b>
2.1. Fundamentele opticii adaptive în imagistica retiniană	25
2.1.1. Aberațiile optice ale sistemului optic uman	27
2.1.2. Detecția frontului de undă	31
2.1.3. Senzorul Shack-Hartmann al frontului de undă	31
2.1.4. Corectori hardware ai aberațiilor optice. Oglinzile deformabile	33
2.1.5. Software-ul pentru optica adaptivă	34
2.2. Sistemele de imagistică retiniană care utilizează optica adaptivă	34
2.2.1. Oftalmoscopia cu scanare laser și optică adaptivă (AOSLO)	35
2.2.2. Tomografia în coerență optică și optică adaptivă (AO-OCT)	36
2.2.3. Camera de fund de ochi cu optica adaptivă (AO fundus camera)	37

2.2.3.1. Camera retiniană rtx1 (Imagine Eyes, Orsay, France)	37
2.2.3.2. Sistemul de operare al camerei retiniene rtx 1 (Imagine Eyes, Orsay, France) și interfața utilizatorului	38
2.3. Biomarkeri retinieni detectabili cu ajutorul camerei de fund de ochi rtx 1 (Imagine Eyes, Orsay, France)	40
2.3.1. Parametrii fotoreceptorilor	40
2.3.2. Parametrii vaselor	43
<b>II.Partea specială</b>	<b>45</b>
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	46
4. Metodologia generală a cercetării	48
<b>5. Studiul parametrilor fotoreceptorilor la pacienții diabetici</b>	<b>51</b>
5.1. Introducere	51
5.2. Materiale și metode	52
5.3. Rezultate	56
5.3.1. Densitatea fotoreceptorilor	58
5.3.2. Spațierea fotoreceptorilor	78
5.3.3. Distribuția spațială a fotoreceptorilor utilizând diagramele Voronoi	96
5.4. Discuții și concluzii	130
<b>6. Studiul parametrilor vaselor la pacienții diabetici</b>	<b>133</b>
6.1. Introducere	133
6.2. Materiale și metode	135
6.3. Rezultate	136
6.4. Discuții și concluzii	144
<b>7. Markerii OCT și angio OCT în retinopatia diabetică</b>	<b>146</b>

7.1. Introducere	146
7.2. Materiale și metode	147
7.3. Rezultate	150
7.4. Discuții și concluzii	161
<b>8. Leziunile retinopatiei diabetice studiate cu ajutorul camerei de fund de ochi cu optică adaptivă</b>	<b>164</b>
8.1. Introducere	164
8.2. Materiale și metode	164
8.3. Rezultate	165
8.4. Discuții și concluzii	168
<b>9. Concluzii și contribuții personale</b>	<b>170</b>
Bibliografie	175

### **Lista cu lucrările științifice publicate**

1. Cristescu, I.-E., Baltă, F., Zăgrean, L. (2019). Cone photoreceptor density in type I diabetic patients measured with an adaptive optics retinal camera. *Romanian Journal of Ophthalmology*, 63(2), 153–160. <https://doi.org/10.22336/rjo.2019.23> - **BDI** - PubMed
2. Cristescu, I.-E., Ochinciuc, R., Balta, F., Zagrean, L. (2019). High-resolution imaging of diabetic retinopathy lesions using an adaptive optics retinal camera. *Romanian Journal of Ophthalmology*, 63(1), 29–34. <https://doi.org/10.22336/rjo.2019.6> - **BDI** - PubMed

## Introducere în studiul retinopatiei diabetice prin investigații cu rezoluție înaltă

Retinopatia diabetică (RD) este o cauză importantă de pierdere a vederii la nivel global. Prevalența la nivel global a diabetului a crescut semnificativ în ultimele zeci de ani și se preconizează că vor fi aproximativ 693 milioane de diabetici în următorii 30 ani (Guariguata *et al.*, 2014; Cheloni *et al.*, 2019). Diabetul tip II a atins deja nivelul unei epidemii, pe când diabetul de tip I cunoaște o incidență din ce în ce mai mare (Unnikrishnan *et al.*, 2017). Pacienții diabetici prezintă complicații amenințătoare de viață, precum afectarea macrovasculară (accidentul vascular cerebral, boala cardiacă ischemică, boala vasculară periferică) și/sau afectarea microvasculară (retinopatia, nefropatia, neuropatia) Pe de altă parte, aproape jumătate dintre pacienții diabetici rămân nediagnosticsați pentru mulți ani, din cauza lipsei simptomatologiei. Diagnosticul de diabet se pune pe baza valorilor glicemiei a jeun și a testului de toleranță la glucoză.

Retinopatia diabetică este cauzată de hiperglicemii îndelungate, care generează disfuncții progresive la nivelul vaselor de sânge. RD este considerată cea mai întâlnită complicație a diabetului (Nentwich și Ulbig, 2015) și poate apărea în orice moment al evoluției bolii, atât în diabetul zaharat de tip I (DZ I), cât și în cel al diabetului zaharat de tip 2 (DZ II). Având o incidență de aproximativ 40% (Lee, Wong și Sabanayagam, 2015) în DZ I, RD este un diagnostic rar la momentul diagnosticului, însă după 15 ani este prezent în peste 90% din cazuri. Pe de altă parte, RD este prezentă în o cincime din cazuri la diagnostic și în două treimi din cazuri după 15 ani (Cheloni *et al.*, 2019).

În prezent, RD a fost diagnosticată la aproximativ 100 milioane de pacienți diabetici la nivel global (Duh, Sun și Stitt, 2017). RD este mai des întâlnită în diabetul zaharat tip I (DZ I) față de diabetul zaharat tip II (DZ II), iar în 10% din cazuri, formele severe sunt reperate. Pe de altă parte 5-10% din populația diabetică este afectată de retinopatia diabetică proliferativă (RDP). Netratată, RD poate avea consecințe severe asupra vederii. În țările civilizate, principala cauză de orbire în rândul populației adulte o constituie afectarea retiniană din diabet, cu un real impact social și economic (Wu *et al.*, 2013). Maculopatia diabetică este principala cauză de afectare a vederii, și nu retinopatia diabetică proliferativă (Nentwich și Ulbig, 2015). Cataracta, pe de altă parte, apare mai timpuriu și are o progresie mai rapidă. Frecvent întâlnite sunt și

sindromul de ochi uscat, abraziunile corneene, glaucomul neovascular, sindromul ischemic ocular, uveita anterioară, neuropatia optică ischemică anterioară, infecția orbitală și parezele de nervi cranieni (Threatt *et al.*, 2013; Sayin, Kara și Pekel, 2015).

Îngrijirea corectă a pacienților cu RD poate preveni peste 90% din cazurile de orbire; astfel este importantă stadializarea corectă a RD pentru stabilirea terapiei corecte (Tao *et al.*, 2010).

În contextul în care RD poate fi mult timp asimptomatică, chiar și în stadiile avansate ale bolii, detecția precoce a RD este foarte importantă. În prezent sunt la îndemână numeroase metode de tratament (laser, agenți anti-VEGF, steroizi) care pot limita potențiala afectare a vederii. Astfel, Academia Americană de Oftalmologie și Consiliul Internațional de Oftalmologie recomandă screening-ul regulat al fundului de ochi pentru orice pacient diabetic și instituirea imediată a tratamentului dacă apar semne ale RD care pot afecta vederea. Cu toate acestea, conform Academiei Americane de Oftalmologie doar 60% dintre diabetici beneficiază de screening oftalmologic regulat (Fenner *et al.*, 2018; Wong *et al.*, 2018).

Definițiile furnizate de Early Treatment Retinopathy Study (ETDRS) (Corcóstegui *et al.*, 2017) au făcut posibilă uniformizarea criteriilor, terminologiei pentru clasificarea RD și a edemului macular diabetic. Aceste criterii au fost introduse de către Academia Americană de Oftalmologie în ghidurile de diagnostic ale RD. RD este clasificată în RD neproliferativă și în RD proliferativă. În ceea ce privește edemul macular diabetic, merită amintit că acuitatea vizuală nu este inclusă în definiția acestei entități clinice. Fluoroangiografia identifică dacă există edem macular focal/multifocal, difuz ischemic sau mixt. Recent, tomografia computerizată în coerență optică a schimbat abordarea în diagnosticul și monitorizarea edemului macular diabetic.

Diagnosticul precoce al RD este cea mai bună strategie pentru prevenirea sau întârzierea pierderii vederii (Safi *et al.*, 2018). Deși examinarea regulată a fundului de ochi este recomandată pe scară largă în protocoalele pentru tratarea precoce a leziunilor retiniene înainte de afectarea acuității vizuale, doar un mic procent dintre pacienții diabetici beneficiază de examen oftalmologic periodic.

Oftalmoscopia cu sau fără dilatarea pupilei este procedura standard pentru screening-ul RD. Microanevrismele sunt primele semne clinice identificabile ale microvasculopatiei retiniene din diabet. Fluoroangiografia este o tehnică invazivă, costisitoare și consumatoare de timp, dar cu sensibilitate mare în detecția afectării vasculare din diabet, prin capacitatea de a detecta semnele întreruperii barierei hemato-retiniene interne și externe pe parcursul evoluției RD. Pe de altă parte, OCT-ul oferă imagini de rezoluție înaltă ale straturilor retiniene, interfaței vitreo-retiniene, corpului vitros și coroidei. Acesta a devenit principalul instrument de diagnostic, prognostic, evaluare al răspunsului la tratament al pacienților cu edem macular. Datorită interfaței accesibile, vitezei și ușurinței de achiziție a imaginilor, OCT-ul, alături de oftalmoscopie poate crește sensibilitatea diagnosticului precoce al RD (Virgili *et al.*, 2015).

Angiografia OCT (angio OCT) este o metodă imagistică noninvazivă care furnizează informații similare fluoroangiografiei. Oferind imagini detaliate ale vasculaturii retiniene, permite evaluarea zonei avasculare foveale (FAZ) cu detecția anomaliilor vasculare subtile (spațiile chistice intraretiniene, creșterea în dimensiuni a zonei avasculare foveale, nonperfuzia capilară).

Posibilitatea detecției anomaliilor microvasculare în ochii pacienților diabetici, înainte de apariția microanevrismelor poate avea implicații importante.

Angio OCT-ul, fiind o metodă neinvazivă și sensibilă la depistarea leziunilor retiniene, ar putea fi util să identifice pacienții diabetici cu risc să dezvolte RD. În acest sens, sunt necesare examinări mai frecvente și o optimizare mai atentă a controlului metabolic.

Pe de altă parte, introducerea opticii adaptive (OA) în imagistica retiniană a deschis un nou orizont de abordare al afectării retiniene în diferite patologii. Sistemele imagistice cu optică adaptivă compensează aberațiile căii optice dintre obiect și cameră. OA, aplicată în imagistica retiniană, permite vizualizarea conurilor și bastonașelor, leucocitelor din vase, laminei cribroasă, stratului fibrelor nervoase retiniene, celulelor epitelului pigmentar retinian (EPR).

Imagistica cu OA a schimbat modul în care cercetătorii și oftalmologii văd retina, ajutând la clarificarea sau înțelegerea structurii și funcției retiniene, a etiologiei a numeroase patologii. Rezoluția imaginilor este similară cu cea histologică.

Camera de fund de ochi rtx1 TM (Imagine Eyes, Orsay, France) este un microscop care folosește tehnologia OA. O serie de studii a relevat beneficiile camerei rtx1 în evaluarea afectării retiniene la pacienții diabetici (Lombardo *et al.*, 2013, 2014, 2016; Mariotti *et al.*, 2017; Zaleska *et al.*, 2017; Zaleska-Żmijewska *et al.*, 2019). Pacienții diagnosticați cu DZ I fără RD au prezentat o scădere a densității conurilor alături de afectarea aranjării lor spațiale. Scăderea densității conurilor a fost corelată și cu anomalii ale metabolismului glucozei la diabetici (Lombardo *et al.*, 2014). Pe de altă parte s-au găsit modificări ale pereților arteriolari, raportului perete vascular/lumen la diabetici (Zaleska *et al.*, 2017), și o scădere a densității capilarelor perifoveale (Lombardo *et al.*, 2013). Astfel imagistica cu OA poate depista precoce modificările retiniene la pacienții diabetici.

Studiile trecute au oferit informații importante despre statutul conurilor și arteriolelor retiniene la diabeticii cu sau fără retinopatie diabetică. Pacienții selectați au fost fie diabetici tip I, fie tip II, dar niciodată din ambele categorii de diabetici, în vederea evaluării existenței unei diferențe semnificative între categorii.

Această lucrare doctorală își propune investigarea abilității sistemului imagistic cu OA (rtx1) de a detecta anomaliile microvasculare împreună cu parametrii fotoreceptorilor în două cohorte de pacienți diabetici, tip I și tip II, fără RD.

## **Partea specială**

### *Ipoteza de lucru și obiectivele generale*

Începând cu anii 2000 un nou instrument de imagistică retiniană a devenit disponibil. Acesta unește tehnologia opticii adaptive și imagistica retiniană în oftalmoscopia cu optică adaptivă și apariția lui deschide o nouă eră în retina medicală. Posibilitatea de a obține imagini retiniene de rezoluție înaltă de unde se pot extrage informații legate de parametrii fotoreceptorilor și vaselor retiniene, similare celor oferite de analiza histologică, aduce noi perspective în abordarea fiziologiei și fiziopatologiei retiniene. Motivația alegerii afectării retiniene în diabet ca temă de cercetare ține de incidența covârșitoare a diabetului zaharat în populație la nivel global (Cheloni *et al.*, 2019) și de necesitatea elaborării și rafinării unei metode de diagnostic a modificărilor retiniene înainte de apariția oricărui semn clinic.

Diagnosticul precoce al retinopatiei diabetice este necesar pentru conservarea vederii și evitarea complicațiilor. În plus, informațiile obținute pot aduce clarificări noi despre fiziopatologia modificărilor microvasculare și neuronale din diabetul zaharat (Sun *et al.*, 2013).

Studii comparative folosind optica adaptivă s-au efectuat între un lot control și un lot cu diabet zaharat tip I sau cu diabet zaharat tip II, însă nu există niciun studiu care să compare acești parametri între pacienții cu diabet zaharat tip I și diabet zaharat tip II.

În acest context, lucrarea aceasta își propune să depisteze modificările retiniene apărute în diabet înainte de apariția oricărui semn clinic, cu realizarea comparației parametrilor și între cele două tipuri de diabet zaharat. Studiile realizate în cadrul lucrării de doctoral au avut ca scop:

1. măsurarea parametrilor fotoreceptorilor (densitate, spațiere și distribuție spațială) cu camera retiniană rtx 1 la pacienții diagnosticați cu diabet zaharat tip I, tip II fără RD și la lotul control și realizarea analizei statistice comparative între grupuri
2. măsurarea parametrilor arteriolelor retiniene (ramurilor temporale superioare și inferioare) cu camera retiniană rtx 1, la emergența de la periferia discului optic, la pacienții diagnosticați cu diabet zaharat tip I, tip II fără RD și la lotul control și realizarea analizei statistice comparative între grupuri
3. măsurarea markerilor retinieni și vasculari oferiți de OCT, respectiv angio OCT la cele 3 grupuri, realizarea analizei statistice comparative între grupuri
4. studiul leziunilor din retinopatia diabetică cu ajutorul camerei de fund de ochi cu optică adaptivă și compararea imaginilor cu imaginile OCT, angio OCT

### *Metodologia cercetării științifice*

Primele trei studii ale acestei lucrări s-au bazat pe datele obținute în urma analizei imaginilor obținute cu camera retiniană rtx 1 de la cele trei grupuri de interes (subiecți diagnosticați cu diabet tip I, tip II și respectiv subiecți normali). Pentru studiul III s-au folosit și datele obținute din investigațiile OCT și angio OCT. Pentru studiul IV, s-au descris leziunile din retinopatia diabetică cu camera retiniană rtx 1.

Pe de altă parte, investigațiile incluse în această lucrare doctorală sunt efectuate de rutină pentru screening-ul retinopatiei diabetice în clinica Retina.

Protocolul acestei cercetări a fost conceput și realizat în acord cu Declarația de la Helsinki, după normele și cu acordul Comisiei de Etică a Universității de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, după reglementările legale în vigoare, cu informarea și obținerea consimțământului subiecților incluși în studiu.

În studiu au fost incluse datele de la 57 de ochi, 20 pentru grupul control, 17 pentru grupul diabet zaharat tip I și 20 pentru grupul diabet zaharat tip II. Participanții au fost aleși dintre pacienții clinicii de oftalmologie Retina, din București.

*Criteriile de includere* pentru grupurile pacienților diabetici din studiu au fost: vârsta peste 18 ani; diagnostic de diabet tip I sau II, după criteriile Asociației Americane de Diabet (American Diabetes Association) (American Diabetes Association, 2018), stabilit cu minimum 1 an în urmă; lipsa retinopatiei diabetice, conform ghidurilor ETDRS (‘Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs--an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group.’, 1991); acuitate vizuală la distanță (BCVA – best corrected visual acuity) mai mare sau egală cu 20/20

*Criteriile de excludere* în studiu au fost: viciu de refracție cu astigmatism mai mare de 2.50 D în valoare absolută ; viciu de refracție sferic mai mare de 3 D în valoare absolute; antecedente personale patologice oftalmologice de orice fel (incluzând opacitatea mediilor, edem macular, tratamente cu laser, injecții intravitreene, chirurgia cataractei sau alt tip de chirurgie oftalmologică)

Subiecții din grupul control au fost indivizi sănătoși, de vârstă apropiată cu subiecții din grupurile de diabetici. fără antecedente personale patologice sistemice sau oftalmologice, la momentul realizării investigațiilor. Criteriile de excludere pentru grupul control au fost: viciu de refracție cu astigmatism mai mare de 2.50D în valoare absolută; viciu de refracție sferic mai mare de 3D în valoare absolută; antecedente personale patologice sistemice sau oftalmologice.

*Examinarea subiecților.* Toți subiecții au beneficiat de un examen oftalmologic complet care cuprinde: măsurarea acuității vizuale maxim corectate (BCVA) la optotip ETDRS;

măsurarea presiunii intraoculare cu ajutorul unui tonometru non-contact Topcon; examen biomicroscopic al polului anterior și posterior

Pentru dilatarea farmacologică a pupilei subiecților s-au folosit Fenilefrină 10% și Tropicamidă 1%, câte o picătură. S-a preferat dilatarea farmacologică în cazurile în care pupila a avut un diametru mai mic de 4.5mm.

În plus s-au realizat investigații imagistice retinice pentru fiecare subiect în parte după cum urmează: fotografie color și red free a fundului de ochi – cu aparatul DRI OCT Triton, Topcon; scan SS OCT în regiunea maculară tip 3D macula 7x7 mm – cu aparatul DRI OCT Triton, Topcon; scan angio OCT în regiunea maculară 3x3 mm – cu aparatul DRI OCT Triton, Topcon; măsurarea axului antero-posterior ocular utilizând biometria optică – cu aparatul Aladdin, Topcon; fotografie a zonei parafoveolare și a arteriolelor retinice folosind optica adaptivă – cu camera de fund de ochi rx1<sup>TM</sup> AO flood illumination (Imagine Eyes, Orsay, France).

*Statistica datelor* a fost efectuată cu ajutorul software-ului IBM SPSS Statistics (versiunea 23; Armonk, NY: IBM Corp). Testarea statistică de semnificație a fost realizată folosind teste parametrice și non parametrice. S-a considerat semnificativă valoarea pentru  $p < 0.05$ .

### *Studiul 1*

#### **Studiul parametrilor fotoreceptorilor la pacienții diabetici**

În acest studiu, s-a utilizat camera de fund de ochi cu OA rx1 pentru evaluarea parametrilor conurilor la adulți diagnosticați cu diabet tip I, tip II și la voluntari adulți sănătoși. Astfel a fost testat potențialul acestor parametri (densitatea conurilor, spațierea conurilor și diagramele Voronoi) de a releva modificări subtile ale conurilor parafoveale înainte de orice semn clinic de retinopatie. Achiziția imaginilor s-a realizat la o excentricitate de 2, 3 și 4 grade de fovee, nazal, temporal, superior și respectiv inferior.

Obiectivul principal al acestui prim studiu din cadrul cercetării doctorale a fost analiza comparativă a parametrilor mășurați la coordonatele menționate în cele trei grupuri. Pană în prezent s-au realizat comparații între parametrii fotoreceptorilor lotului control și lotului diabeticilor (DZ tip I sau tip II) (Lombardo *et al.*, 2016; Soliman *et al.*, 2016; Zaleska-

Żmijewska *et al.*, 2017). Cu toate acestea, nu a fost realizat încă niciun studiu care să compare diabeticii tip I cu diabeticii tip II din punct de vedere al parametrilor fotoreceptorilor și vaselor.

### *Rezultate*

Densitatea conurilor în grupul diabeticilor tip I (diagnosticați cu diabet zaharat în urmă cu  $19.47 \pm 7.6$  ani) și în grupul diabeticilor tip II (diagnosticați în urmă cu  $8.1 \pm 3.85$  ani) a fost între 7-11% mai mică decât în grupul control. În plus, a fost stabilită o interacțiune semnificativă între coordonate și apartenența la grupul diabeticilor în ceea ce privește variația densității conurilor pe meridianele nazal, superior și inferior.

Studiile deja publicate compară grupul control cu grupul diabeticilor tip I/ tip II, dar niciodată nu au comparat parametrii pacienților cu DZ I cu cei ai pacienților cu DZ II. Aceste este primul studiu, care efectuează această analiză. Deși am obținut diferențe semnificative ai parametrilor fotoreceptorilor (densitate, distanță între conuri) între diabeticii tip I/II și subiecții normali (Fig. 1, 2), între cele 2 grupuri de diabetici nu am găsit diferențe semnificative statistic.

Pe de altă parte, diferențele de distribuție spațială între grupuri, nu sunt omogene în totalitate cu cele demonstrate pentru ceilalți doi parametrii. Un motiv ar putea fi variațiile acestui indicator în rândul populației normale.

În cadrul aceluiași grup, densitatea conurilor a scăzut, iar distanța dintre conuri a crescut cu creșterea distanței de fovee.

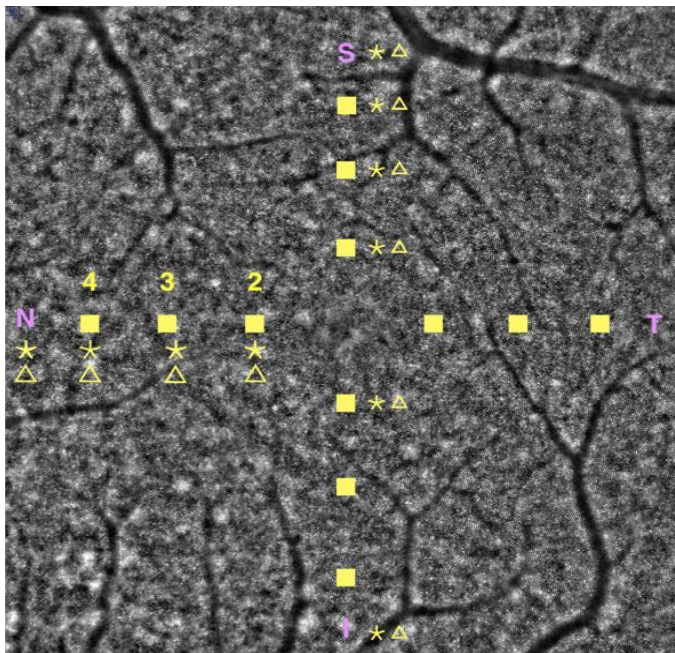
Diferențe între meridianele temporal și nazal în ceea ce privește densitatea conurilor au mai fost menționate, însă meridianul cu mai multe conuri, fiind cel nazal (Feng *et al.*, 2015; Elsner *et al.*, 2017). În studiul din această lucrare doctorală meridianul temporal a prezentat o densitate mai mare a conurilor, în toate grupurile, însă numai la unele excentricități și pentru media valorilor.

Cu toate acestea, a fost demonstrată o diferență semnificativă între medianele orizontal și vertical la 3 și 4 grade excentricitate și între mediile densităților conurilor acestor meridiane. La adulții normali, acest aspect a fost confirmat și în alte studii (Legras, Gaudric și Woog, 2018). Într-un studiu recent, am demonstrat o asimetrie mai mică la pacienții diagnosticați cu DZI față de subiecții sănătoși (Cristescu, Baltă și Zăgrean, 2019). Aceași tendință a fost demonstrată pentru ambele grupuri de diabetici în comparație cu grupul

control. Asimetria dintre meridiane a fost mai mare pentru grupul control (13% la 3 grade, 16% la 4 grade excentricitate, pe când pentru grupurile diabeticilor aceasta a fost de 11% la 3 grade excentricitate și la 4 grade excentricitate a fost de 15% pentru diabeticii tip I și de 9% pentru diabeticii tip II). Această asimetrie, denumită și anizotropie între meridianul orizontal și vertical, poate fi legată de modul în care ne folosim vederea. Când citim, meridianul orizontal este mai sollicitat decât cel vertical. Studiile psihofizice au demonstrat o sensibilitatea la contrast și o rezoluție spațială superioare pentru meridianul orizontal față de cel vertical (Fuller, Rodriguez și Carrasco, 2008).

O asimetrie între meridianele orizontal și vertical a fost observată și în ceea ce privește spațierea fotoreceptorilor, însă diferențele dintre meridiane în cele 3 grupuri au fost similare.

În plus, am verificat posibilitatea de a defini un model de regresie logistică care să determine apartenență la grupurile diabeticilor, însă acest lucru a fost realizabil incluzând numai câte un parametru și cu o acuratețe de aproximativ 50%.



*Fig. 1. Mozaicul conurilor, având marcate meridianele și excentricitățile pentru care s-a facut analiza între grupurile control și al diabeticilor tip I (pentru fiecare meridian, între 2, 3 și respectiv 4 grade excentricitate). Simbol stea -densitatea conurilor, triunghi - spațierea conurilor, cerc - distribuția spațială a conurilor (indicele de aranjare eterogena)*

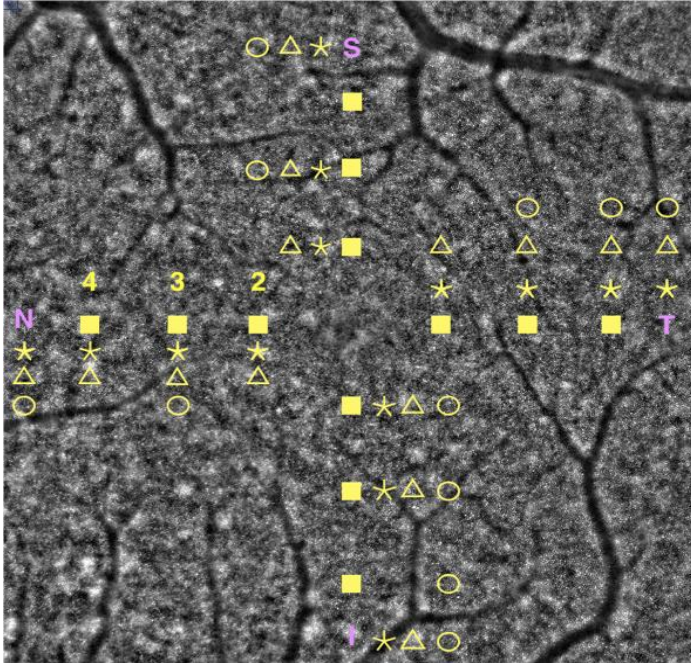


Fig.2. Mozaicul conurilor, având marcate meridianele și excentricitățile pentru care s-a făcut analiza între grupurile control și al diabeticii tip II (pentru fiecare meridian, între 2, 3 și respectiv 4 grade excentricitate)  
 Simbol stea -densitatea conurilor, triunghi - spațierea conurilor, cerc - distribuția spațială a conurilor (indicele de aranjare eterogena)

## Studiul 2

### Studiul parametrilor vaselor la pacienții diabetici

Oftalmoscopia cu optică adaptivă permite vizualizarea non-invazivă și cuantificarea precisă a microvasculaturii. Recent a fost demonstrat că imagistica retiniană care folosește OA poate fi un instrument valoros pentru evaluarea parametrilor arteriolarilor in vivo (Koch *et al.*, 2014).

Zaleska și colaboratorii (Zaleska *et al.*, 2017) au găsit diferențe similare în ceea ce privește raportul perete vascular/lumen între subiecții normali și prediabetici. În plus, diferențe semnificative statistic între lotul control și cel prediabetic au fost obținute și în ceea ce privește lumenul arteriolar. Pe de altă parte, același colectiv a demonstrat că atât raportul perete vascular/lumen, aria secțiunii transversale, cât media pereților vasculari prezintă diferențe semnificative statistic între lotul control și lotul diabeticii tip II (Zaleska-Żmijewska *et al.*, 2019). În diabet, creșterea celulelor musculare netede și fibroza vasculară conduc la îngustarea lumenului arteriolar. Din același motiv, se mărește și valoarea raportului dintre peretelui vascular/lumen (Kannenkeril *et al.*, 2018).

În această parte a cercetării doctorale, s-a utilizat camera de fund de ochi cu OA rtx1 pentru evaluarea parametrilor ramurilor arteriolare temporale superioare/inferioare retiniene,

aproape de emergența din discul optic, la adulți diagnosticați cu diabet tip I, tip II și la voluntari adulți sănătoși. Acești parametri sunt diametrul vasului (vessel diameter VD), grosimea peretelui (wall thickness-WT), diametrul lumenului (lumen diameter-LD), raportul perete vascular/lumen (wall to lumen ratio – WLR), aria secțiunii transversale a pereților vasculari (cross sectional area – WCSA), calculată pe baza diametrului vascular și a diametrului lumenului, ca diferența dintre aria cercului de rază egală cu raza vasului și aria cercului interior de rază egală cu raza primului cerc minus grosimea interfaței medie-adventice .

Obiectivul principal al acestui al doilea studiu a fost analiza comparativă a parametrilor măsurați la coordonatele menționate în cele trei grupuri.

### *Rezultate*

Dintre parametrii studiați ai vaselor, doar raportul perete vascular/lumen a fost semnificativ diferit între grupul control și fiecare grup al pacienților diabetici luat individual (Fig.3). Pe de altă parte, între grupurile de diabetici nu au fost găsite diferențe semnificative statistic. Acesta este primul studiu, în acest moment, care a comparat parametrii arteriolarilor retinieni între pacienții cu DZ I și DZ II folosind tehnologia OA.

În plus, am verificat posibilitatea de a defini un model de regresie logistică pentru a verifica puterea de discriminare a raportului perete/ lumen vascular cu privire la apartenența la grupul control sau la oricare grup de diabetici. ). Modelul de regresie logistică a explicat 31.7% din varianta și a clasificat corect 75.7% din cazuri. Predictorul a fost semnificativ statistic.

Optica adaptivă oferă astfel un instrument valoros pentru cuantificarea modificărilor microvasculare retiniene din diabet, care preced orice alt semn clinic specific retinopatiei diabetice, conform clasificărilor ETDRS (Gallo *et al.*, 2018).

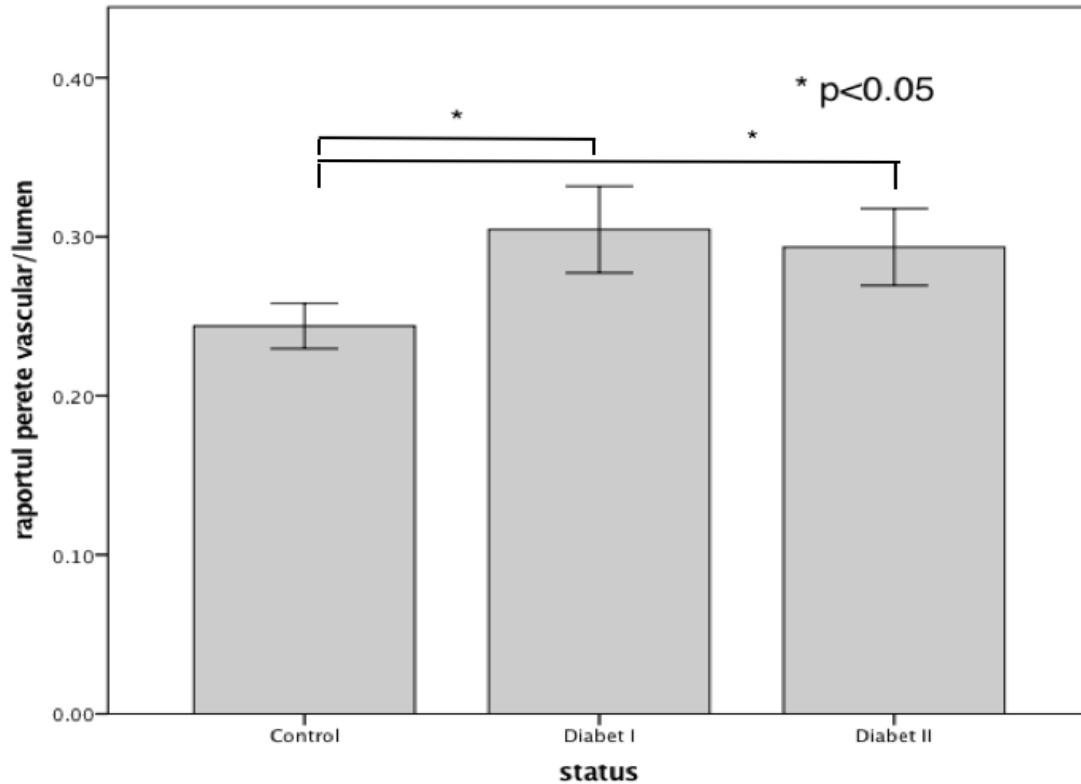


Fig. 3. Box-plot al rapoartelor dintre peretele vascular și lumen al vaselor studiate, pentru fiecare din cele 3 grupuri incluse în studiu. Barele de eroare reprezintă eroarea standard a mediei.

### Studiul 3

#### Markeri OCT și angio OCT în retinopatia diabetică

Studii recente au demonstrat că neurodegenerescenta retiniană, ca rezultat al dezechilibrului dintre substanțele neurotoxice și factorii neuroprotectori, este prezentă înainte de semnele clinice ale afectării microvasculare. Pornind de la această ipoteză, neurodegenerescenta retiniană poate anticipa apariția modificărilor clinice (Villarroel *et al.*, 2010).

Studiile electrofiziologice și psihofizice susțin ideea afectării neuronale înaintea celor vasculare. Acestea au evidențiat modificări patologice înainte de orice afectare microvasculară vizibilă microscopic sau angiografic. Este vorba despre afectarea sensibilității la contrast, alterarea percepției culorilor, timpul prelungit de recuperare pe electroretinogramă

(Pescosolido și Buomprisco, 2014; Pescosolido *et al.*, 2015). În plus, s-a observat la șoarecii diabetici o creștere a latențelor, o scădere a amplitudinii undelor, ceea ce sugerează o afectare a funcției retinei interne.

Grosimea retiniană a fost găsită diferită la diabetici cu sau fără retinopatie diabetică față de control sau s-a demonstrat o reducere a grosimii maculare pericentrale sau a straturilor retiniene interne în maculă la diabetici comparativ cu lotul control (Vujosevic și Midena, 2013).

Pe de altă parte, angio OCT permite vizualizarea plexurilor retiniene capilare in vivo, ceea ce nu este posibil angiografic. Fluoroangiografia nu poate face distincția între plexurile superficiale și profunde și oferă imagini bidimensionale ale plexului capilar superficial. În diabet, angio OCT permite detectarea modificărilor microvasculare înainte de decelarea lor clinică. Densitatea vasculară și zona avasculară foveală sunt markerii cel mai des utilizați în detecția precoce a RD. Severitatea RD, funcția vizuală și răspunsul la tratament se corelează cu aceștia (de Barros Garcia, Isaac și Avila, 2017; Mastropasqua *et al.*, 2017). În plus, angio OCT poate evidenția zonele retiniene neperfuzate, ca și semn potențial al ischemiei maculare (Hwang *et al.*, 2016).

Scopul acestui studiu este compararea markerilor OCT și angio OCT între cele 3 grupuri studiate și evidențierea eventualelor diferențe, cu scopul de a sugera o nouă abordare în screening-ul oftalmologic al pacienților diabetici.

Comparativ între grupuri au fost studiați următorii parametrii : grosimea subfoveală a retinei, grosimea subfoveală a coroidei, grosimea ILM-RNFL (membrana limitantă internă-stratul fibrelor nervoase retiniene), aria zonei avascularare foveale, densitatea vasculară măsurată în plexul capilar retinian superficial.

### *Rezultate*

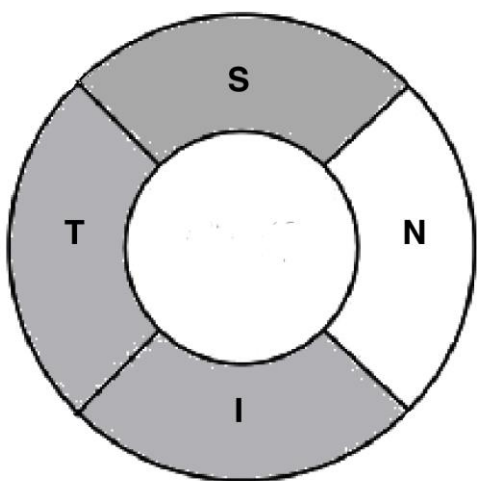
Nu au fost detectate diferențe semnificative ale grosimilor retiniene și coroidiene și ale ariilor zonelor avascularare foveale măsurate în plexul capilar superficial între grupuri.

Pe de altă parte, au fost semnificative diferențele între densitatea vasculară retiniană a plexurilor superficiale capilare între loturile control și al diabeticilor tip I în cadranele temporal ( $p < 0.001$ ), superior ( $p < 0.001$ ) și inferior ( $p = 0.001$ ), dar și parafoveal (luând în calcul mediile aritmetice ale densităților din toate cadranele). Deși nu a fost nicio diferență

semnificativă statistic între lotul control și al diabeticilor tip II, am găsit o diferență între loturile diabeticilor tip I și II în cadranele temporal ( $p=0.045$ ) și superior ( $p=0.021$ ), un motiv putând fi legat de diferența de durată a diabetului dintre cele două grupuri.

Lipsa diferențelor semnificative ale dimensiunii FAZ, dar în prezența reducerii semnificative a densității vasculare a plexului capilar superficial în prezența diabetului zaharat tip I este confirmată de studii recente (Lima-Gómez, Razo Blanco-Hernández și Somilleda-Ventura, 2018). Identificarea reducerii densității vasculare parafoveale susține conceptul afectării neuronale precoce.

Modificările de densitate ale plexului capilar superficial, localizat la nivelul stratului fibrelor nervoase retiniene și celulelor ganglionare, pot apărea înainte de disfuncția neuronală retiniană. În acest studiu am observat alterarea densității retiniene, însă nu și a RNFL-ului (cu excepția cadranelor nazal intern, între diabeticii tip I și control,  $p=0.01$ ) la pacienții diabetici fără RD, comparativ cu subiecții normali.



*Fig. 4. Reprezentarea grafică a cadranelor pentru care s-au obținut diferențe semnificative statistice ale densităților vasculare în plexul capilar superficial (pentru temporal între grupurile control\*DZ I și DZ I \* DZ II, pentru superior între grupurile control\*DZ I și DZ I \* DZ II, pentru inferior între grupurile control\*DZ I)*

#### *Studiul 4*

### **Leziunile retinopatiei diabetice studiate cu ajutorul camerei de fund de ochi cu optica adaptivă**

Afectarea retiniană din diabet poate conduce la orbire. Tipul diabetului, presiunea arterială și valorile glicemiei sunt legate de debutul și progresia RD. După cum am menționat

în capitolele anterioare, la scăderea vederii contribuie atât mecanisme microvasculare, cât și neurodegenerative. Stadiulizarea retinopatiei diabetice depinde de aprecierea semicantitativă a leziunilor retiniene din punct de vedere morfologic și topografic. În departamentele de retină medicală, aceste leziuni sunt evaluate prin examen oftalmologic direct sau teleoftalmologie prin fotografii ale fundului de ochi sau scan-uri de tomografie în coerență optică (Sim *et al.*, 2016).

Cu toate acestea, pe lângă rezoluția înaltă și contrastul tomografiei în coerență optică, detecția leziunilor retiniene de dimensiuni mici și contrast poate fi o provocare datorită aberațiilor optice apărute în polul anterior ocular. Identificarea timpurie a acestor leziuni diabetice poate fi un factor valoros în diagnosticul precoce al RD. În plus, studierea modificărilor în timp ale acestor leziuni printr-o procedură non-invazivă poate ajuta la înțelegerea fiziopatologiei bolii.

Deși cu oftalmoscopia cu OA s-au studiat vasele și fotoreceptorii, cunoașterea generală despre aspectul leziunilor RD pe imaginile de OA trebuie rafinată.

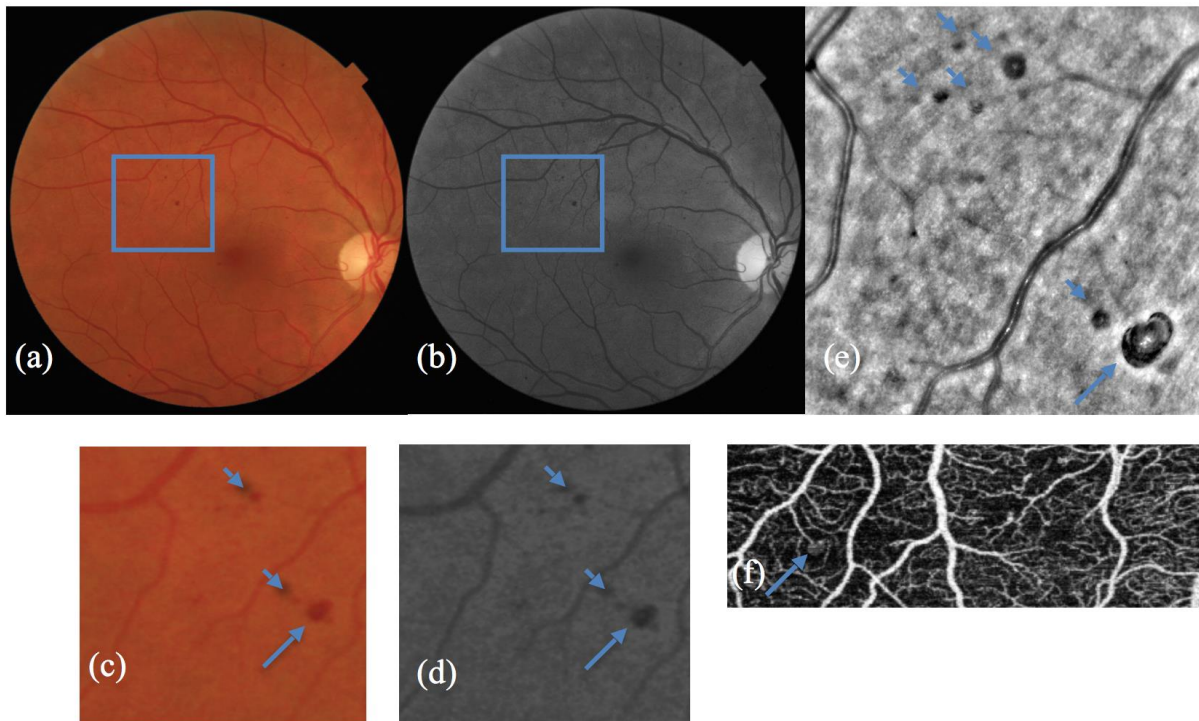
În acest studiu se vor prezenta modificări calitative ale RD utilizând camera de fund de ochi cu OA, rtx1 (Imagine Eyes, Orsay, France), SS OCT, OCT angiography și poză de fund de ochi.

### *Rezultate*

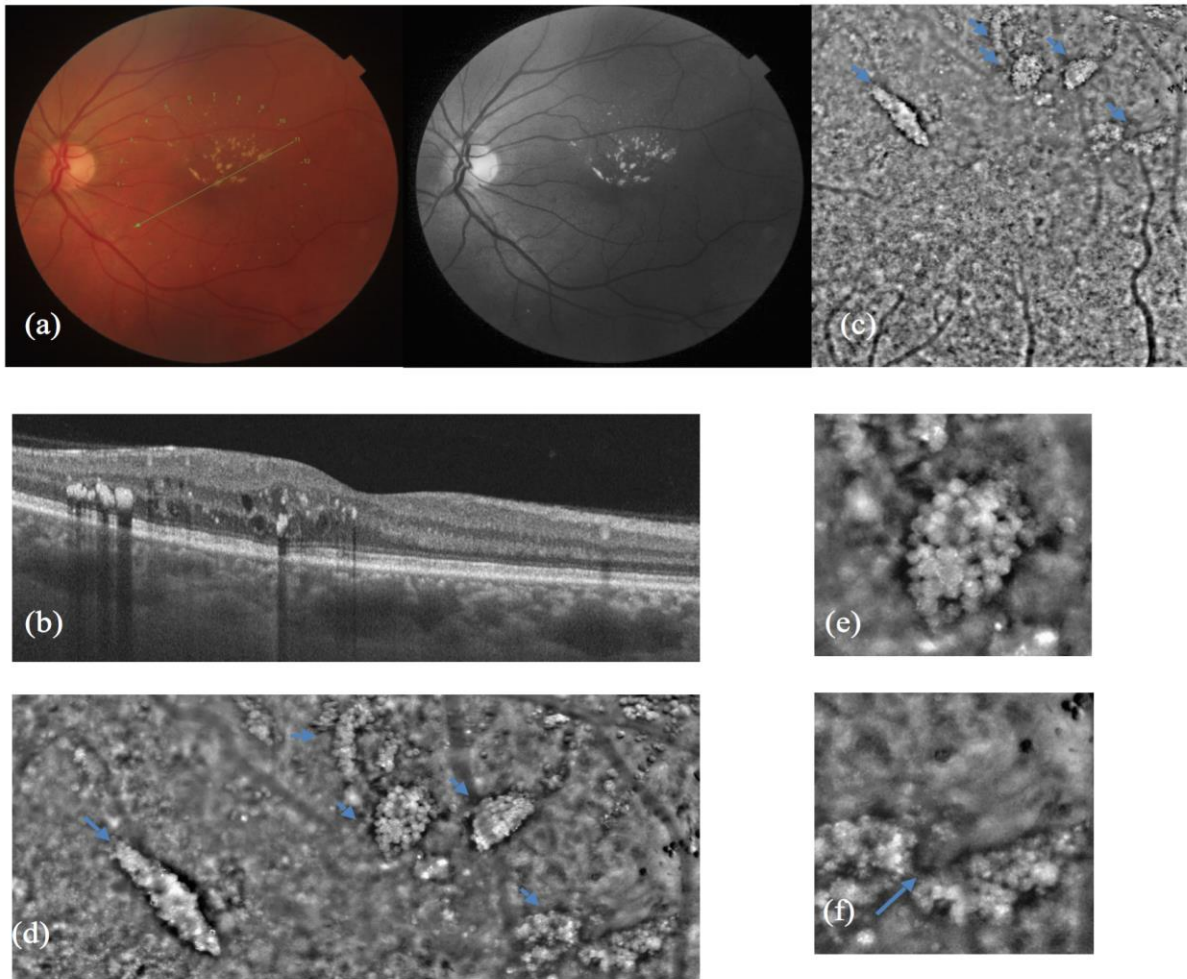
Prezentul studiu al acestei lucrări doctorale și-a propus documentarea leziunilor precoce în RD utilizând o camera de fund de ochi cu OA și vine ca o completare a unor studii deja publicate (Bek, 2014). Astfel, a fost utilizat în această cercetare angioOCT-ul ca investigație suplimentară pentru identificarea noninvazivă a microanevrismelor.

Microanervrismele și hemoragiile punctiforme au fost leziunile cele mai comune întâlnite în retinele studiate. Exsudatele dure au fost însoțite de edem retinian pe scanurile SS-OCT. Pe de altă parte, nu au fost identificate exsudate moi la niciun pacient.

Prezența microanevrismelor pe imaginile OA a fost confirmată de angio OCT, fotografiile de fund de ochi și de scan-urile SS-OCT. Hemoragiile au fost identificate ca leziuni hiporeflexive cu margini distincte. Deși nu s-a putut face distincția dintre hemoragii și microanevrisme pe fotografiile standard și red free de fund de ochi, acest lucru a fost posibil pe angio OCT și pe imaginile retiniene de OA, prin lipsa zonelor hiperreflexive (Fig. 5.)



*Fig. 5. (a), (b) Fotografii standard și red free de fund de ochi ale unui pacient cu microanevrisme și hemoragii. (c), (d) Ariile selectate în fotografiile precedente, (a) și (b), la magnificație mai mare. Săgeata mare indică un microanevrism și capetele săgeților indică hemoragii retiniene. (e) Imagininea de optică adaptivă, corespunzătoare imaginilor (c) și (d). Leziunea neagră cu hiperreflectivitate internă marcată cu o săgeată mare este un microanevrism. Leziunile negre marcate cu săgeți mici sunt hemoragii retiniene. (f) Angiografia OCT a evidențiat numai una din leziunile de mai sus, și anume microanevrismul.*



*Fig. 6. (a) Fotografii standard și red free de fund de ochi ale unui pacient cu exsudate dure și edem retinian. (b) Tomografia în coerență optică (OCT) corespunzătoare săgeții verzi din (a) evidențiază exsudatele dure din straturile retiniene mijlocii. (c) Mozaicul conurilor în imagistica cu optică adaptivă; săgețile mici indică exsudate dure. (d) magnificația treimii superioare a imaginii (c), unde pe lângă exsudatele dure (săgeți mici), se poate vedea efectul edemului asupra imaginii retiniene. (e) magnificație a imaginii (d), detaliu al unui exsudat dur, cu zone de hipo și hiperreflectivitate. (f) magnificație a imaginii (d), detaliu a două exsudate dure și al edemului retinian; spațiile chistice au o linie de demarcație precisă, aspect indicat de săgeata mare*

### **Concluzii și contribuții personale**

Rezultatele prezentate în această lucrare doctorală deschid o nouă abordare a afectării retinienei din diabetul zaharat.

Demonstrarea faptului că afectarea neuronală este un element caracteristic retinopatiei diabetice, decelabil înainte de modificările clinice, atât în studiile experimentale, cât și în cele post-mortem, a creat noi perspective de diagnostic. Pornind de la acest aspect, o dată cu apariția de noi metode imagistice de rezoluție înaltă, s-a pus discuția studierii cantitative și calitative a modificărilor straturilor retiniene.

Optica adaptivă în imagistica retiniană deschide o nouă era în studiul retinei și în particular, al retinopatiei diabetice. Această lucrare doctorală conține rezultatele primei cercetări de acest tip din România. În plus, aceasta include primul studiu care face comparație între cele două tipuri de diabet zaharat, cu referire la parametrii fotoreceptorilor și arteriolelor retiniene.

Rezultatele acestui studiu pilot susțin teoria neurodegenerativă conform căreia celulele neuronale retiniene, inclusiv fotoreceptorii, sunt afectați de timpuriu în diabetul zaharat. Scăderea densității conurilor este legată de prezența diabetului, după cum s-a demonstrat, chiar și în absența semnelor clinice de retinopatie diabetică. Cu toate acestea, datorită variabilității mari a acestui indicator în populația generală sănătoasă, diferențele statistic semnificative încă nu pot fi considerate clinic semnificative. Pe de altă parte, comparații directe cu alte studii similare sunt greu de realizat, pentru că densitatea conurilor a fost evaluată în regiuni retiniene diferite, pe loturi de pacienți cu grupe de vârstă diferite, cu durată a diabetului diferită. În acest context este necesară o evaluare multicentrică, pe loturi mai mari de pacienți diabetici, de diferite stadii ale retinopatiei diabetice, după un protocol standardizat. În plus, se poate studia efectul unor terapii (laser, injecții intravitreene) asupra parametrilor fotoreceptorilor. În plus, între grupurile de diabetici, nu au fost diferențe semnificative ale densităților conurilor.

Pe de altă parte, studiul spațierii conurilor cu software-ul oferit de producător, ia în calcul doar distanța față de cel mai apropiat fotoreceptor, considerând aranjarea conurilor în structuri hexagonale perfecte. Protocolul de studiu al altor grupuri de cercetare a stabilit calculul spațierii conurilor prin calculul mediei aritmetice de la centrul fiecărui con la centrele a șase conuri vecine într-o arie de  $9.6 \mu\text{m}$ , cu ajutorul unui software dezvoltat separat. În orice caz, s-a demonstrat că distanța dintre fotoreceptori crește cu cât distanța de fovee crește, în toate cele trei grupuri și că există diferențe semnificative între grupurile control și diabet I/II, distanțele dintre fotoreceptori fiind mai mari la diabetici, la coordonate similare. În plus, între grupurile

de diabetici, la fel ca în cazul densității, nu au fost diferențe semnificative în ceea ce privește spațierea conurilor.

Analiza diagramelor Voronoi, deși cu rezultate nesuperpozabile între grupuri în studiul din această lucrare, oferă informații importante despre mozaicul conurilor. Aceasta doar împreună cu densitatea și spațierea fotoreceptorilor poate furniza detalii despre integritatea mozaicului conurilor, utilizarea parametrilor multipli și complementari oferind anumite avantaje. Ca și direcție viitoare de cercetare, este necesară stabilirea unor valori prag standard ale datelor normative pentru fiecare parametru în parte pentru definirea unei imagini de ansamblu mai complete. În plus, se pot detalia variațiile fiziologice și patologice ale parametrilor între subiecți, dar și între ochii congeneri. Informațiile adunate pot conduce la dezvoltarea unor algoritmi de diagnostic specifici pentru fiecare stadiu al retinopatiei diabetice. Valorile de referință pentru diferite locații retiniene pot servi astfel în orientarea diagnosticului în cazurile posibil anormale.

Diferența densităților conurilor dintre meridianele orizontal și vertical a fost semnificativă statistic pentru toate cele trei grupuri. Această anizotropie este speculată a fi legată de felul cum vedem, meridianul orizontal fiind mai solicitat atunci când citim și din acest motiv acesta are o densitate mai mare a conurilor. În plus, asimetria a fost mai pronunțată în grupul control, față de grupurile diabeticilor. Această variație a anizotropiei dintre meridianele poate fi explicată prin afectarea funcțională subclinică a fotoreceptorilor la pacienții diabetici. Diferențe între cele două meridianele au fost prezente și în ceea ce privește spațierea fotoreceptorilor, însă fără a decela o asimetrie mai mare în vreunul dintre grupuri.

În ceea ce privește parametrii vasculari retinieni, rezultatele obținute în această lucrare sunt susținute de rezultatele deja comunicate ale evaluării geometrice vaselor retiniene, utilizând optica adaptivă sau imagini stereoscopice ale fundului de ochi. Dilatația arteriolară a fost asociată cu valori crescute ale glicemiei și cu progresia RD. Venodilatația este asociată cu modificări patologice ale retinei în diabet și poate fi un mecanism compensator pentru a crește fluxul sanguin necesar retinei diabetice hipoxice. Creșterea diametrului venulelor a fost detectată împreună cu creșterea concentrației moleculelor inflamatorii la nivelul ochiului. Scăderea diametrului venulelor este un marker folosit pentru evaluarea răspunsului panfotocoagulării laser retiniene în retinopatia diabetică proliferativă. Având în vedere că în

această lucrare s-au evaluat diferențele geometrice dintre arteriole, este necesar ca studiile viitoare cu oftalmoscopia cu optică adaptivă să se concentreze și asupra venulelor retiniene la pacienți cu diferite stadii ale RD. Un element de noutate în reprezintă lipsa oricăror diferențe semnificative ale parametrilor vasculari între grupurile de diabetici, lucru stabilit pentru prima dată.

Optica adaptivă deschide noi perspective de evaluare a modificărilor microvasculare din diabet. Măsurătorile obținute cu acest instrument sunt mai exacte și mai complete ca cele obținute din analiza fotografiilor stereoscopice ale fundului de ochi. Rezoluția înaltă a aparatului permite măsurarea in vivo a pereților vasculari, lumenului, diametrului, raportului perete vascular/lumen, ceea ce până acum era posibil doar invaziv. În plus, cu algoritmi adaptați, este posibilă și măsurarea capilarelor retiniene parafoveale. Studii viitoare sunt necesare pentru corelația parametrilor vasculari cu diferitele stadii ale RD, progresia acestuia, dar și pentru corelația cu diferiți factori de risc.

Tomografia în coerență optică (OCT-ul) este instrumentul care a modificat abordarea bolilor retiniene. Cu o rezoluție axială de 3  $\mu\text{m}$ , permite distincția și măsurarea straturilor retiniene. Modificări ale grosimii retiniene și coroidiene au fost depistate la pacienții diabetici cu sau fără retinopatie. Straturile unde există neuroni pot fi măsurate selectiv, fiind posibilă astfel estimarea dacă există procese de neurodegenerescență retiniană înainte de semnele clinice ale RD. O scădere a stratului celulelor ganglionare sau a stratului fibrelor nervoase retiniene poate deveni o variabilă surogat pentru afectarea structurală neuronală retiniană.

Angiografia OCT este un instrument adițional oferit de OCT. Față de fluoroangiografie are avantajul că rezoluția lui înaltă permite identificarea capilarelor și cuantificarea densităților plexurilor retiniene superficiale și profunde. Deși nu poate detecta leakage-ul vaselor, acest lucru nu este necesar pentru evaluarea modificărilor precoce ale rețelei capilare la pacienții fără retinopatie. A fost identificată o scădere a densității vasculare parafoveale a diabeticilor, în comparație cu subiecții normali. Această modificare a apărut fără scăderea ariei FAZ (zona avasculară foveală). Acesta este cel mai precoce semn al afectării microvasculare induse de diabet, măsurat cu aparatele existente până la oftalmoscopia cu optică adaptive, semn observat de altfel și în această lucrare. Rezultatele studiilor cu aceste instrumente susțin teoria

neurodegenerescentei retiniene din diabet, înainte de apariția semnelor clinice. O posibilă cauză este perfuzia deficitară, rezultată dintr-o densitate vasculară parafoveală scăzută.

Pe de altă parte, faptul că oftalmoscopia cu optică adaptivă a reușit să deceleze diferențe semnificative ale parametrilor fotoreceptorilor înainte de modificările FAZ la pacienții diabetici fără RD, susține ideea că oftalmoscopia cu optică adaptivă are capacitatea de a decela modificări retiniene din diabet înainte de orice altă investigație imagistică existentă.

În plus, autoritățile în domeniu recomandă un screening oftalmologic regulat al pacienților diabetici. Însă, o dată cu creșterea alarmantă a cazurilor nou diagnosticate de retinopatie diabetică, resursele materiale și umane necesare pentru a acoperi această necesitate sunt din ce în ce mai mari. Astfel, fotografia de fund de ochi a fost demonstrată a fi o bună alternativă oftalmoscopiei directe în contextul telemedicinii. Mai mult, progresele din domeniul inteligenței artificiale au demonstrat rezultate bune în stadializarea retinopatiei diabetice. În viitor implicarea unor loturi mai mari în cercetarea utilizând camera de fund de ochi cu optică adaptivă cu algoritmi de machine learning poate permite furnizarea de informații prețioase despre statusul retinian și nu numai al subiecților investigați. Acest lucru a fost realizat deja cu succes pentru fotografiile de fund de ochi.

Din punct de vedere al contribuției personale, elementele de noutate aduse în ceea ce privește modalitățile de evaluare ale afectării neurovasculare din diabetul zaharat răspund cerințelor actuale de rafinare a metodelor imagistice în acest sens. În urma analizei datelor, s-au obținut diferențe semnificative ale parametrilor conurilor între grupul control și grupurile diabeticilor, care confirmă literatura de specialitate din acest moment. În plus, s-a realizat pentru prima dată comparația parametrilor conurilor și vaselor între grupurile de diabetici. Deși durata diabetului a fost remarcabil mai mare în grupul diabeticilor tip I, nu au fost diferențe semnificative statistic între grupuri în ceea ce privește parametrii conurilor și vaselor între diabeticii tip I și diabeticii tip II. Acest aspect ridică noi întrebări în înțelegerea fiziopatologiei din această afecțiune. Mai mult, s-a căutat o corelație între acești markeri și cei mășurați prin angiografia asociată tomografiei prin coerență optică. A fost demonstrată existența unei corelații între raportul perete vascular/lumen și densitatea vasculară parafoveală, însă cercetări viitoare mai consistente sunt necesare pentru a trage o concluzie validă. Pe de altă parte, s-a realizat o

documentare a leziunilor retiniene din retinopatie diabetică utilizând camera retiniană rtx1 și OCT-ul și angio OCT-ul.

Cu toate acestea, studiile cuprinse în prezenta lucrare doctorală au anumite limitări. În primul rând este vorba de rezoluția limitată a camerei de fund de ochi utilizată, care nu permite cuantificarea conurilor în centrul maculei. Aceste limitări tehnice împiedică determinarea unor eventuale modificări induse de diabet în această zonă. În al doilea rând, procedura de investigație constă în analiza repetată a unor suprafețe pătrate cu latura de 80 μm ale căror coordonate sunt alese de investigator. Acest lucru face analiza consumatoare de timp. În al treilea rând, un studiu mai amplu, pe loturi mult mai extinse, care să includă pacienți diabetici cu diferite stadii de retinopatie diabetică este necesar. Altă limitare a studiului a constat în dificultatea selecției pacienților din grupul diabeticilor tip II, lipsa tulburărilor cristaliniene fiind un criteriu de includere important.

În concluzie, evaluarea pacienților diabetici ar trebui să combine testele funcționale cu cele imagistice, care să includă tomografia în coerență optică și oftalmoscopia cu optică adaptivă, cu scopul de a detecta ordinea afectării în unitatea neurovasculară retiniană și de a defini strategiile managementului acestei patologii, având în vedere și afectarea diabetică a altor organe. Studii viitoare pe loturi mai largi de subiecți sunt necesare, după un protocol standardizat, cu introducerea în analiza statistică și a valorilor markerilor serici dozați în diabetul zaharat.

Prezenta lucrare doctorală a demonstrat beneficiile aduse de camera de fund de ochi rtx1 imagisticii retiniene. Oferind imagini de rezoluție înaltă in-vivo, similare cu analiza histologică, camera rtx1 poate avea o contribuție remarcabilă în detecția precoce a modificărilor retiniene din diabet.

## **Abrevieri**

Angio OCT – angiografie OCT

OA – optică adaptivă

DZ I – diabet zaharat tip I

DZ II – diabet zaharat tip II

EPR – epiteliu pigmentar retinian  
ETDRS – Early Treatment Diabetic Retinopathy Study  
FAZ – zonă avasculară foveală (foveal avascular zone)  
OCT – tomografie computerizată în coerență optică  
RD – retinopatie diabetică  
RDNP – retinopatia diabetică neproliferativă  
RDP – retinopatie diabetică proliferativă  
VEGF – vascular endothelial growth factor

### **Bibliografie selectivă**

- Bek, T. (2014). Fine structure in diabetic retinopathy lesions as observed by adaptive optics imaging. A qualitative study, 753–758. <https://doi.org/10.1111/aos.12464>
- de Barros Garcia, J. M. B., Isaac, D. L. C., Avila, M. (2017). Diabetic retinopathy and OCT angiography: clinical findings and future perspectives. *International Journal of Retina and Vitreous*, 3(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s40942-017-0062-2>
- Cheloni, R., Gandolfi, S. A., Signorelli, C., Odone, A. (2019). Global prevalence of diabetic retinopathy: protocol for a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 9(3), e022188. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-022188>
- Corcóstegui, B., Durán, S., González-Albarrán, M. O., Hernández, C., Ruiz-Moreno, J. M., Salvador, J., Simó, R. (2017). Update on Diagnosis and Treatment of Diabetic Retinopathy: A Consensus Guideline of the Working Group of Ocular Health (Spanish Society of Diabetes and Spanish Vitreous and Retina Society). *Journal of Ophthalmology*, 2017, 8234186. <https://doi.org/10.1155/2017/8234186>
- Cristescu, I.-E., Baltă, F., Zăgrean, L. (2019). Cone photoreceptor density in type I diabetic patients measured with an adaptive optics retinal camera. *Romanian Journal of Ophthalmology*, 63(2), 153–160. <https://doi.org/10.22336/rjo.2019.23>
- Cristescu, I.-E., Ochinciuc, R., Balta, F., Zagrean, L. (2019). High-resolution imaging of diabetic retinopathy lesions using an adaptive optics retinal camera. *Romanian Journal of Ophthalmology*, 63(1), 29–34. <https://doi.org/10.22336/rjo.2019.6>
- Fenner, B. J., Wong, R. L. M., Lam, W.-C., Tan, G. S. W., Cheung, G. C. M. (2018). Advances in Retinal Imaging and Applications in Diabetic Retinopathy Screening: A Review. *Ophthalmology and Therapy*, 7(2), 333–346. <https://doi.org/10.1007/s40123-018-0153-7>

- Fuller, S., Rodriguez, R. Z., Carrasco, M. (2008). Apparent contrast differs across the vertical meridian: Visual and attentional factors. *Journal of Vision*, 8(1), 16.1. <https://doi.org/10.1167/8.1.16>
- Gallo, A., Girerd, X., Rosenbaum, D., Diertenbeck, T., Kachenoura, N., Paques, M. (2018). Adaptive Optics Camera Enables To Describe Different Patterns Of Retinal Vasculature In Hypertension And Type 2 Diabetes. *Journal of Hypertension*, 36, e223. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000539627.66198.a9>
- Guariguata, L., Whiting, D. R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U., Shaw, J. E. (2014). Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 103(2), 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.002>
- Hwang, T. S., Gao, S. S., Liu, L., Lauer, A. K., Bailey, S. T., Flaxel, C. J., Jia, Y. (2016). Automated Quantification of Capillary Nonperfusion Using Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy. *JAMA Ophthalmology*, 134(4), 367. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2015.5658>
- Kannenkeril, D., Bosch, A., Harazny, J., Karg, M., Jung, S., Ott, C., Schmieder, R. E. (2018). Early vascular parameters in the micro- and macrocirculation in type 2 diabetes. *Cardiovascular Diabetology*, 17(1), 128. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0770-4>
- Koch, E., Rosenbaum, D., Brolly, A., Sahel, J.-A., Chaumet-Riffaud, P., Girerd, X., Paques, M. (2014). Morphometric analysis of small arteries in the human retina using adaptive optics imaging. *Journal of Hypertension*, 32(4), 890–898. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000095>
- Lee, R., Wong, T. Y., Sabanayagam, C. (2015). Epidemiology of diabetic retinopathy, diabetic macular edema and related vision loss. *Eye and Vision (London, England)*, 2, 17. <https://doi.org/10.1186/s40662-015-0026-2>
- Legras, R., Gaudric, A., Woog, K. (2018). Distribution of cone density, spacing and arrangement in adult healthy retinas with adaptive optics flood illumination. *PLOS ONE*, 13(1), e0191141. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191141>
- Lima-Gómez, V., Razo Blanco-Hernández, D. M., Somilleda-Ventura, S. A. (2018). Comparación de la densidad capilar parafoveal entre sujetos sanos y diabéticos con y sin retinopatía. *Gaceta de Mexico*, 154(92), S30–S35. <https://doi.org/10.24875/GMM.18004575>
- Lombardo, M., Parravano, M., Serrao, S., Ducoli, P., Stirpe, M., Lombardo, G. (2013). Analysis of retinal capillaries in patients with type 1 diabetes and nonproliferative diabetic retinopathy using adaptive optics imaging. *Retina*, 33(8), 1630–1639. <https://doi.org/10.1097/IAE.0b013e3182899326>

- Lombardo, M., Parravano, M., Serrao, S., Ziccardi, L., Giannini, D., Lombardo, G. (2016). Investigation of adaptive optics imaging biomarkers for detecting pathological changes of the cone mosaic in patients with type 1 diabetes mellitus. *PLoS ONE*, *11*(3), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151380>
- Mariotti, L., Devaney, N., Lombardo, G., Lombardo, M. (2017). Analysis of Cone Mosaic Reflectance Properties in Healthy Eyes and in Eyes with Nonproliferative Diabetic Retinopathy Over Time. <https://doi.org/10.1167/iovs.17-21932>
- Mastropasqua, R., Toto, L., Mastropasqua, A., Aloia, R., De Nicola, C., Mattei, P. A., ... Foveal, A. L. (2017). Foveal avascular zone area and parafoveal vessel density measurements in different stages of diabetic retinopathy by optical coherence tomography angiography. *Int J Ophthalmol*, *10*(10). <https://doi.org/10.18240/ijo.2017.10.11>
- Nentwich, M. M., Ulbig, M. W. (2015). Diabetic retinopathy - ocular complications of diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, *6*(3), 489–499. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i3.489>
- Pescosolido, N., Buomprisco, G. (2014). Psychophysical Exams as Early Indicators of Diabetic Retinopathy. *European Endocrinology*, *10*(1), 61–65. <https://doi.org/10.17925/EE.2014.10.01.61>
- Safi, H., Safi, S., Hafezi-Moghadam, A., Ahmadi, H. (2018). Early detection of diabetic retinopathy. *Survey of Ophthalmology*, *63*(5), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2018.04.003>
- Sayin, N., Kara, N., Pekel, G. (2015). Ocular complications of diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, *6*(1), 92–108. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i1.92>
- Sim, D. A., Mitry, D., Alexander, P., Mapani, A., Goverdhan, S., Aslam, T., ... Keane, P. A. (2016). The Evolution of Teleophthalmology Programs in the United Kingdom. *Journal of Diabetes Science and Technology*, *10*(2), 308–317. <https://doi.org/10.1177/1932296816629983>
- Soliman, M. K., Sadiq, M. A., Agarwal, A., Sarwar, S., Hassan, M., Hanout, M., Sepah, Y. J. (2016). High-Resolution Imaging of Parafoveal Cones in Different Stages of Diabetic Retinopathy Using Adaptive Optics Fundus Camera, 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152788>
- Sun, J., Lammer, J., Prager, S., Lin, M., Cheney, M., Silva, P., Aiello, L. (2013). Structural Characteristics of Microaneurysms on Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy (AOSLO) and Surrounding Neural Retinal Pathology in Diabetes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013;54(15):1724
- Tao, Y., Jiang, Y.-R., Li, X.-X., Gao, L., Jonas, J. B. (2010). Long-term results of vitrectomy without endotamponade in proliferative diabetic retinopathy with tractional retinal detachment. *Retina*, *30*(3), 447–451. <https://doi.org/10.1097/IAE.0b013e3181d374a5>

- Threatt, J., Williamson, J. F., Huynh, K., Davis, R. M., Hermayer, K. (2013). Ocular disease, knowledge and technology applications in patients with diabetes. *The American Journal of the Medical Sciences*, 345(4), 266–270. <https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e31828aa6fb>
- Unnikrishnan, R., Pradeepa, R., Joshi, S. R., Mohan, V. (2017). Type 2 Diabetes: Demystifying the Global Epidemic. *Diabetes*, 66(6), 1432–1442. <https://doi.org/10.2337/db16-0766>
- Villarroel, M., Ciudin, A., Hernández, C., Simó, R. (2010). Neurodegeneration: An early event of diabetic retinopathy. *World Journal of Diabetes*, 1(2), 57–64. <https://doi.org/10.4239/wjd.v1.i2.57>
- Villarroel, M., Ciudin, A., Hernández, C., Simó, R. (2010). Neurodegeneration: An early event of diabetic retinopathy. *World Journal of Diabetes*, 1(2), 57–64. <https://doi.org/10.4239/wjd.v1.i2.57>
- Virgili, G., Menchini, F., Casazza, G., Hogg, R., Das, R. R., Wang, X., Michelessi, M. (2015). Optical coherence tomography (OCT) for detection of macular oedema in patients with diabetic retinopathy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (1). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008081.pub3>
- Vujosevic, S., Midena, E. (2013). Retinal layers changes in human preclinical and early clinical diabetic retinopathy support early retinal neuronal and Müller cells alterations. *Journal of Diabetes Research*, 2013, 905058. <https://doi.org/10.1155/2013/905058>
- Wong, T. Y., Sun, J., Kawasaki, R., Ruamviboonsuk, P., Gupta, N., Lansingh, V. C., Taylor, H. R. (2018). Guidelines on Diabetic Eye Care: The International Council of Ophthalmology Recommendations for Screening, Follow-up, Referral, and Treatment Based on Resource Settings. *Ophthalmology*, 125(10), 1608–1622. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2018.04.007>
- Wu, L., Fernandez-Loaiza, P., Sauma, J., Hernandez-Bogantes, E., Masis, M. (2013). Classification of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *World Journal of Diabetes*, 4(6), 290–294. <https://doi.org/10.4239/wjd.v4.i6.290>
- Zaleska-Żmijewska, A., Wawrzyniak, Z. M., Dąbrowska, A., Szaflik, J. P. (2019). Adaptive Optics (rtx1) High-Resolution Imaging of Photoreceptors and Retinal Arteries in Patients with Diabetic Retinopathy. *Journal of Diabetes Research*, 2019, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/9548324>
- Zaleska-Żmijewska, A., Wawrzyniak, Z. M., Ulińska, M., Szaflik, J., Dąbrowska, A., Szaflik, J. P. (2017). Human photoreceptor cone density measured with adaptive optics technology (rtx1 device) in healthy eyes. *Medicine*, 96(25), e7300. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000007300>