

TESIS DE LA UNIVERSIDAD  
DE ZARAGOZA

2024

471

Ana Boned Murillo

# Alteraciones funcionales y estructurales retinianas en pacientes con Diabetes

Director/es

Pinilla Lozano, María Isabel

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

ISSN 2254-7606



Prensas de la Universidad  
Universidad Zaragoza



Universidad de Zaragoza  
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



**Universidad**  
Zaragoza

Tesis Doctoral

# ALTERACIONES FUNCIONALES Y ESTRUCTURALES RETINIANAS EN PACIENTES CON DIABETES

Autor

Ana Boned Murillo

Director/es

Pinilla Lozano, María Isabel

**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA**  
**Escuela de Doctorado**

Programa de Doctorado en Medicina

2024





**Universidad**  
Zaragoza

## Tesis Doctoral

Alteraciones funcionales y estructurales retinianas  
en pacientes con Diabetes

Autor

Ana Boned Murillo

Director

M<sup>a</sup> Isabel Pinilla Lozano

Facultad Medicina  
2023/2024





Universidad Zaragoza

Universidad de  
Zaragoza

*Alteraciones  
funcionales y  
estructurales  
retinianas en  
pacientes con  
Diabetes*

Autor: Ana Boned Murillo

Directora: Isabel Pinilla Lozano

Curso 2023/2024



Esta tesis doctoral se ha desarrollado como un compendio de publicaciones. Se compone de 4 artículos publicados en revistas científicas con factor de impacto de acuerdo al *Journal Citation Report (JCR)*. Todos los artículos versan sobre la misma línea de investigación y la tesis se adhiere a la normativa vigente de la Universidad de Zaragoza.

La tesis doctoral se compone de los siguientes artículos:

**1 )** Orduna-Hospital E, Otero-Rodríguez J, Perdices L, Sánchez-Cano A, Boned-Murillo A, Acha J, Pinilla I. Microperimetry and Optical Coherence Tomography Changes in Type-1 Diabetes Mellitus without Retinopathy. *Diagnostics*. 2021;11(1):136.

**2 )** Boned-Murillo A, Diaz-Barreda MD, Ferreras A, Bartolomé-Sesé I, Orduna-Hospital E, Montes-Rodríguez P, Ascaso J, Pinilla I. Structural and functional findings in patients with moderate diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2021;259(12):3625-3635.

**3 )** Boned-Murillo A, Albertos-Arranz H, Diaz-Barreda MD, Orduna-Hospital E, Sánchez-Cano A, Ferreras A, Cuenca N, Pinilla I. Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review. *Biomedicines*. 2021;10(1):88.

**4 )** Boned-Murillo A, Fernández-Espinosa G, Orduna-Hospital E, Díaz-Barreda MD, Sánchez-Cano A, Sopeña-Pinilla M, Bielsa-Alonso S, Pinilla I. Changes in Inner Retina Thickness and Macular Sensitivity in Patients with Type 2 Diabetes with Moderate Diabetic Retinopathy. *Biomedicines*. 2023; 11(11):2972.





Escuela  
de Doctorado  
Universidad Zaragoza

MARÍA ISABEL PINILLA LOZANO, Catedrática de Oftalmología del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza, Doctora en Medicina y Cirugía y Facultativo Especialista del Área del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza,

HACE CONSTAR, en calidad de directora de la presente Tesis Doctoral:

Que el trabajo de investigación **“Alteraciones funcionales y estructurales retinianas en pacientes con Diabetes”** que presenta Dña. Ana Boned Murillo, Graduada en Medicina, ha sido realizado bajo nuestra dirección y se ajusta al proyecto de tesis presentado con anterioridad, reuniendo los mi necesarios para su presentación y defensa ante el tribunal que corresponda para optar al GRADO DE DOCTOR por la Universidad de Zaragoza.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente en

Zaragoza, a 27 de Febrero de 2024.

Fdo: Profa. Isabel Pinilla Lozano



Este trabajo se ha financiado gracias a los siguientes proyectos de investigación: **“Investigación en Retina y Sistema Visual”** (B08\_20R/B08\_23R). Grupo de Investigación de referencia del Gobierno de Aragón.

El Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER): **“Una manera de hacer Europa”**, Instituto de Salud Carlos III (PI20/00740-FEDER).





# AGRADECIMIENTOS

Gracias Isabel, por tu enorme trabajo, paciencia y confianza, por tus incansables correcciones y por dejarme pertenecer al grupo en que tanto esfuerzo y dedicación has puesto, dándonos con ello la oportunidad de seguir creciendo. Gracias por confiar en mí desde el principio, incluso cuando yo no lo he hecho. No hay manera de agradecer todo lo que me has enseñado y aportado a lo largo de todos estos años.

Gracias Javier por fomentar la investigación y la docencia en oftalmología en Aragón, siempre has mostrado gran interés no solo por esta tesis, sino también por mi formación como oftalmóloga.

Gracias Elvira, por tu implicación, tu capacidad de trabajo y tu habilidad de conseguir siempre la mejor versión. Gracias a todo el grupo de investigación por la ayuda prestada. A ti, Guisela, por tantas horas que hemos compartido entre estas líneas, también al equipo del Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico por dejarme realizar las pruebas, y por supuesto a tí, Lola, gracias por tu ayuda, tu apoyo y sobre todo por los momentos compartidos.

Gracias a mi familia y amigos, por soportar mis ausencias, mis problemas de agenda y sobre todo por colaborar en mis estudios. A mis padres, por todo lo que me han enseñado y me han transmitido, por su cariño, su apoyo y su comprensión, este trabajo también es vuestro. También a David, mi piedra angular en esta andadura por la ciencia.

Y en especial, gracias a Carlos por tu apoyo incondicional, ser la persona que mejor sabe cuánto trabajo y esfuerzo hay en estas páginas, por acompañarme y por ser el mejor compañero de viaje.



# ÍNDICE

ABREVIATURAS .....	15
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>21</b>
1.1. DIABETES MELLITUS.....	21
1.1.1. Epidemiología de la diabetes mellitus .....	21
1.1.2. Criterios diagnósticos de la diabetes mellitus.....	23
1.1.3. Clasificación de la diabetes mellitus .....	24
1.1.4. Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus .....	26
1.2. RETINOPATÍA DIABÉTICA .....	27
1.2.1. Epidemiología de la Retinopatía Diabética.....	27
1.2.2. Estructura retiniana .....	28
1.2.3. Fisiopatología de la Retinopatía Diabética .....	31
1.2.4. Factores que influyen en el desarrollo de Retinopatía Diabética .....	37
1.2.5. Tipos de lesiones en la Retinopatía Diabética.....	38
1.2.6. Clasificación de la Retinopatía Diabética.....	40
1.2.7. Técnicas diagnósticas en la Retinopatía Diabética .....	43
1.2.7.1. Pruebas estructurales .....	43
A. <i>Angiografía Fluoresceínica (AGF)</i> .....	43
a) <i>Aplicaciones</i> .....	44
B. <i>Tomografía de Coherencia Óptica (OCT)</i> .....	47
a) <i>Tipos de OCTs</i> .....	47
C. <i>Angiografía por Tomografía de Coherencia Óptica (OCTA)</i> .....	50
a) <i>Aplicaciones</i> .....	53
1.2.7.2. Pruebas funcionales.....	55
A. <i>Sensibilidad retiniana</i> .....	55
a) <i>Aplicaciones</i> .....	56
b) <i>Tipos de microperímetros</i> .....	57
c) <i>MAIA: Metodología y parámetros de evaluación</i> .....	59
1.2.8. Manejo de la Retinopatía Diabética .....	65
<b>2. JUSTIFICACIÓN DE LA UNIDAD TEMÁTICA .....</b>	<b>69</b>

<b>3.</b>	<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	<b>73</b>
3.1.	Hipótesis .....	73
3.2.	Objetivos.....	73
<b>4.</b>	<b>MÉTODOS</b> .....	<b>77</b>
4.1.	Metodología del 1 <sup>er</sup> artículo.....	77
4.1.1.	Criterios de inclusión y exclusión .....	77
4.1.2.	Protocolo de examen .....	78
4.1.3.	Análisis estructural de la retina .....	79
4.1.4.	Análisis funcional de la retina .....	81
4.1.5.	Recogida y análisis de datos .....	84
4.1.6.	Análisis estadístico.....	84
4.2.	Metodología del 2 <sup>o</sup> y 4 <sup>o</sup> artículo .....	85
4.2.1.	Criterios de inclusión y exclusión .....	85
4.2.2.	Protocolo de examen .....	86
4.2.3.	Análisis estructural de la retina .....	86
4.2.4.	Análisis funcional de la retina .....	87
4.2.5.	Recogida y análisis de datos .....	87
4.2.6.	Análisis estadístico.....	87
4.3.	Metodología del 3 <sup>er</sup> artículo.....	88
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>89</b>
5.1.	ARTÍCULO 1: <i>Microperimetry and Optical Coherence Tomography Changes in Type-1 Diabetes Mellitus without Retinopathy</i> .....	89
5.2.	ARTÍCULO 2: <i>Structural and functional findings in patients with moderate diabetic retinopathy</i> .....	105
5.3.	ARTÍCULO 3: <i>Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review</i> .....	119
5.4.	ARTÍCULO 4: <i>Changes in inner retina thickness and macular sensitivity in patients with type 2 diabetes with moderate diabetic retinopathy</i> .....	147
<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN GLOBAL</b> .....	<b>165</b>
6.1.	Sobre la metodología del estudio.....	166
6.2.	Sobre el espesor retiniano .....	168
6.3.	Sobre la sensibilidad retiniana a nivel macular y estudio anatomofuncional .....	171

6.4.	Sobre los factores de riesgo sistémicos .....	175
6.5.	Sobre la OCTA.....	177
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>183</b>
<b>8.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>187</b>
<b>9.</b>	<b>APÉNDICES.....</b>	<b>211</b>
9.1.	Factor de impacto de las revistas .....	211
9.2.	Justificación de la contribución del doctorando en la coautoría .....	212
9.3.	Renuncia de los coautores.....	213
9.4.	Dictamen a favor por parte del CEICA (Anexo 1) .....	221
9.5.	Consentimiento informado de los pacientes (Anexo 2).....	222
9.6.	Dictamen a favor por parte del CEICA (Anexo 3) .....	231
9.7.	Consentimiento informado de los pacientes (Anexo 4).....	232



# ABREVIATURAS

4-LF: Estrategia de 4 Niveles Fijos	CNTF: Factor Neurotrófico Ciliar
Ac: Anticuerpos	CPE: Capa Plexiforme Externa
ADA: Asociación Americana de Diabetes	CPI: Capa Plexiforme Interna
AGE: Productos Finales de Glicación Avanzada	CS: Central Superior
AGF: Angiografía Fluoresceína	CT: Central Temporal
AMIR: Anomalías Microvasculares Intrarretinianas	DAG: Diacilglicerol-Proteín Kinasa
Anti-VEGF: Inhibidores del VEGF	dB: Decibelios
AP-1: Proteína Activadora 1	DCDM: <i>Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus</i>
asb: Apostilbs	DCP: Plexo Capilar Profundo ( <i>Deep Capillary Plexus</i> )
AV: Agudeza Visual	DF: Dimensión Fractal
BCEA: <i>Bivariate Contour Ellipse Area</i>	DLS: Diodo Láser Superluminiscente
BDNF: Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro	DM MODY: <i>Diabetes Mellitus Maturity Onset Diabetes of the Young</i>
BHR: Barrera Hematorretiniana	DM: Diabetes Mellitus
BM: Membrana de Bruch	DM1: Diabetes Mellitus tipo 1
C global: Central Global	DM1A: Diabetes Mellitus tipo 1 mediada por la inmunidad
C: Central	DM1B: Diabetes Mellitus tipo 1 idiopática
CC: Coriocapilar	DM2: Diabetes Mellitus tipo 2
CG: Células Ganglionares	DMAE: Degeneración Macular Asociada a la Edad
CCG: Capa de Células Ganglionares	DRI: <i>Deep Range Imaging</i>
CFNR/GCL: Límite entre la Capa de Células Ganglionares y de CFNR	DRIL: Desorganización de las Capas Internas de la Retina ( <i>Inner Retinal Layers</i> )
CFNR: Capa de Fibras Nerviosas de la Retina	DS: Desviación Estándar
CI: Central Inferior	DV: Densidad Vascular
CN: Central Nasal	EE: Equivalente Esférico
CNE: Capa Nuclear Externa	
CNI: Capa Nuclear Interna	

EMD: Edema Macular Diabético	LA: Longitud Axial
EPR: Epitelio Pigmentario de la Retina	LDL-C: Colesterol Baja Densidad
ETDRS: Estudio de Tratamiento Temprano de la Retinopatía Diabética	LogMAR: Logaritmo del Mínimo Ángulo de Resolución
FAZ: <i>Foveal Avascular Zone</i>	MA: Microaneurisma
FG: Filtrado Glomerular	MAIA: <i>Macular Integrity Assessment</i>
GAD65: Anticuerpos contra la Descarboxilasa del Ácido Glutámico	MAVC: Mejor Agudeza Visual Corregida
GC: Células Ganglionares	MCP1: Proteína Quimiotáctica de Monocitos 1
GCL: Capa de Células Ganglionares de la Retina	ERGmf: Electroretinograma Multifocal
GDRPG: <i>Global Diabetic Retinopathy Project Group</i>	MLE: Membrana Limitante Externa
GFAP: Proteína Glial Fibrilar Ácida	MLI: Membrana Limitante Interna
HbA1c: Hemoglobina Glicada	NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
HDL: Colesterol Alta Densidad	ND: Neurodegeneración
HLA: Antígeno Leucocitario Humano	NE: Nasal Externo
HTA: Hipertensión Arterial	NF-κB: Factor Nuclear Kappa B
ICAM: Molécula de Adhesión Intercelular 1	NGF: Factor de Crecimiento Nervioso
ICP: Plexo Capilar Intermedio ( <i>Intermediate Capillary Plexus</i> )	NI: Nasal Interno
IDF: <i>International Diabetes Federation</i>	NMDA: N-Metil D-Aspartato
IE: Inferior Externo	NT-3: Neurotrofina-3
II: Inferior Interno	NV: Neovasos
IL-6: Interleucina-6	OCT: Tomografía de Coherencia Óptica
ILM: Membrana limitante interna ( <i>Internal Limiting Membrane</i> )	OCTA: Angiografía por Tomografía de Coherencia Óptica
IP-10: Proteína 10 Inducida por Interferón	OMS: Organización Mundial de la Salud
IPL/INL: Límite entre la capa plexiforme interna y la capa nuclear interna	pCFNR/pRNFL: Capa de Fibras Nerviosas de la Retina Peripapilar ( <i>Peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer</i> )
IRL: Capas Internas de la Retina ( <i>Inner Retinal Layers</i> )	PCI: Plexo Capilar Intermedio
IS/OS: Límite entre los segmentos internos y externos de los fotorreceptores ( <i>Inner Segments/Outer Segments</i> )	PCP: Plexo Capilar Profundo
	PCRP: Plexo Capilar Radial Peripapilar
	PCS: Plexo Capilar Superficial

PDGE: Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas

PEDF: Factor Derivado del Epitelio Pigmentario

PET FDG: Tomografía de Emisión de Positrones con Fluorodesoxiglucosa

PIO: Presión Intraocular

PKC: Proteína Quinasa C

PRISMA: *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*

PRL: *Preferred Retinal Locus*

RD: Retinopatía Diabética

RDNP: Retinopatía Diabética No Proliferativa

RDP: Retinopatía Diabética Proliferativa

RNFL: Capa de Fibras Nerviosas de la Retina (*Retinal Nerve Fiber Layer*)

ROS: Especies Reactivas de Oxígeno (*Reactive Oxygen Species*)

RPE: Epitelio Pigmentario de la Retina (*Retinal Pigment Epithelium*)

RT: Retina Total

SCP: Plexo Capilar Superficial (*Superficial Capillary Plexus*)

SD-OCT: Tomografía Coherencia Óptica Dominio Espectral (*Spectral Domain Optic Coherence Tomography*)

SE: Segmentos Externos

SI: Segmentos Internos

SLO: Oftalmoscopio Láser Barrido o *Scanning Laser Ophthalmoscope*

SNC: Sistema Nervioso Central

SPSS: *Software Statistical Package for Social Sciences*

SS-OCT: Tomografía de Coherencia Óptica de barrido (*Swept Source Optic Coherence Tomography*)

TA: Tensión Arterial

TC: Temporal Central

TD-OCT: Tomografía de Coherencia Óptica Dominio Tiempo (*Time Domain Optic Coherence Tomography*)

TE: Temporal Externo

TG: Triglicéridos

TGF- $\beta$ : Factor de Crecimiento Transformante  $\beta$

TI: Temporal Interno

TNF- $\alpha$ : Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$

UNV: Unidad Neurovascular

VEGF: Factor de Crecimiento Endotelial Vascolar

WF-OCTA: Angiografía por Tomografía de Coherencia Óptica de Campo Amplio (*Wide Field OCTA*)

ZAF: Zona Avascular Foveal



# INTRODUCCIÓN



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. DIABETES MELLITUS

### 1.1.1. Epidemiología de la diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es una de las enfermedades de mayor importancia socio-sanitaria del siglo XXI (1), con una prevalencia, en el año 2021, cercana a los 537 millones de personas según la *International Diabetes Federation (FID)*, lo que supone cerca del 8% de la población mundial (2) (Figura 1). Su incidencia esperada es de más de 643 millones en 2030, presentando un aumento de hasta 783 millones para el año 2045 a consecuencia del creciente envejecimiento poblacional, los cambios en los hábitos de vida de los países en desarrollo, el sedentarismo y la obesidad (3). Cerca del 90% de los diabéticos son pacientes con DM tipo 2 (DM2). Además, uno de cada dos adultos con diabetes no está diagnosticado (lo que supone aproximadamente 240 millones de personas) y 541 millones de personas sufren prediabetes, que los postula en alto riesgo de desarrollar DM2 (2).

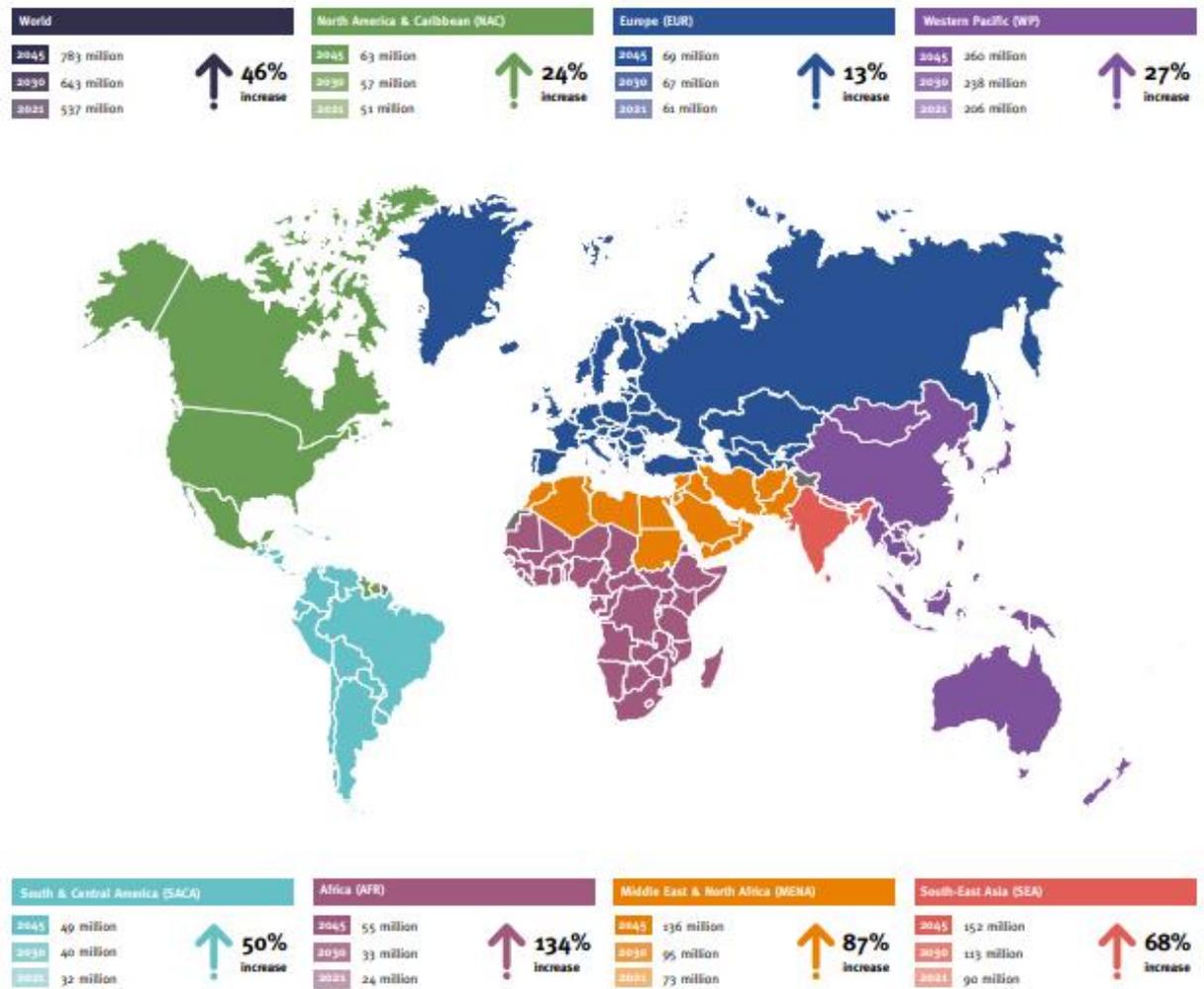


Figura 1. Estimación del aumento del número de personas afectadas por diabetes mellitus a nivel mundial desde el 2019 al 2045. Tomado de: International Diabetes Federation (FID). Atlas de la diabetes de la FID [Internet]. 9ª edición (3).

El 9% del gasto en salud mundial se destina a la diabetes (966.000 millones de dólares) y se estima que en el año 2030 se eleve a 1 billón de dólares, alcanzando los 1,1 billones de dólares en 2045 (2).

En 2021, se calculó que 6,7 millones de personas fallecieron a consecuencia de la DM y supuso un importante coste sanitario, reportando un incremento progresivo en los últimos 15 años (2). Por otro lado, 3 de cada 4 adultos con DM viven en países subdesarrollados o en vías de desarrollo.

La notable importancia de esta enfermedad, que se ha llegado a considerar la pandemia del siglo XXI, así como sus consecuencias a nivel de la morbilidad y mortalidad, hace que sea esencial

investigar y definir biomarcadores que puedan predecir el desarrollo de la enfermedad y, por lo tanto, mejorar su manejo, así como detener su progresión.

### 1.1.2. Criterios diagnósticos de la diabetes mellitus

El término “diabetes mellitus” engloba un grupo de enfermedades metabólicas que se caracterizan por la hiperglucemia crónica, ya sea por un defecto en la secreción de la insulina, en su mecanismo de acción o en ambos.

Un comité de expertos de la *Asociación Americana de Diabetes* (ADA) estipuló en 1997 los criterios analíticos para el diagnóstico de DM que se detallan en la Tabla 1. Desde el 2010 se incorporó la cuantificación de la hemoglobina glicosilada o glicada (HbA1c) como un nuevo criterio diagnóstico. Un valor superior a 6,5% se considera diagnóstico de diabetes. Esta determinación detecta un tercio más de casos que se quedarían sin diagnosticar con el test de glucemia en ayunas (4).

<b>Criterios de diagnóstico de la diabetes</b>
1.- HbA1c $\geq 6,5\%$ . El test debe realizarse en un laboratorio que use el método certificado por el “Nacional Glycohemoglobin Standardization Program”, certificado y estandarizado por el estudio de “Diabetes Control and Complications Trial”. *
o
2.- Glucosa plasmática en ayunas $\geq 126$ mg/dl (7,7 mmol/l). Definiendo ayunas como no ingesta calórica de al menos 8 horas. *
o
3.- Glucosa plasmática a las 2 horas del Test de Tolerancia Oral de Glucosa (TTOG) $\geq 200$ mg/dl (11,1 mmol/l). El test debe realizarse según lo descrito por la Organización Mundial de la Salud, usando una cantidad de azúcar equivalente a 75 g de glucosa deshidratada disuelta en agua. *
o
4.- En un paciente con síntomas claros de hiperglucemia o crisis hiperglucémicas, una glucosa plasmática tomada al azar $\geq 200$ mg/dl (11,1 mmol/l).
<b>* En ausencia de hiperglucemia inequívoca, los criterios 1-3 deben ser confirmados repitiendo el test.</b>

Tabla 1. Criterios diagnósticos de la diabetes adaptada de *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (DCDM) 2010* (5).

### 1.1.3. Clasificación de la diabetes mellitus

Las clasificaciones de los diferentes tipos de diabetes han variado a lo largo de los años. Actualmente, el comité de Expertos de la ADA y la *Organización Mundial de la Salud* (OMS) clasifica la DM en cuatro categorías fundamentales (4):

- *Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)*, previamente denominada DM insulino dependiente o de inicio juvenil, constituyen entre el 5-10% de los casos de DM. Aunque su aparición se da preferentemente en la infancia o adolescencia, la edad no se considera un factor determinante. Existe un déficit absoluto de insulina secundario a la destrucción de las células  $\beta$  productoras de insulina del páncreas. Comúnmente el primer síntoma de la enfermedad suele ser la cetoacidosis o una hiperglucemia crónica moderada agravada por factores estresantes o infecciones. Se subclasifica en:
  - *DM1 mediada por la inmunidad (DM1A)*: la forma mayoritaria, de etiología autoinmune. Aunque puede darse en cualquier rango de edad, es más prevalente en niños y adolescentes. Son pacientes con una predisposición genética; está ampliamente descrita su asociación con el Antígeno Leucocitario Humano (HLA) II, unido a los genes DQA y DQB, e influenciado por los genes DRB (presentando Anticuerpos (Ac) contra las células de los islotes pancreáticos, Ac contra la insulina, Ac contra la Decarboxilasa del Ácido Glutámico (GAD65), Ac contra la tirosin-fosfatasa IA-2 y IA2 $\beta$  (4)), relacionado con factores ambientales aún poco conocidos. Es frecuente que se asocie a otras enfermedades autoinmunes (enfermedad de Graves, la tiroiditis de Hashimoto, la enfermedad de Addison, vitíligo, esprúe celiaco, hepatitis autoinmune, miastenia gravis o anemia perniciosa). El grado de destrucción de los islotes pancreáticos, del que depende la clínica, es variable siendo en estadios finales la secreción de insulina nula o casi nula.
  - *DM1 idiopática (DM1B)*: de etiología idiopática, presentan insulinopenia con tendencia a la cetoacidosis que precisa tratamiento con insulina de forma crónica. No se ha encontrado relación con el HLA ni evidencia de enfermedad autoinmune.
  
- *Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)*, anteriormente denominada no insulino dependiente (90%) (10). Suele darse en adultos mayores de 30 años, aunque el incremento de la

obesidad infantil y juvenil ha desencadenado casos tempranos cada vez más frecuentes. Es de origen multifactorial, teniendo un gran papel en su desarrollo la carga genética, el estilo de vida y la obesidad. Se desencadena por la resistencia a la acción periférica de la insulina, que provoca un aumento de su secreción y agotamiento pancreático, con subsecuente fallo progresivo en la secreción pancreática de la misma (6).

- Otros tipos de diabetes:
  - *Diabetes mellitus gestacional*: intolerancia a la glucosa que aparece por primera vez durante el segundo o tercer trimestre de la gestación, favorecida por los cambios hormonales del embarazo y la susceptibilidad genética, entre otros factores. En la mayoría de los casos la paciente recupera el estado glucémico tras la gestación.
  - *Diabetes monogénica*: llamada MODY por sus siglas en inglés *Maturity Onset Diabetes of the Young*.
  - Diabetes causada por enfermedades del páncreas exocrino (como por ejemplo la fibrosis quística).
  - Diabetes causada por fármacos (como los inmunosupresores o los glucocorticoides), tóxicos o infecciones (4).

Aunque la DM1 precisa siempre la administración de insulina exógena de reemplazo, para regular la glucosa en la sangre, el tratamiento de la DM2 incluye más opciones terapéuticas que van desde cambios en la dieta, aumento de la actividad física, una gran variedad de fármacos orales o inyectados, o tratamiento con insulina en casos más avanzados.

Es frecuente que pacientes con DM permanezcan asintomáticos durante meses o incluso años. Se estima que cerca del 46,50% de los adultos afectados de DM están aún sin diagnosticar (7). Esta dificultad en el diagnóstico hace imperativo el desarrollo de unos criterios rigurosos para el cribado y el diagnóstico de esta enfermedad.

### 1.1.4. Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus

La hiperglucemia crónica derivada de la DM tiene repercusiones a nivel de diversos órganos y sistemas (Figura 2), entre los que cabe destacar (8):

- *Complicaciones microvasculares:* causadas por la disfunción de los vasos de pequeño calibre. Se da principalmente a nivel ocular, retinopatía diabética (RD), renal (nefropatía diabética) y neurológico (neuropatía diabética).
- *Complicaciones macrovasculares:* secundarias a la disfunción de los vasos sanguíneos de gran calibre, responsables de la enfermedad cardiovascular, la enfermedad cerebrovascular y la arteriopatía periférica.

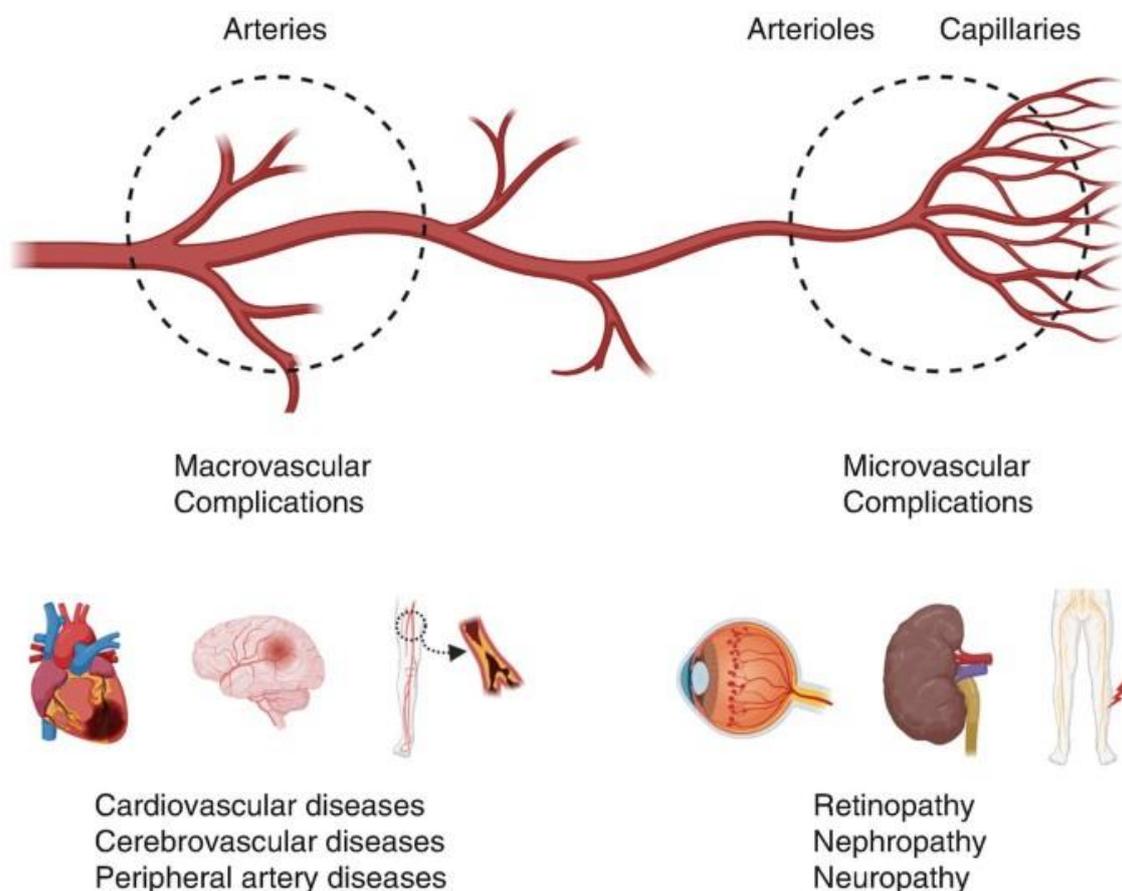


Figura 2. Esquemas de las complicaciones a nivel microvascular (retinopatía diabética, nefropatía diabética, neuropatía diabética) y macrovascular (enfermedad cardiovascular, la enfermedad cerebrovascular y la arteriopatía periférica) derivadas de la hiperglucemia crónica en contexto de diabetes mellitus. Tomado de: Yang, W. Macro- and Microvascular Complications of Diabetes. En: Lee SH; Kang, DW. Stroke Revisited: Diabetes in Stroke. Singapore: Springer; 2021. p. 25-31(5).

## 1.2. RETINOPATÍA DIABÉTICA

La DM es una enfermedad multisistémica, con múltiples complicaciones tanto a nivel macro como microangiopático. La RD es una de sus complicaciones microvascular más grave y frecuente (1,9). Conocer la epidemiología de la enfermedad nos permitirá estimar el riesgo de la incidencia de RD, la posible progresión de esta, el riesgo de transformación de formas de RD No Proliferativa (RDNP) a RD Proliferativa (RDP) así como la posibilidad de pérdida de visión severa en los pacientes afectados de RD.

### 1.2.1. Epidemiología de la Retinopatía Diabética

La RD es la principal causa de ceguera legal en la población activa de los países en desarrollo. Mientras que el edema macular diabético (EMD) es la causa más frecuente de disminución de la agudeza visual (AV), la RDP es responsable de los déficits visuales más graves de visión (5,9).

Los datos referentes a la prevalencia de RD en pacientes con DM son variables, pero se estima que aproximadamente el 25% del total de pacientes con DM padecen algún grado de RD y cerca del 2-10% presentan EMD clínicamente significativo (5). Existen diferencias en cuanto al tipo de diabetes, siendo mayor la incidencia de RDP en pacientes con DM1 frente a los pacientes que presentan DM2 (10).

Las tasas de retinopatía son más altas en personas de raza caucásica y, posiblemente, en las personas de estrato socioeconómico más bajo (11).

La incidencia de complicaciones también varía en función de la duración de la enfermedad: si esta es superior a los 15 años se estima que el 15% presentarán EMD y si es superior a 20 años más del 90% presentarán algún grado de RD (5).

### 1.2.2. Estructura retiniana

La retina es parte del sistema nervioso central (SNC) encargada de recoger la información visual que mediante los axones de las células ganglionares (CG) es transportada en forma de señales eléctricas hacia el cerebro. Embriológicamente tiene su origen en el tubo neural y compone de una retina sensorial encargada de la fototransducción, y una retina neural dedicada al procesamiento y transmisión de la información (12).

Se componen de diversos cuerpos celulares y prolongaciones sinápticas que forman 10 capas. Se enumeran a continuación desde la más interna a la más externa (Figura 3):

- *Membrana limitante interna (MLI)*: está compuesta por las terminaciones de las células de Müller y sus uniones a la lámina basal; aunque no es una verdadera membrana, delimita con el humor vítreo.
- *Capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR)*: formada por los axones de las CG. Estos axones no están mielinizados a diferencia del resto de estructuras del sistema nervioso.
- *Capa de CG (CCG)*: contiene los cuerpos celulares de las CG.
- *Capa plexiforme interna (CPI)*: formado por los axones de las células bipolares y amacrinas, y las dendritas de las CG y sus sinapsis.
- *Capa nuclear interna (CNI)*: compuesta por los cuerpos de las células horizontales, amacrinas, bipolares y de Müller.
- *Capa plexiforme externa (CPE)*: formada por las sinapsis entre los terminales sinápticos de los fotorreceptores y las células horizontales y bipolares.
- *Capa nuclear externa (CNE)*: compuesta por los núcleos de los bastones y los conos.
- *Membrana limitante externa (MLE)*: compuesta por las uniones estrechas entre fotorreceptores y las células de Müller; al igual que la MLI no es una verdadera membrana.
- *Capa de los segmentos internos (SI) y externos (SE) de células fotorreceptoras*: formada por los SI y SE de conos y bastones. Son los encargados de transformar las señales lumínicas en potenciales de acción que serán transmitidos hasta el córtex visual para interpretar la información.
- *Epitelio pigmentario de la retina (EPR)*: a diferencia de las anteriores, no contiene neuronas si no una monocapa de células epiteliales hexagonales. La membrana de Bruch (MB) lo separa de la coroides, de la cual recibe su vascularización, y las

uniones estrechas entre las células del EPR componen la barrera hematorretiniana (BHR) externa. La melanina del EPR impide la reflexión de luz en la retina lo cual evita su reflexión en la retina.

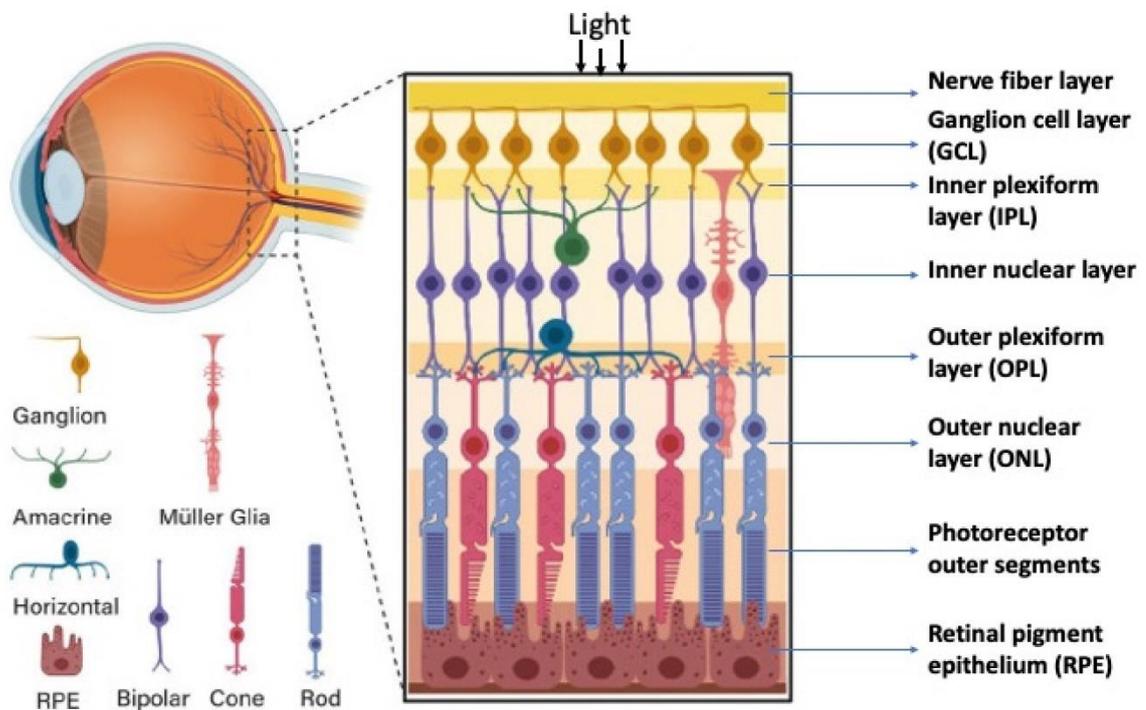


Figura 3. Diagrama esquemático de las 10 capas de la retina y las células que la componen. Tomado de: Grigoryan EN. *Self-Organization of the Retina during Eye Development, Retinal Regeneration In Vivo, and in Retinal 3D Organoids In Vitro. Biomedicines.* 2022 Jun 20;10(6):1458 (13).

Las neuronas son células especializadas cuya membrana plasmática se excita bajo la influencia de un estímulo luminoso y tiene la capacidad de conducir dicho impulso nervioso en forma de potencial de acción. Se componen de un soma o cuerpo celular; prolongaciones denominadas dendritas, encargadas de transmitir impulsos hacia el soma; así como una terminación larga, el axón, que transmite impulsos desde el soma hacia otra neurona u órgano diana de forma unidireccional (12).

En la retina, predomina un tipo de células gliales que no se encuentran en ninguna otra zona del sistema nervioso: las células de Müller, cuyas prolongaciones se extienden por todo el espesor de la retina, desde la MLE hasta las CG. Son encargadas de secretar factores que intervienen en

la regulación del flujo sanguíneo, la permeabilidad vascular y la supervivencia celular. Además, la retina tiene otras células gliales como astrocitos o células microgliales.

Las células de la retina transmiten la información visual liberando neurotransmisores como el glutamato siguiendo la vía vertical, que en la vía fotópica partiría desde el cono a la célula bipolar y de ella a la CG. Por su parte, las células horizontales y las amacrinas son interneuronas laterales que pueden modular las respuestas de los elementos verticales de la retina (14).

Por otro lado, se sabe que la pérdida neuronal es un proceso irreversible, dado que la mayoría de las neuronas no se dividen una vez alcanzada la madurez (15).

### 1.2.3. Fisiopatología de la Retinopatía Diabética

Aunque clásicamente se ha considerado que la RD es una enfermedad microvascular secundaria a cambios metabólicos derivados de la hiperglucemia crónica *per se* así como de vías metabólicas activadas (vía de los polioles, vía de la hexosamina, vía diacilglicerol-proteín kinasa (DAG-PKC), productos finales de glicación avanzada -AGE- y estrés oxidativo), se ha demostrado que previa a la aparición de estos cambios a nivel de la microcirculación retiniana se detectan alteraciones provocadas por neurodegeneración (ND), que serían detectables incluso durante las primeras etapas de la diabetes. Esta ND conlleva cambios funcionales como la pérdida de sensibilidad al contraste, alteraciones cromáticas y en la adaptación a la oscuridad o la reducción del tiempo implícito del electroretinograma multifocal (ERGMf) (16), modificaciones en el ERG de campo amplio, evidentes, sobre todo en los potenciales oscilatorios, y en otras pruebas neurofisiológicas (16), alteraciones perimétricas (17,18) o cambios en las medidas de tomografía de coherencia óptica (OCT) del espesor interno de la retina (19–22).

Todo ello se puede detectar incluso en pacientes diabéticos con una duración de la enfermedad inferior a dos años, es decir, antes de que se puedan detectar lesiones microvasculares en el examen oftalmológico (23). Estos cambios de degeneración neurretiniana activarían secundariamente diversas vías metabólicas implicadas en los procesos microangiopáticos, así como la alteración de la BHR que resulta crucial en la patogénesis de la RD.

El sistema nervioso se organiza en Unidades Neurovasculares (UNV), encargadas de coordinar las sinapsis, suministrar la demanda metabólica, el aporte sanguíneo y la eliminación de desechos, y en definitiva de mantener la homeostasis de la retina en condiciones saludables. La UNV de la retina (etimológicamente red de neuronas) está compuesta por neuronas (CG, células amacrinas, células bipolares y células horizontales), células gliales (células de Müller, astrocitos y microglía) y células vasculares (principalmente células endoteliales y pericitos) cuya fisiología, al igual que en otras patologías degenerativas del SNC como el accidente cerebrovascular, el Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, se ve alterada en la RD. Los primeros trabajos en relación con la ND retiniana son los de Barber y cols. (24), que observaron una alta tasa de apoptosis en la neurorretina (que demuestran como células TUNEL positivas) sin afectación de células endoteliales, en ratas a las que se les había inducido diabetes mediante el uso de estreptozotocina frente a las no diabéticas, incluso en aquellas que no mostraban anomalías microvasculares.

Dentro de las células gliales, las células de Müller regulan el metabolismo retiniano y modulan la función de las neuronas y los vasos sanguíneos y abarcan todo el espesor de la retina desde el EPR hasta la MLI. Además, mediante la liberación del factor derivado del epitelio pigmentario (PEDF) y trombospondina-1, favorecen las uniones estrechas de las células endoteliales y mantienen la BHR. Por otro lado, en situaciones de hipoxia, las células de Müller protegen a las CG mediante la liberación del PEDF, el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y la interleucina-6 (IL-6) (25). También se encargan de regular el exceso de glutamato extracelular liberado durante la neurotransmisión, reduciendo así el nivel excitotóxico de glutamato. Junto a las células de Müller, los astrocitos regulan la BHR, gracias a sus prolongaciones que rodean los vasos sanguíneos y las CG. Los astrocitos se localizan en la CFNR y también participan en la neuroprotección mediante el transporte de glutamato, que es liberado por las neuronas excitadas y recaptado por los astrocitos a través del transportador de glutamato, y activa la glucólisis resultando en la inducción de respuestas antioxidantes a través de la vía de las pentosas fosfato y el glutatión (25). La microglía presenta por un lado un estado proinflamatorio (M1) que induce la secreción de citoquinas proinflamatorias como la IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), y otro estado antiinflamatorio (M2) que favorece la liberación de citocinas antiinflamatorias como IL-4, IL-10, IL-13 o factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ 1).

Se sabe que un buen control de la glucemia reduce las posibilidades de desarrollar RD así como su progresión, tanto en paciente con DM1 como en pacientes con DM2 (26). La hiperglucemia mantenida activa varias vías metabólicas que conducen a estrés oxidativo a través de la vía de los polioles, la reducción de los niveles intracelulares del antioxidante endógeno glutatión con activación del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) y aumento de las citoquinas proinflamatorias, quimiocinas y factores de crecimiento, la activación de la PKC y un mayor flujo a través de AGE (27) y vías de la hexosamina, o la activación de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa. La hiperglucemia crónica reduce la señalización del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), con apoptosis de pericitos (células que rodean los capilares, encargadas de mantener la homeostasis del sistema vascular retiniano) desencadenando una señalización de VEGF-A y un aumento de la permeabilidad vascular (28).

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador retiniano y participa en la neurotransmisión desde los fotorreceptores a las células bipolares y de las células bipolares a las CG. Sin embargo, una estimulación excesiva por niveles elevados de glutamato implica una "excitotoxicidad" (con sobreactivación de los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA)) que conduce a la ND retiniana. La apoptosis se iniciaría mediante dos vías diferentes: la vía

dependiente de caspasa-3 y una vía independiente de caspasa que implica la calpaína y el factor inductor de apoptosis mitocondrial (29). Las células de Müller tienen un papel fundamental en el metabolismo del glutamato. El balance de glutamato a glutamina entre las células gliales y las neuronas de la retina está alterado en la DM y juega un papel importante en la ND. Se ha demostrado que se encuentra a concentraciones elevadas a nivel extracelular en pacientes con DM, lo cual supondría una agresión a nivel neuronal secundario a la entrada de calcio y sodio intracelular por la activación de los receptores NMDA inducida por glutamato, con un aumento del influjo de calcio en las neuronas postsinápticas que a su vez inicia cascadas de señalización proapoptóticas a través de mecanismos tanto dependientes como independientes de caspasa, generando radicales libres e induciendo apoptosis.

Todo ello desencadenaría una disfunción glial y alteraciones microvasculares, con un aumento del VEGF y citoquinas proinflamatorias asociado a daño de la BHR, amplificando el daño retiniano (30). La mayoría de las anomalías neuronales pueden ser independientes de las anomalías vasculares en las primeras etapas de la diabetes.

El estado antiinflamatorio de la microglía estaría inhibido en la diabetes, cambiando a estado proinflamatorio, lo cual desencadenaría la muerte de células neuronales retinianas. Además, se sabe que los astrocitos liberan específicamente proteína de señalización S100B, que es el receptor de los AGEs de la microglía, y disminuye la expresión de proteína glial fibrilar ácida (GFAP) de los filamentos intermedios de estas células, de forma que las células de Müller expresan más GFAP que los astrocitos, produciéndose una disminución de glutamina sintetasa, lo que se traduce en acumulación de glutamato (31,32).

Dentro de los factores inflamatorios, el VEGF altera la permeabilidad vascular a través de la activación de la PKC  $\beta$ . En pacientes con RD se detectan niveles elevados en humor vítreo y acuoso, y tendría gran implicación en el desarrollo de EMD siendo la principal diana terapéutica de los anti-VEGF, que disminuyen el edema al reducir la permeabilidad vascular, consiguiendo un menor el espesor de la retina central, y la neovascularización. También aumentan otras citocinas inflamatorias como IL-6, IL-8, proteína 10 inducida por interferón (IP-10), proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) y molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM1). Las inyecciones de acetónido de triamcinolona o dexametasona reducen las citoquinas IL-6, IP-10, MCP-1 y el VEGF, lo que explicaría la respuesta del EMD al tratamiento con corticoides en pacientes refractarios tratados con inyecciones de anti-VEGF (33,34).

Durante el proceso de deterioro de la UNV en la RD, se generan especies reactivas de oxígeno (ROS), incluyendo el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno, debido al desequilibrio en la

formación y eliminación de radicales libres mediante diferentes vías: la vía de los polioles, la vía de las hexosaminas, la vía de los AGE y la vía de la PKC. La acumulación excesiva de ROS provoca inflamación, deterioro de la UNV y muerte celular (mediante alteraciones de la señalización de varios factores de transcripción, como la proteína activadora 1 (AP-1), el p53 o el NF- $\kappa$ B) (35).

Los factores neurotróficos regulan la supervivencia, el crecimiento y el mantenimiento funcional de las células neuronales y vasculares y su desequilibrio causa ND y angiogénesis patológica en enfermedades como la RD. La retina produce una cantidad sustancial de factores neurotróficos, como el factor de crecimiento nervioso (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), la neurotrofina-3 (NT-3) y NT-4. La diabetes produciría cambios en dichos factores, que se traducen en alteraciones a nivel de la diferenciación celular, la conectividad sináptica, la plasticidad, el crecimiento y la supervivencia celular (30).

Numerosos estudios han informado de la reducción del nivel de BDNF en suero de pacientes y en animales diabéticos (36), mientras que, por el contrario, se ha descrito aumento en los niveles de NGF en suero de pacientes con DM insulino dependiente y en suero y lágrimas de pacientes con neuropatía y RD, que contribuirían a la inflamación neurogénica y favorecerían la hipoxia (37).

El GDNF está relacionado con el TGF- $\beta$ , y promueve la supervivencia de los fotorreceptores durante la degeneración de la retina. El factor neurotrófico ciliar (CNTF) está regulado positivamente en respuesta a una lesión retiniana y puede desempeñar un papel importante en la ND. Se ha demostrado que el tratamiento con CNTF en combinación con BDNF rescata los fotorreceptores con efectos neuroprotectores (38).

Otro factor neuroprotector es el PEDF, que protege a las neuronas de la excitotoxicidad mediada por glutamato, y que estaría disminuido en la RD. Inhibe la angiogénesis y la ND en la diabetes al reducir el estrés oxidativo en la retina y al aumentar la expresión de la glutamina sintasa, brindando así protección contra la excitotoxicidad del glutamato (39).

Por último, la insulina tiene un papel neuroprotector en la supervivencia retiniana. Barber y colaboradores identificaron un aumento de apoptosis neuronal en ojos diabéticos con deficiencia de insulina (24). Por otro lado, han demostrado que la insulina rescata a las neuronas de la retina de la muerte celular en la rata diabética y la inyección intraocular de insulina restaura la actividad del receptor de insulina en la retina de ratas diabéticas.

Otros factores que se cree desempeñan un papel en la protección de la retina de la ND inducida por la diabetes incluyen la somatostatina (40) y el CNTF (41), siendo necesario más trabajos para

comprender completamente el potencial terapéutico de dichos compuestos (63). Aunque, se está investigando el uso de agentes neuroprotectores así como el bloqueo de factores neurotóxicos en modelos experimentales y en ensayos clínicos pivotaes, todavía está por determinar si estas nuevas terapias cambiarán el actual paradigma en el tratamiento de los pacientes con RD (42) (Figura 4).

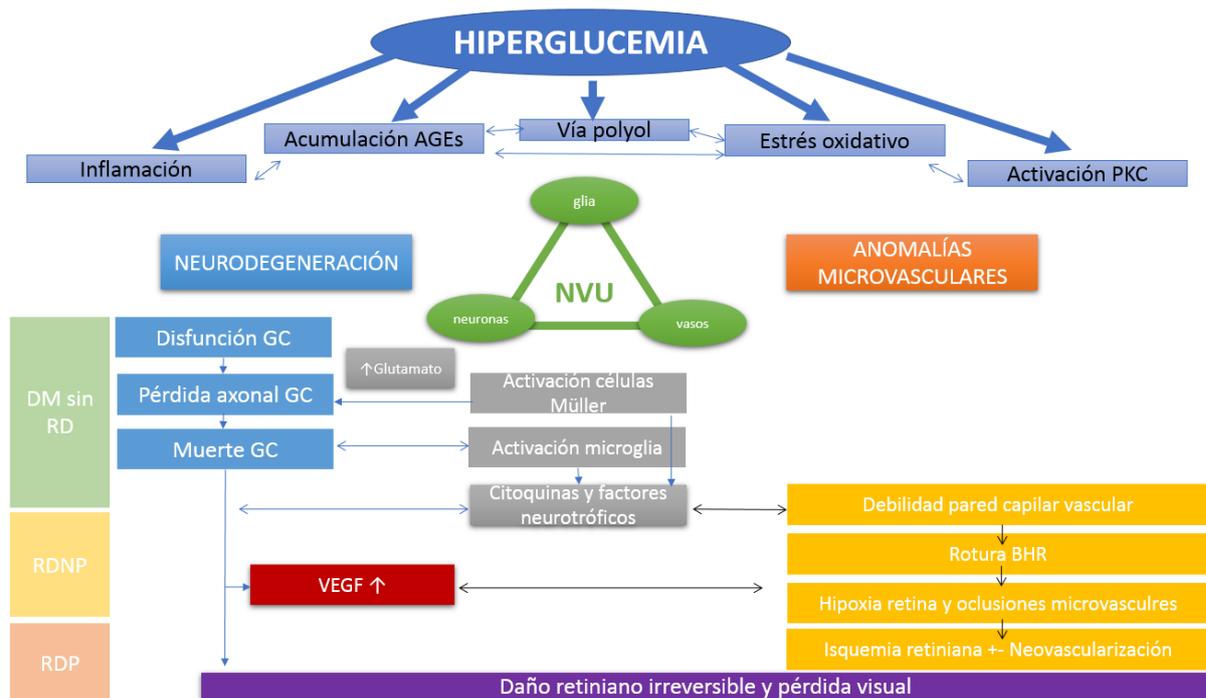


Figura 4. Diagrama esquemático de la fisiopatología de la retinopatía diabética. Abreviaturas: AGE: Productos Finales de Glicación Avanzada; PKC: Proteína Quinasa C; GC: Células Ganglionares; VEGF: Factor de Crecimiento Endotelial Vascular; BHR: Barrera hematorretiniana; DM: Diabetes Mellitus; RD: Retinopatía Diabética; RDNP: Retinopatía Diabética No Proliferativa; RDP: Retinopatía Diabética Proliferativa; NVU: Unidad Neurovascular.

A nivel retiniano, la falta de perfusión secundaria a la hiperglucemia mantenida afecta predominantemente a la retina interna, dado que su suministro sanguíneo es escaso en comparación con el de la retina externa, dependiente de coroides.

Aunque no se conoce la patogénesis exacta, se sabe que la apoptosis de las CG que ocurre en etapas precoces de la RD es inducida principalmente por el estrés oxidativo, acumulación

extracelular de glutamato y alteraciones de la expresión de citoquinas y factores neurotróficos. También se verían alteradas por el aumento de AGE inducido por lesión neuronal (25).

Esta afectación inicial de los cuerpos de las CG de la retina y sus dendritas se puede detectar como un adelgazamiento difuso de los espesores de la CCG y la CPI. Posteriormente, los axones pueden sufrir apoptosis, lo que desencadena un adelgazamiento de la CFNR (43). Así, el complejo de CG (GCC) formado por la CCG, la CPI y la CFNR también puede presentar una disminución de su espesor detectable mediante OCT, así como diversas pruebas funcionales que detectan las consecuencias derivadas de estas pérdidas (a nivel de ERGmf, sensibilidad al contraste, adaptación a la oscuridad y alteraciones de la microperimetría). Todos estos hallazgos se han descrito como cambios precoces en el grosor de las capas internas de la retina (IRL) en ausencia de cualquier signo fundoscópico de RD (22,44,45). La OCT es un método más objetivo y preciso que la evaluación oftalmoscópica para detectar los cambios estructurales retinianos más tempranos de la diabetes.

Aunque las células más afectadas por la apoptosis son las CG, también se ha demostrado afectación a nivel de la CNE y en el EPR (46).

Respecto a las células vasculares, estudios como el "*Penn State Retina Research Group*" han demostrado una disminución de los niveles de ocludina en las uniones de las células endoteliales retinianas en la diabetes (47). Las ocludinas, junto a las claudinas, regulan el flujo a través de las células endoteliales y constituyen las uniones estrechas del endotelio vascular que forman la barrera funcional de la BHR interna. Se produce por tanto un daño de la misma, que es la encargada de mantener la homeostasis, separando la retina de la circulación general para proteger sus componentes de las células inflamatorias y sus productos citotóxicos, regulando el espacio extracelular (48).

Por todo ello, la detección de estos efectos nocivos tempranos sobre la estructura y función neurovascular de la retina y la identificación de alteraciones subclínicas en la función de la UNV podría ayudar a identificar personas en riesgo de pérdida de visión en el futuro. Identificar los mecanismos que conducen a la ND será fundamental para identificar nuevas dianas terapéuticas en etapas precoces de la enfermedad.

### 1.2.4. Factores que influyen en el desarrollo de Retinopatía Diabética

Existen multitud de factores de riesgo en relación con el desarrollo de complicaciones por la DM.

Entre ellos destaca:

- *Tiempo de evolución de la enfermedad* y edad del paciente en el momento del diagnóstico: se trata de uno de los principales factores que influyen en la prevalencia de RD. Un mayor tiempo de evolución y una edad más temprana al diagnóstico se asocia a un incremento en la incidencia y prevalencia de RD, presentando los pacientes diagnosticados de la enfermedad antes de los 30 años una incidencia de RD al cabo de 10 años del 50%, que tras 30 años alcanza el 90% (9,49).
- *Control glucémico*: un mal control de la diabetes se relaciona con mayor número de complicaciones de la DM. Además, un valor elevado de HbA1c, indicador indirecto de la eficacia del tratamiento y el estado glucémico del paciente durante los últimos 2 o 3 meses, se asocia a mayor riesgo de RDP. La ausencia de clínica y factores bioquímicos han demostrado su papel protector contra las complicaciones a largo plazo, pudiendo prevenir o retrasar la aparición o progresión de la retinopatía a corto plazo (50–52).
- *Hipertensión arterial (HTA)*: el control efectivo de la presión arterial reduce el riesgo de una progresión de la RD, recomendándose valores inferiores a 140/80 mm Hg, especialmente en DM2 con maculopatía diabética (12,52,53).
- *Nefropatía*: la microalbuminuria (marcadora de una disfunción renal incipiente) se relaciona con la presencia de RD (12,54).
- *Dislipemia e hipercolesterolemia*: niveles elevados de lípidos en sangre pueden llevar a una mayor acumulación de exudados duros (12,55).
- *Embarazo*: las mujeres que inician el embarazo con retinopatía pueden mostrar progresión, debido a alteraciones hormonales y funcionales de la retina durante la gestación (12,56).

Aunque diversos estudios han tratado de discernir el papel de otros factores en el desarrollo de RD (tabaquismo (57), sexo, etc.), los resultados son inconclusos (58).

### 1.2.5. Tipos de lesiones en la Retinopatía Diabética

El examen fundoscópico de la retina de los pacientes con RD revela diferentes cambios diagnósticos característicos, que pueden clasificarse en función de su etiología en (Figura 5):

- Lesiones consecuencia del daño estructural de las paredes vasculares:
  - *Microaneurismas (MA)*: dilataciones saculares de los capilares, formados en áreas desprovistas de pericitos. Se localizan a nivel de la CFNR o en capas más profundas. Se presentan cercanos a áreas de hipoperfusión o isquemia, causando fuga de fluido desde el lumen vascular al tejido retiniano, desarrollando edema. Su rotura puede desencadenar hemorragias. En el fondo de ojo se visualizan como pequeños puntos rojos, redondeados y bien definidos que se reconocerán en la angiografía fluoresceínica (AGF)(59).
  - *Neovasos (NV)*: la isquemia retiniana lleva a la formación de nuevos vasos anómalos, delgados canales con endotelio pero carentes de contractilidad, muy frágiles, por lo que se suelen romper y sangran al espacio intersticial de la retina o a cámara vítrea. Se presentan inicialmente en retina (NV periféricos) o a nivel de la papila (NV papilares) y posteriormente pueden desarrollarse también nivel iridiano o en el ángulo de cámara anterior (en estadios avanzados), con riesgo de glaucoma neovascular. También como consecuencia de la isquemia crónica y relacionado con las anomalías del vítreo, pueden aparecer también *tejidos fibrosos*, que traccionan de los NV, produciendo *hemorragias prerretinianas o vítreas*, o que pueden desencadenar también un *desprendimiento de retina traccional*.
  - Anormalidades vasculares venosas y arteriales: incluyendo arrosariamiento y dilatación venosa o esclerosis arteriolar.
  
- Lesiones secundarias a fuga microvascular:
  - *Hemorragias intrarretinianas*: consecuencia de la rotura de MA. Puede presentarse de formas distintas, encontrándose así hemorragias profundas (redondeadas u ovaladas, de distintos tamaños y de bordes nítidos) o superficiales (siguiendo el curso de las CFNR, denominadas hemorragias en llama).
  - *Exudados duros*: extravasación de lípidos y proteínas al espacio intersticial, secundarios a un edema retiniano crónico. En el fondo de ojo se observan como

depósitos amarillentos de bordes nítidos, que con el tiempo aumentan su número, se reúnen en grupos formando formas circinadas, y pueden lesionar gravemente la fovea. Su absorción puede llevar meses o incluso años.

- *Edema retiniano*: engrosamiento de la retina debido a extravasación capilar.
- Aquellos derivados de la hipoxia:
  - *Arrosamiento venoso*: venas irregulares, con zonas de estrechamientos y dilataciones focales (59).
  - *Exudados algodonosos*: áreas con hipoperfusión capilar; se trata de infartos a nivel de la CFNR con alteración del flujo axoplásmico de la CG, debido a la obstrucción de arteriolas terminales retinianas y, por tanto, son un signo de isquemia retiniana, aunque su presencia no está relacionada con la aparición de RDP.
  - *Anomalías Microvasculares Intrarretinianas (AMIRes)*: alteraciones que presentan las arteriolas y vénulas en forma de shunts como consecuencia de la isquemia. Su número y gravedad determinan el nivel de la retinopatía, igual que ocurre con el arrosamiento venoso (59).
  - Proliferaciones fibrovasculares y las hemorragias prerretinianas e intravítreas.

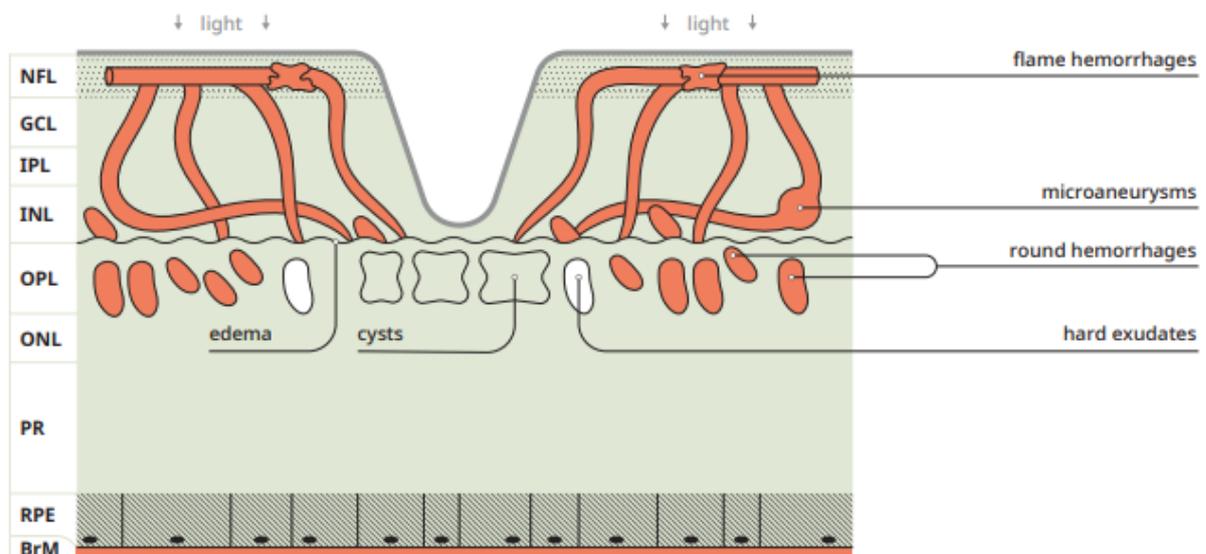


Figura 5. Localización de las lesiones típicas de Retinopatía Diabética No Proliferativa (RDNP) en las capas retinianas. Abreviaturas: NFL: capas de fibras nerviosas; GCL: capa de células ganglionares; IPL: capa plexiforme interna; INL: capa nuclear interna; OPL: capa plexiforme externa; ONL: capa nuclear

externa; PR: capa de fotorreceptores; RPE: epitelio pigmentario de la retina; BrM: membrana de Bruch. Tomado de: Maciej Gawęcki. *Types of lesions in diabetic retinopathy*. En: Maciej Gawęcki. *Diabetic Retinopathy 1ª edición*. France: KMG Dragon's House; 2021. p. 83-93 (60).

### 1.2.6. Clasificación de la Retinopatía Diabética

El Estudio de Tratamiento Temprano de la RD (*Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*, ETDRS) clasificó la RD basándose en hallazgos fundoscópicos relacionados con un aumento de la permeabilidad de los vasos o una disminución del suministro vascular, que incluyen MA, exudación o edema, hemorragias, AMIRes, cambios vasculares y NV (61). El uso de esta clasificación, dada su complejidad, que existen demasiados niveles o estadios (13 en total), y a que tienen que guardar una correlación con las fotografías estereoscópicas de los 7 campos estandarizados, se limita a ensayos clínicos. En su lugar, ha sido sustituida en la práctica clínica por su versión abreviada propuesta por un grupo de expertos (*Global Diabetic Retinopathy Project Group -GDRPG-*) en el año 2003, la Escala Internacional de severidad de la retinopatía (*la International Clinical Diabetic Retinopathy Disease Severity Scale*), que clasifica la RD en dos grupos: por un lado la RDNP, que a su vez se subdivide en RD leve, moderada y grave; y por otro lado la RDP (Tabla 2) (62).

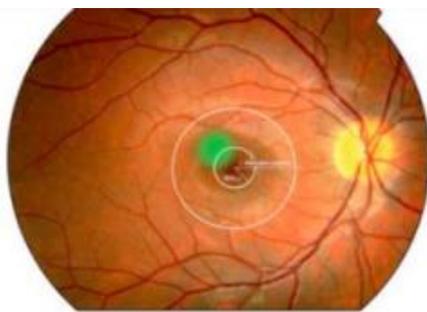
Tabla 13.1 Clasificación abreviada de la retinopatía diabética del Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS)

Categoría/descripción	Tratamiento
<b>Retinopatía diabética no proliferativa (RDNP)</b>	
Ausencia de RD	Revisión a los 12 meses
RDNP muy leve	Revisión de la mayoría de los pacientes a los 12 meses
Solo microaneurismas	
RDNP leve	Revisión a los 6-12 meses, según la gravedad de los signos, la estabilidad, los factores sistémicos y las circunstancias personales del paciente
Alguno o todos los siguientes: microaneurismas, hemorragias retinianas, exudados, focos blancos algodinosos, hasta el grado de RDNP moderada. Ausencia de anomalías microvasculares intrarretinianas (AMIR) o arrosamiento venoso significativo	
RDNP moderada	Revisión aproximadamente a los 6 meses Retinopatía diabética proliferativa (RDP) hasta en el 26%; RDP de alto riesgo hasta en el 8% antes de 1 año
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hemorragias retinianas graves (más que en la fotografía estándar 2A del ETDRS: alrededor de 20 hemorragias medianas-grandes por cuadrante) en 1-3 cuadrantes o AMIR leves</li> <li>Puede haber arrosamiento venoso significativo en solo un cuadrante</li> <li>A menudo hay focos blancos algodinosos</li> </ul>	
RDNP grave	Revisión a los 4 meses RDP hasta en el 50%; RDP de alto riesgo hasta en el 15% en menos de 1 año
Regla 4-2-1, con alguno de los siguientes criterios: <ul style="list-style-type: none"> <li>Hemorragias graves en los cuatro cuadrantes</li> <li>Arrosamiento venoso significativo en dos o más cuadrantes</li> <li>AMIR moderadas en uno o más cuadrantes</li> </ul>	
RDNP muy grave	Revisión a los 2-3 meses RDP de alto riesgo hasta en el 45% en menos de 1 año
Dos o más criterios de RDNP grave	
<b>Retinopatía diabética proliferativa (RDP)</b>	
RDP leve-moderada	Tratamiento en función de la gravedad de los signos, la estabilidad, los factores sistémicos y las circunstancias personales del paciente, como fiabilidad para acudir a las revisiones. Si no se trata, revisión antes de 2 meses
Neovasos en la papila (NVP) o neovasos extrapapilares (NVE), pero sin alcanzar los criterios de alto riesgo	
RDP de alto riesgo	Se recomienda el tratamiento; véase el texto Debe realizarse inmediatamente cuando sea posible, incluso el mismo día si el paciente acude con síntomas y se visualiza bien la retina
<ul style="list-style-type: none"> <li>NVP mayores que los de la fotografía estándar 10A del ETDRS (aproximadamente <math>\frac{1}{2}</math> del área papilar)</li> <li>Cualquier NVP con hemorragia vítrea</li> <li>NVE mayor de <math>\frac{1}{2}</math> área papilar con hemorragia vítrea</li> </ul>	
Oftalmopatía diabética avanzada	Véase el texto
Véase la descripción en el texto	

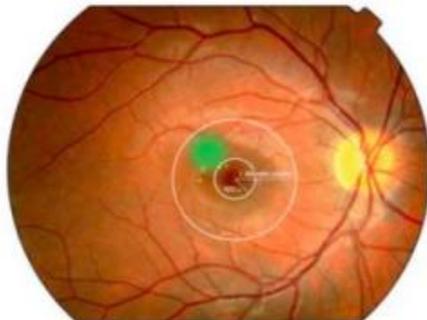
Tabla 2: Clasificación abreviada de la retinopatía diabética según el ETDRS. Tomado de: Kanski J, Bowling B. *Oftalmología Clínica: Un Enfoque Sistemático*. 8ª ed. España: Elsevier; 2016. p. 522 (59).

Respecto al EMD, puede encontrarse en cualquier tipo de RD, aunque es más frecuente su aparición en pacientes con RDP. Se genera por acúmulo de fluido a nivel macular, secundario a fugas de capilares retinianos, MA o defectos de la BHR. Hay otras clasificaciones del EMD relacionadas con los hallazgos a nivel de la OCT. Una de ellas es la Panozzo, que clasifica el EMD teniendo en cuenta 5 parámetros, el espesor retiniano, la difusión, el volumen la morfología y la presencia de tracción vítrea (63). En dependencia de la presencia o no de EMD y de su proximidad a la fóvea, el ETDRS divide el EMD en tres tipos (Tabla 3 y Figura 6) (63).

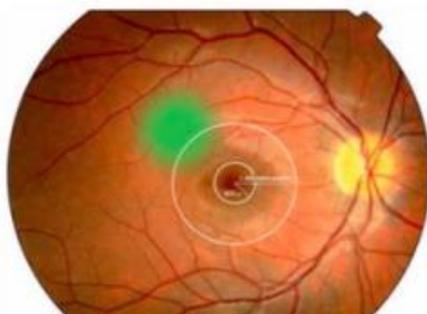
EMD	Características Oftalmoscópicas
Sin EM	Sin engrosamiento de retina o exudados duros en la mácula.
Con EM	Engrosamiento retiniano dentro de 1 diámetro de disco (DD) del centro de la mácula.
Con EM clínicamente significativo	Engrosamiento retiniano dentro de 500µm del centro
	Exudados duros dentro de 500µm del centro, si están asociados a engrosamiento de retina adyacente.
	Engrosamiento retiniano de al menos 1 área de disco de tamaño, y una parte a menos de 1DD



Engrosamiento retiniano dentro de 500 µm del centro.



Exudados duros dentro de 500 µm del centro si se asocian a un engrosamiento de retina adyacente.



Un área de engrosamiento retiniano del tamaño de al menos 1 área del disco, parte de la cual está a menos de 1 DD del centro.

Tabla 3 y Figura 6. Clasificación del Edema Macular Diabético. Tomado de: Manejo de las complicaciones oculares de la diabetes. Retinopatía Diabética y Edema Macular. En: "Guías de Práctica Clínica de la SERV". 3ª edición. Madrid: Sociedad Española de Retina y Vítreo; 2019. p. 9-16 (64).

## 1.2.7. Técnicas diagnósticas en la Retinopatía Diabética

### 1.2.7.1. Pruebas estructurales

El diagnóstico y seguimiento de la RD se basa en los hallazgos obtenidos mediante diversas exploraciones, que deben incluir evaluaciones periódicas de la AV, examen con lámpara de hendidura, tonometría y valoración del fondo de ojo. Respecto a las pruebas de imagen que nos permiten la observación de la vascularización retiniana in vivo destacaríamos:

#### A. Angiografía Fluoresceínica (AGF)

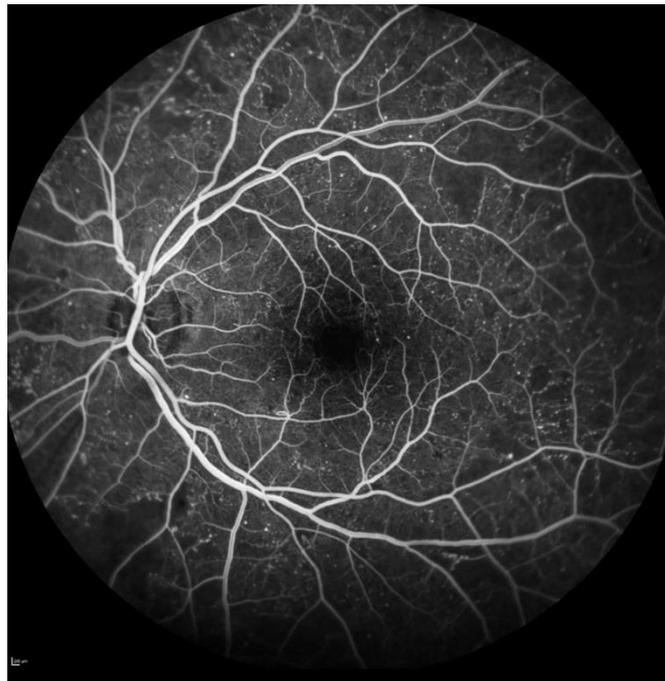
La AGF es una de las herramientas básicas para el examen de la vascularización retiniana y coroidea. Utiliza como contraste la fluoresceína sódica, con un peso molecular de 376,6 Da, que tiene propiedad de fluorescencia (con un pico de absorción de 465-490 nm, correspondientes a la luz azul, y un pico de emisión de 520-530 nm (luz verde). Se suele inyectar 2,5-5 ml al 10% en la vena cubital, uniéndose en torno al 60-80% a proteínas del plasma, principalmente la albúmina. El resto, la "fluoresceína libre" atraviesa algunas barreras anatómicas. Su eliminación es renal en torno a las 24-36 horas (61,67)

Una cámara especializada analiza el paso del contraste a través de la circulación retiniana, lo que permite analizar el tipo de patrón vascular en las diferentes fases según el nivel de fluorescencia (normal/hipofluorescente/hiperfluorescente) y visualizar anomalías vasculares como los MAs, áreas de isquemia, isquemia macular y alteraciones de la zona avascular foveal (ZAF), presencia de NV y la extensión de la zona con edema macular.

## *a) Aplicaciones*

El uso diagnóstico de la AGF en la RD nos permite (65):

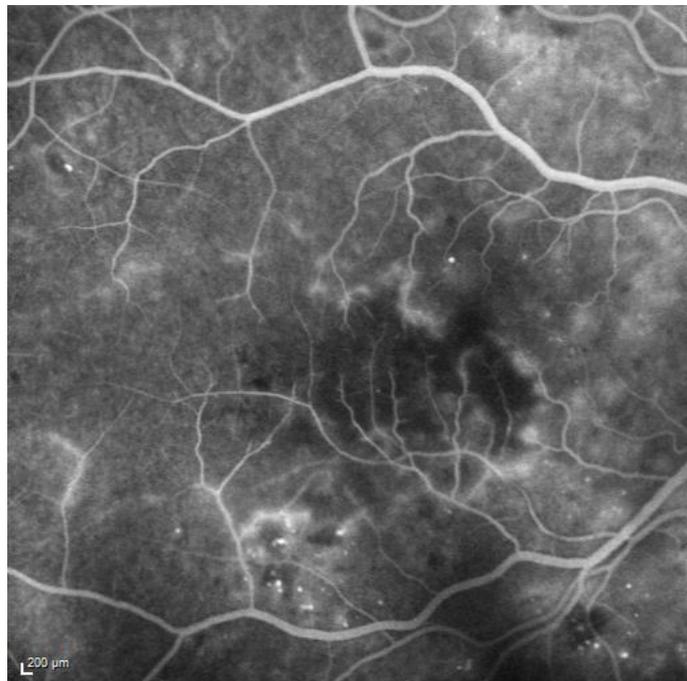
- ✓ Clasificar distintos tipos de RD.
- ✓ Localizar MA, que suelen relevarse en mayor número que con la fundoscopia u otras técnicas de imagen (Figura 7).
- ✓ Localizar áreas de hipoperfusión.
- ✓ Clasificar el tipo de edema macular, así como su severidad (Figura 8).
- ✓ Identificar áreas de isquemia macular mediante el estudio de la ZAF (Figura 9).
- ✓ Identificar pacientes en riesgo de desarrollar RDP y valorar el tratamiento con láser.
- ✓ Localizar NV y posibles áreas susceptibles de tratamiento con panfotocoagulación retiniana (Figura 10).
- ✓ Identificar NV en el iris en los casos de RDP.



*Figura 7. Imagen de angiografía fluoresceínica del polo posterior de un ojo izquierdo en paciente diabético. Se puede apreciar la presencia de múltiples MA dispersos en polo posterior, así como zonas de isquemia periférica y aumento de la ZAF.*



*Figura 8. Alteraciones en un ojo izquierdo de un paciente diabético mediante imagen de angiografía fluoresceínica. Se puede apreciar un edema macular difuso en polo posterior, asociado a MA y exudados*



*Figura 9. Imagen de angiografía fluoresceínica de un ojo derecho en paciente diabético en la que se ve hipoperfusión a nivel foveal relacionado con isquemia macular, así como diversos MA con difusión de colorante.*



*Figura 10. Cambios detectados mediante imagen de angiografía fluoresceínica de un ojo derecho en paciente diabético. Se observa la presencia de MA, así como zonas de isquemia periférica y NV.*

Actualmente, gracias a los angiógrafos de campo amplio, podemos explorar con mayor facilidad la periferia retiniana, capturando imágenes de hasta 200 grados en comparación con los angiógrafos clásicos que suelen abarcar áreas retinianas de aproximadamente 45 grados, requiriendo realizar montajes de varias imágenes para explorar la periferia retiniana. Estos avances facilitan determinar el estadio de RD con mayor precisión y generalmente revelan cambios más avanzados de RD (59).

## B. Tomografía de Coherencia Óptica (OCT)

La OCT permite obtener imágenes de la retina, el nervio óptico y polo anterior de alta resolución y en tiempo real, recreando un corte histológico de forma no invasiva (66).

Se basa en el principio óptico del reflectometría e interferometría de baja coherencia, concretamente en el interferómetro de Michelson, que se compone de una fuente de luz, un divisor, un espejo patrón (localizado a una distancia conocida) y un detector. Mediante el divisor, la luz se divide en dos haces, dirigiéndose uno de ellos al espejo patrón, y el otro al ojo. Ambos haces son reflejados y captados por el detector, produciéndose el fenómeno de interferencia. Se puede calcular la distancia de la estructura que genera un reflejo coincidente con el reflejo del espejo. Cuanta mayor luz se refleje mayor será la interferencia, creando imágenes en función del retardo y la amplitud de dichas ondas. La luz emitida por la fuente de luz de láser diodo superluminiscente (DLS) tiene una longitud de onda de 820-860 nm, cerca del infrarrojo, dependiendo del tipo de OCT. Así, se analiza la fracción reflejada por los tejidos en diferentes profundidades en relación con el haz de referencia. Esto se conoce como exploración axial o escáner-A. Mediante un conjunto de escáner-A, a la vez que el haz de luz se escanea en dirección transversal, se obtiene el escáner-B. La información volumétrica se genera a través de la adquisición secuencial de múltiples escáner-B, que se desplazan perpendicularmente a estas (67).

### a) Tipos de OCTs

- OCT de dominio tiempo o *Time Domain (TD-OCT)*: los primeros OCT se basaban en el dominio tiempo y utilizaban un láser de longitud de onda de 800 nm con una resolución transversal de hasta 10-18  $\mu\text{m}$ , con una velocidad de adquisición lenta (1,28 segundos promedio para una imagen bidimensional compuesta de 512 escáneres A). La fuente de luz llega a un divisor que la divide en dos haces: un haz de referencia que rebota en un espejo móvil y un haz objeto que a través de la muestra o tejido a estudio y se refleja desde diferentes profundidades, volviendo finalmente al detector.

- OCT de dominio espectral o Fourier o *Spectral Domain (SD-OCT)*: los TD-OCT fueron sustituidas por los SD-OCT caracterizados porque en vez de mover el espejo a diferentes posiciones para obtener información de profundidad, el espejo se mantiene fijo y la luz se analiza con un espectrómetro. Esto permite la adquisición de datos a una velocidad mucho mayor incluso de señales más débiles, alcanzado velocidades de 29.000 escáneres A por segundo y representar imágenes tridimensionales con resoluciones de un rango entre 2 y 6  $\mu\text{m}$  (68).
- OCT de barrido o *Swept Source OCT (SS-OCT)*: los más extendidos actualmente son los nuevos sistemas SS-OCT o de barrido, con una gran penetración tisular, velocidad de exploración y mayor resolución, cercana a las 2,6 micras. Estos sistemas se basan en la utilización de fuentes de luz de mayor longitud de onda (1.050 nm) que supera la gran reflectividad del EPR y la vascularización coroidea, y es detectada por un fotómetro (68), generando una imagen de gran resolución que abarca desde la superficie vítrea (eliminando el problema de las interferencias generadas en otros sistemas de OCT) hasta las capas más profundas de la retina, la coroides e incluso la esclerótica (69) (Figura 11).



Figura 11: Dispositivo Deep Range Image (DRI) Triton Swept Source OCT (SS-OCT) (Eye Care, Topcon, Tokio, Japón). Posee una velocidad de 100.000 cortes por segundo, aproximadamente el doble que los sistemas SD-OCT, con una resolución axial y transversal de 8 y 20  $\mu\text{m}$  respectivamente, y utiliza un láser con una longitud de onda de 1.050 nm. Tomado de: DRI OCT Triton Handbook - Second Edition.

El sistema Deep Range Imaging (DRI) Triton SS-OCT obtiene mapas de espesor retiniano y coroideo, basados en las medidas tomadas de forma automática y representados con un código cromático, escala de colores o de tonos grises, comparado con los datos de la base de datos normalizada (70) (Figura 12).

La dificultad del paso de la luz (como puede darse en caso de presencia sangre, lípidos, fibrosis, infiltrados o pigmento) se traduce en una alta reflectividad y se representa en colores rojo o blanco; mientras que la baja resistencia al paso de la luz se refleja en una baja reflectividad, azul o negro, (edema, acúmulo de fluidos, quistes).

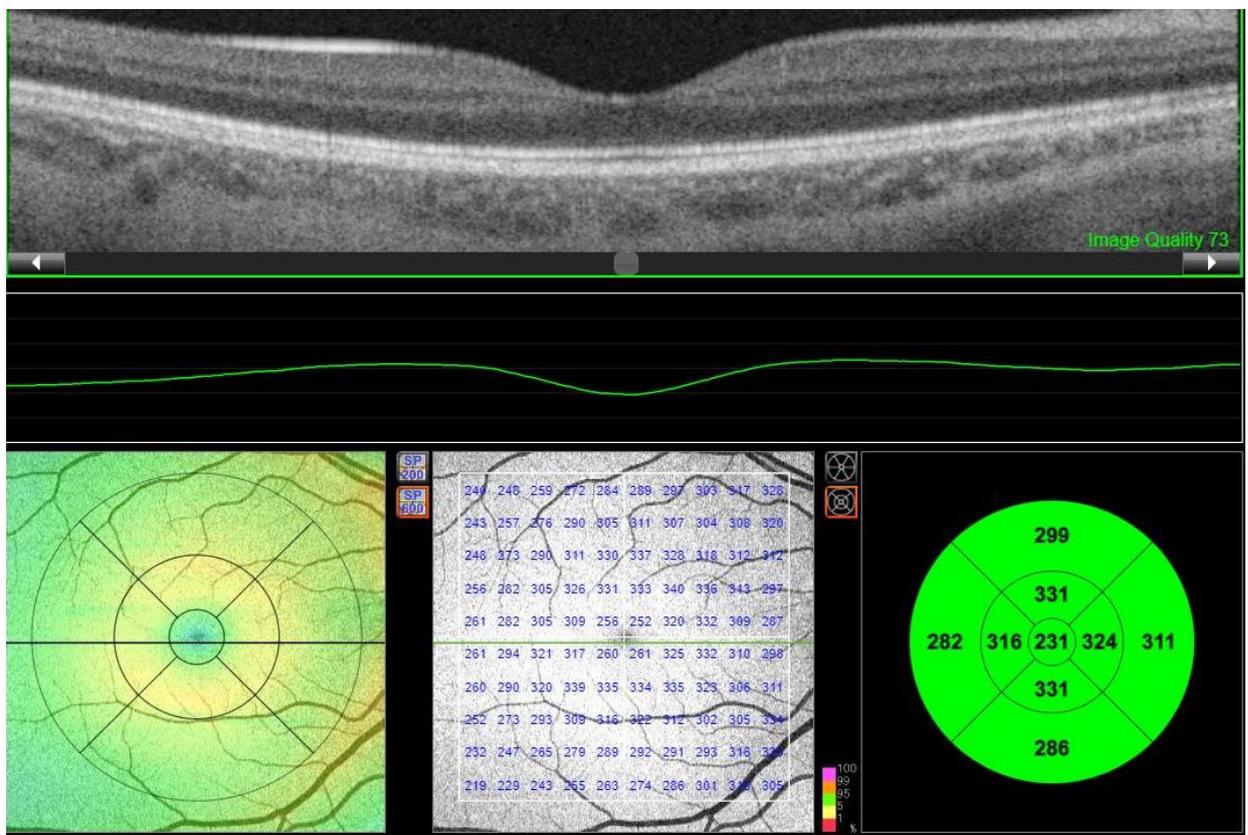


Figura 12. Imagen adquirida con DRI-Triton SS-OCT de un ojo izquierdo sin hallazgos patológicos. Protocolo macula 3D evaluando las 9 áreas ETDRS dividido en 3 círculos concéntricos con diámetros de 1 mm (central), 3 mm (interno) y 6 mm (externo). En la parte superior se aprecia el corte tomográfico, en la hilera inferior la representación en código de color de los espesores en relación a la rejilla del ETDRS, el espesor en las 100 celdillas que valora el protocolo macular, y los espesores en cada una de las áreas de la rejilla del ETDRS.

### C. Angiografía por Tomografía de Coherencia Óptica (OCTA)

La alta actividad metabólica de la retina requiere un gran suministro de sangre logrado a través de dos sistemas vasculares diferentes. Los dos tercios internos de la retina hasta la CNI reciben el suministro de sangre a partir de la arteria central de la retina. Por su parte, el flujo sanguíneo de la retina externa depende de la vascularización coroidea (71).

La arteria central de la retina, rama terminal de la arteria oftálmica, forma diferentes plexos que cubren toda la retina, entre 1 a 4, excluyendo la ZAF y la retina más periférica (1-1,5 mm) (5). Se diferencian el plexo capilar radial peripapilar (PCRP), el plexo vascular o capilar superficial (PCS), el plexo capilar intermedio (PCI) y el plexo capilar profundo (PCP) (72) (Figura 13).

El desarrollo de la OCTA ha sido fundamental en el control de pacientes con DM con y sin lesiones microvasculares. Permite analizar la vascularización retiniana y coroidea de forma rápida sin necesidad de contraste, mediante el análisis de las variaciones dinámicas en las imágenes de escáner B obtenidas secuencialmente en un área de la retina. Se basa por tanto en el flujo de las células sanguíneas, en especial de los hematíes, dentro de los vasos y dichas variaciones se suponen secundarias a cambios en el flujo vascular.

Aunque la AGF se ha considerado el *gold standard* para evaluar la vascularización de la retina, se trata de una prueba invasiva con posibles efectos adversos severos en un pequeño porcentaje de pacientes, que puede llegar a la muerte en 1:100.000 enfermos (73,74). Debido a sus posibles efectos secundarios, no se suele realizar como método de cribado (65).

Además, la OCTA también facilita el estudio de los vasos coroideos responsables de la nutrición de la retina externa. La coroides es una estructura compleja formada principalmente por vasos y tejido conectivo que se extiende desde los límites del nervio óptico, compuesta por la MB, la coriocapilar (CC), las capas de medianos y grandes vasos (capas de Haller y Sattler) y la capa supracoroidea o lámina fusca (75).

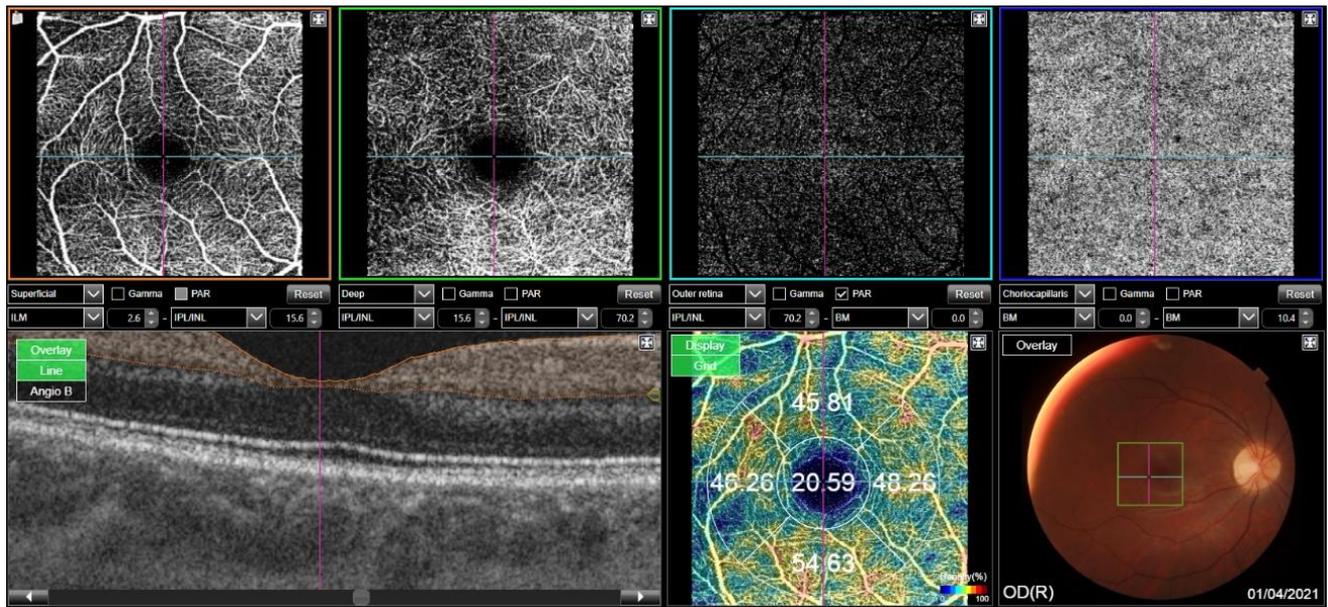


Figura 13. Imagen de OCTA de campo de 3x3 mm obtenida con el DRI-Triton SS-OCT. En la hilera superior se muestra el plexo capilar superficial, plexo capilar profundo, corte a nivel del EPR y la coriocalipar. En la hilera inferior observamos el escáner B de la OCT mostrando en naranja la localización del plexo capilar superficial, el mapa de densidad vascular a nivel del plexo capilar superficial en cada una de las áreas de la rejilla de 3x3 y la retinografía del fondo de ojo con el área evaluada dentro de un recuadro azul.

La principal ventaja de la OCTA es que no requiere la inyección de un colorante, evitando las posibles complicaciones asociadas a la misma sin los efectos secundarios de la AGF. Además, es capaz de analizar capas de mayor profundidad como la coroides y delimitar de forma independiente los plexos capilares retinianos y la CC (Figura 14).

Sin embargo, la OCTA no sustituye por completo a la AGF dado que esta permite analizar de forma más precisa la retina periférica, la extensión de la hipoperfusión periférica, así como de la neovascularización periférica. La incorporación de OCTA de campo amplio permite una valoración precisa de la isquemia periférica.

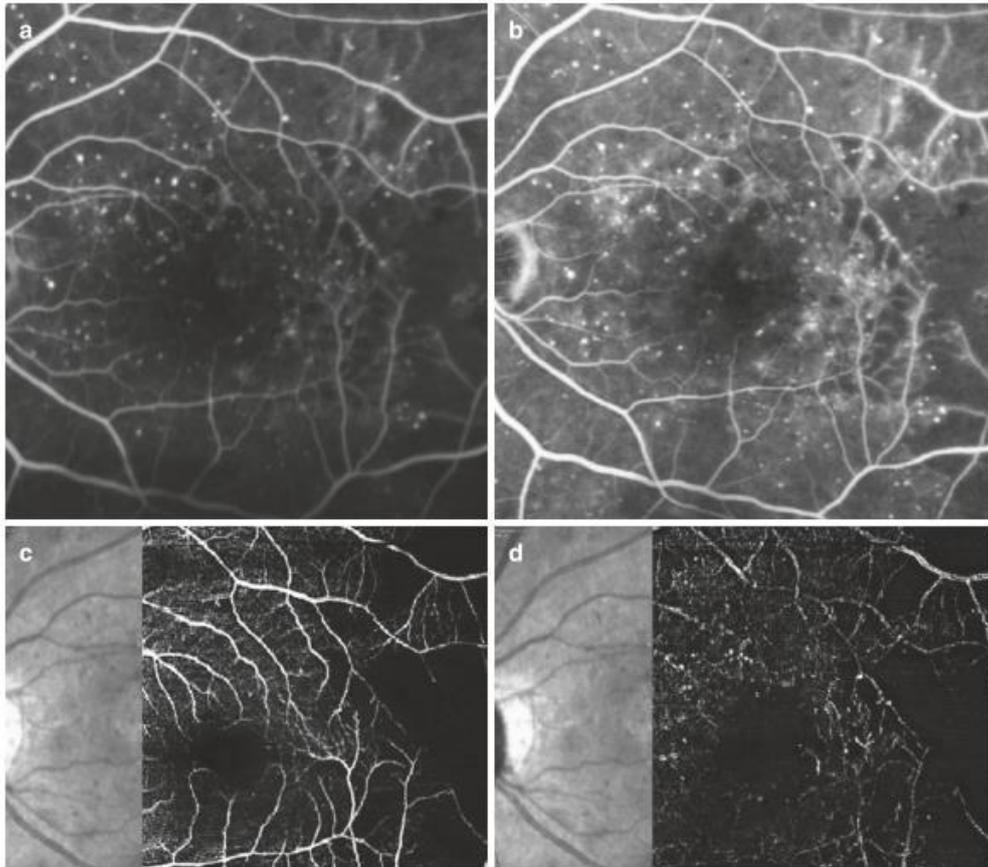


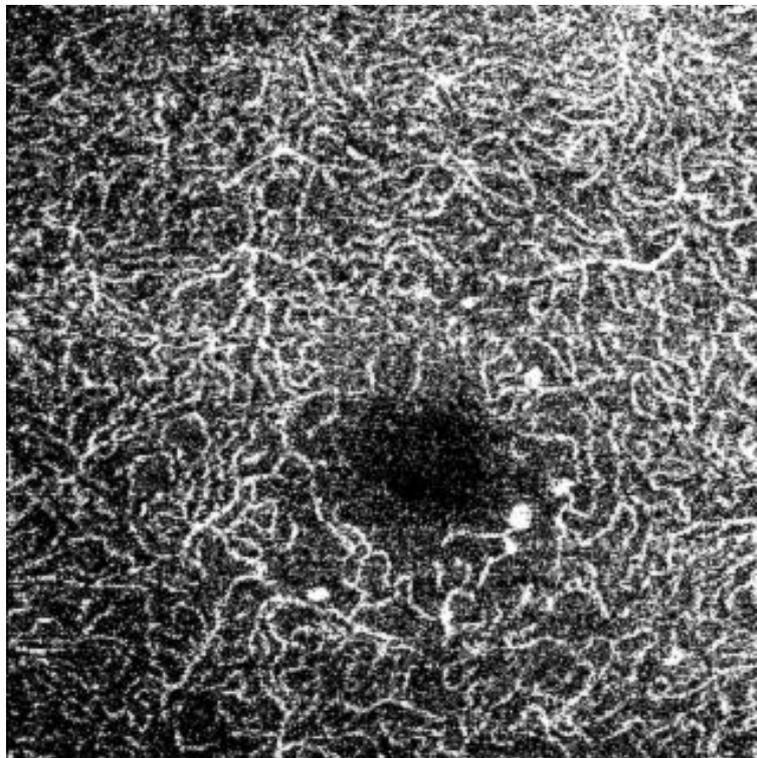
Figura 14. Comparación de imágenes obtenidas en un paciente con retinopatía diabética mediante angiografía fluoresceínica (AGF) (a, b) y correspondientes imágenes de angiografía por tomografía de coherencia óptica (OCTA) segmentadas en capilar superficial (PCS) (c) y capilar profundo (PCP) (d).

Además, las imágenes obtenidas solo detectan el flujo por encima de un umbral mínimo, y las lesiones que presenten un flujo menor del umbral no se visualizarían (76). No pueden por tanto visualizarse las zonas con difusión desde los capilares ni los MA de bajo flujo. Son frecuentes los artefactos, que pueden deberse a múltiples causas desde propiedades intrínsecas del ojo y la patología que se está estudiando, los movimientos oculares, cómo se adquieren y se generan los datos de la OCT y cómo se procesan los datos de la OCT y se muestran como imágenes angiográficas (67), siendo especialmente sensible a los movimientos oculares o el parpadeo.

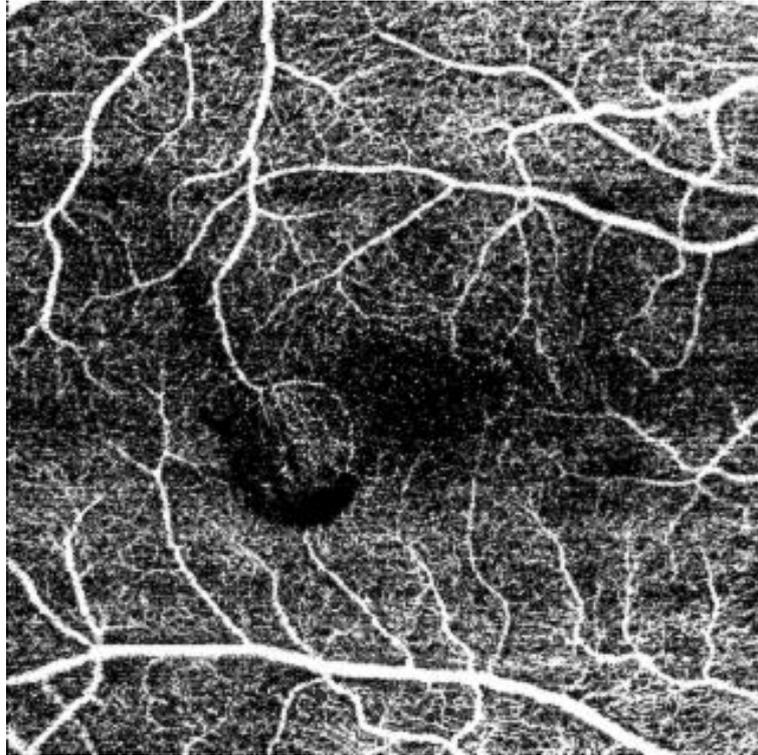
### *a) Aplicaciones*

La OCTA permite:

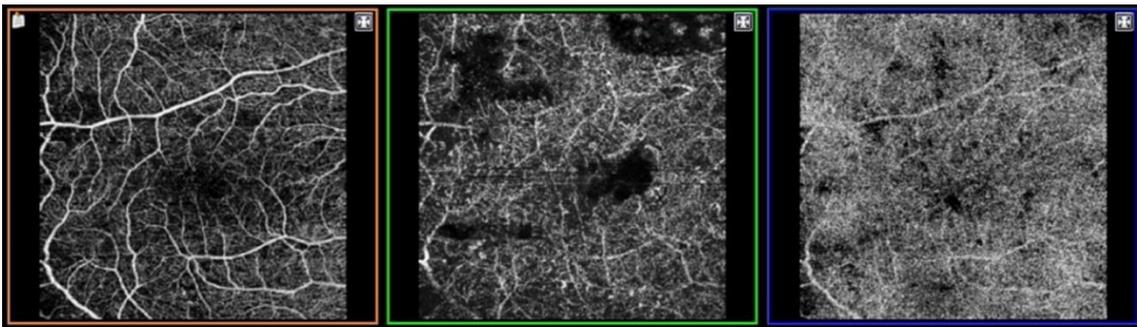
- ✓ Detectar cambios vasculares en pacientes con diabetes previos al inicio de la RD.
- ✓ Detectar MA, edema, AMIRes o NV (Figura 15 y Figura 16).
- ✓ Monitorizar la ZAF, incluyendo las medidas, su circularidad o anomalías en su forma, así como los cambios en su área o diámetros.
- ✓ Visualización precisa de áreas de isquemia o zonas con pérdida de capilares (Figura 17).



*Figura 15. Angiografía por tomografía de coherencia óptica de fuente de barrido 3x3 (SS-OCTA) DRI-Triton SS-OCT (Topcon, Tokio, Japón) que muestra hallazgos de OCTA a nivel del plexo capilar profundo, en un paciente diabético donde se aprecian múltiples MA a nivel perifoveal.*



*Figura 16. Angiografía por tomografía de coherencia óptica de fuente de barrido 6x6 (SS-OCTA) DRI-Triton SS-OCT (Topcon, Tokio, Japón) que muestra hallazgos de OCTA en un paciente diabético en los diferentes plexos vasculares, destacando la presencia de neovasos con sangrado a nivel parafoveal.*



*Figura 17. Angiografía por tomografía de coherencia óptica de fuente de barrido 9x9 (SS-OCTA) DRI-Triton SS-OCT (Topcon, Tokio, Japón) que muestra hallazgos de OCTA en un paciente diabético en los diferentes plexos vasculares, destacando la presencia de múltiples áreas de no perfusión.*

## 1.2.7.2. Pruebas funcionales

### A. Sensibilidad retiniana

Los cambios secundarios a la RD tienen lugar tanto a nivel funcional como estructural. La microperimetría evalúa la sensibilidad retiniana y representa un método selectivo para evaluar el daño neurorretiniano temprano en esta patología que puede aparecer incluso sin signos de RD y con una buena AV.

La microperimetría o perimetría de fondo correlaciona la morfología retiniana con su función, combinando la imagen fundoscópica, un mapa de la sensibilidad retiniana y un análisis de la fijación en una sola prueba. Permite analizar de forma precisa patologías del área macular, utilizándose en pacientes con baja visión, enfermedades de la retina y también en glaucoma (66,77).

Gracias a la localización y estabilidad de la fijación retiniana en paciente con fijación excéntrica o extrafoveal en enfermos con compromiso macular, elimina errores causados por pérdidas de fijación (35) y los ocasionados por los movimientos oculares (23,31,38). Del mismo modo, permite la localización y cuantificación del umbral retiniano en lesiones retinianas pequeñas y discretas (como en la neovascularización coroidea, drusas, exudados, áreas de edema retiniano) (25). También supera la limitación de la perimetría convencional en pacientes con baja AV, en los que es insensible a los escotomas muy pequeños ( $<5^\circ$ ), no permitiendo una identificación precisa del tamaño, forma y profundidad de los mismos (36,37).

## a) Aplicaciones

- ✓ En la *degeneración macular asociada a la edad (DMAE) avanzada*, tanto en sus formas exudativas como no exudativas, para la detección de la localización y estabilidad de la fijación (foveal y extrafoveal); cuantificación de las características del escotoma o cuantificación del impacto funcional de cualquier tratamiento en localizaciones retinianas específicas.
- ✓ En el *EMD* para comparación de los valores funcionales con los datos del OCT; evaluar el impacto funcional de los diferentes grados de edema macular; así como evaluar el efecto de las diferentes modalidades del tratamiento láser en la función macular.
- ✓ En *trastornos de la interfase vítreo-retiniana* compara la función macular con los datos del OCT y correlaciona con los resultados de la cirugía vítreo-retiniana.
- ✓ En *maculopatías* que precisen una evaluación funcional detallada, como la maculopatía miópica, distrofias hereditarias de la retina, retinopatías tóxicas destacando la toxicidad por antipalúdicos de síntesis, coriorretinopatías inflamatorias, etc.
- ✓ Especial mención en *pacientes con baja visión o glaucoma*, en los que permite cuantificar la localización y estabilidad de la fijación y planificación del programa de rehabilitación visual así como evaluar los resultados (83,84). Mediante el sistema de Entrenamiento de la Fijación podemos seleccionar la nueva localización de la fijación retiniana mediante la utilización de señales visuales y sonoras, pudiendo utilizarse como terapia en pacientes con visión excéntrica, modificando el punto retiniano de preferencia (o *Preferred Retinal Locus* - PRL) (el punto de fijación extrafoveal) y aproximarlos al punto de fijación foveal. Todo ello permitirá mejorar su calidad visual en diversas habilidades (como la lectura rápida) gracias a su visión residual e incrementar la estabilidad de fijación (18).

## *b) Tipos de microperímetros*

- *Optos OCT SLO (SLO; Rodenstock, Ottobrunn, Alemania) o láser de barrido:* esta técnica fue la primera en utilizarse para obtener un mapa de sensibilidad retiniana en relación con la imagen del fondo de ojo en pacientes con cualquier grado de pérdida visual o alteración en la fijación. Actualmente, este sistema ya no se encuentra en el mercado. Permitía llevar a cabo un examen automático completo para evaluar los mismos puntos de la retina que se analizan en la microperimetría de referencia (66,85).
- *OCT/SLO (OPKO/OTI; OPKO Health, Miami, Florida, EEUU):* este dispositivo combina un SD-OCT con un sistema de SLO y un microperímetro (86).
- *MP1 (MP1; Nidek Technologies Inc., Padua, Italia):* este equipo cuenta con una cámara fundoscópica infrarroja que tiene un campo de visión de 45° y una resolución de 768x576 píxeles a 25 Hz. La perimetría se lleva a cabo en una pantalla de cristal líquido controlada por software. A diferencia del SLO, incluye un software de seguimiento ocular que sigue los movimientos del ojo con respecto al marco de referencia inicial. De esta manera, compensa automáticamente los movimientos oculares durante el examen mediante el cálculo de los desplazamientos horizontales y verticales con respecto a la posición de referencia tomada al inicio del examen, a una frecuencia de 25 Hz (cada 40 ms). Si se pierde la localización de la retina, se emite una señal acústica para alertar al examinador sobre la pérdida de control de la fijación del sujeto. Además, permite llevar a cabo un examen de seguimiento automático, cuantificando el umbral retiniano exactamente en los mismos puntos retinianos evaluados durante el examen inicial, incluso si la fijación cambia durante el tiempo de seguimiento. Puede realizarse una microperimetría estática (la más común) o una microperimetría cinética. El estímulo utilizado, de acuerdo con el tamaño estándar de Goldmann, puede variar desde I (6,5 min/arco) hasta V (104 min/arco), siendo el Goldmann III el más utilizado. La duración de cada estímulo puede variar de 100 a 2.000 ms, la intensidad oscila entre 0 y 20 decibelios (dB), y el sistema ofrece diversas opciones para el marco de fijación (*target fixation*). El modelo estándar consiste en una cruz de 1°, con una intensidad de 100 apostilbs (asb) en color rojo. Además, se puede modificar el grosor, el color y el tamaño (desde 0,3° hasta 20°). Conforme el marco de fijación sea más grande, los movimientos de la fijación se vuelven más anchos e irregulares (86).

- *Macular Integrity Assessment (MAIA; CenterVue, Padua, Italia)*: este nuevo microperímetro de tercera generación utiliza un DLS infrarrojo de una longitud de onda de 830 nm como fuente de luz, con un nivel de iluminación máximo predefinido por la fuente láser, lo que permite obtener una imagen del fondo de ojo en blanco y negro con una resolución de 1024x1024 píxeles (78) (Figura 18). Para el estudio macular utiliza diferentes protocolos de escaneo, que realizan hasta un total de 37 cortes en el área macular, obteniendo nueve regiones de espesor macular, similares a aquellas descritas en el ETDRS (en la que el área central tiene 1 mm de diámetro y centrado en la fóvea, el anillo interno tiene 3 mm de diámetro y está dividido a su vez en zona temporal, superior, nasal e inferior). El anillo externo tiene 6 mm de diámetro y también se subdivide en los cuatro cuadrantes (87,88).



Figura 18: Imagen de Microperímetro MAIA. Tomado de: MAIA Microperimetry Handbook - First Edition.

### c) MAIA: Metodología y parámetros de evaluación

Los estímulos se proyectarán mientras el paciente mantiene la mirada fija en un estímulo central o de fijación (un círculo rojo con un diámetro de 1°). El patrón de proyección estándar está constituido por 37 puntos distribuidos en tres círculos concéntricos de 12 puntos cada uno además del punto central, con un tiempo de proyección de 200 ms. El examinador podrá modificar este patrón añadiendo o quitando posiciones manualmente para personalizar las distintas regiones de la retina a evaluar.

En función de la luminancia con la que se proyecten, algunos estímulos serán fácilmente detectables por el sujeto mientras que otros no serán detectados al encontrarse por debajo de su umbral de detección. Pueden utilizarse dos estrategias: el *Fast Exam* o examen rápido, de menor tiempo de duración que el examen completo, sirve para casos de daño profundo retiniano o de mala colaboración por parte del sujeto y el *Expert Exam* o examen completo, que está basado en una estrategia en forma de escalera (4-2), presentando en primer lugar los estímulos de mayor luminancia, de forma que cuando el punto no es detectado se aumenta la intensidad del estímulo mientras que, cuando se detecta, el instrumento reduce la intensidad.

Como hemos mencionado previamente, el microperímetro MAIA analiza la función retiniana mediante la combinación de tres técnicas diferentes:

- 1) *Imagen de la Retina*: localizando posibles anomalías mediante un sistema de SLO, tecnología confocal de alta resolución (Figura 19), que no precisa la utilización de un flash ni la dilatación pupilar del paciente, y permite su visualización incluso en presencia de medios no transparentes (89).

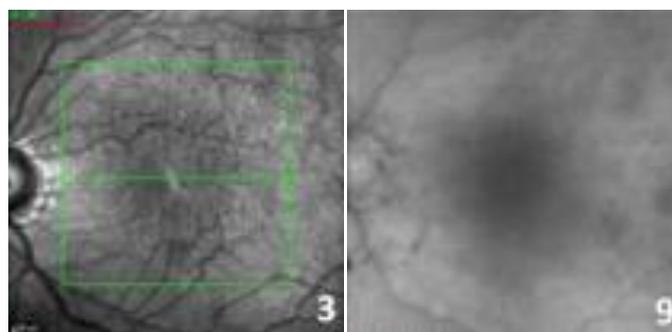


Figura 19: Imagen retiniana obtenida mediante el sistema SLO. Tomada de: MAIA Microperimetry Handbook - First Edition.

- 2) *Examen Sensibilidad*: se basa en la medida del umbral incremental de luminancia, es decir, la mínima cantidad de luz necesaria para que el ojo pueda detectar un estímulo luminoso sobre un fondo.

La luminancia del estímulo se mide en asb, unidad absoluta equivalente a  $0,3183 \text{ cd/m}^2$ , que se representa mediante la escala relativa de dB, que depende de la máxima intensidad que el microperímetro es capaz de emitir, no estando por tanto estandarizada. Se trata de una escala logarítmica invertida, de 0 a 36 dB (400 a 4 asb respectivamente), siendo 0 dB el estímulo más luminoso y que se representa mediante un código de colores donde "verde" representa valores normales, "amarillo" aquellos sospechosos, "rojo" valores anormales y "negro" escotomas (Figura 20).



Figura 20: Escala de dB del MAIA. Tomada de: MAIA Microperimetry Handbook - First Edition.

La iluminación de fondo es de  $1,27 \text{ cd/m}^2$  (4 asb) y la máxima luminancia generable es de  $318,47 \text{ cd/m}^2$  (1.000 asb).

Se proyectan estímulos luminosos de 26 minutos de arco (Goldmann tipo III) con un LED blanco sobre la superficie retiniana que es atenuado en rangos de 0 a 36 dB en un área de  $10^\circ$  de diámetro con 37 puntos de medición (89).

Existen tres tipos "estrategia de proyección" de dicho estímulo: la estrategia de umbral completa 4-2, de 5,5 minutos de duración, es la más utilizada, y aumenta la intensidad del estímulo en 4 dB progresivamente hasta que este es detectado y posteriormente se reduce en 2 dB hasta que el estímulo no es detectado de nuevo; la estrategia de 4 niveles fijos (4-LF), de 2,5 minutos de duración, se utiliza en pacientes con patología retiniana conocida, proyectando 4 estímulos de diferentes intensidades (25 dB, 15 dB, 5 dB y 0 dB) y realiza una evaluación rápida que clasifica la sensibilidad retiniana en "buena", "media", "mala" o "con escotoma"; y por último, la estrategia búsqueda de escotoma (*scotoma finder*), de 1,5 minutos de duración, diseñada para pacientes con una afectación visual central severa para obtener información de la progresión de la zona "ciega" mediante la proyección de estímulos de 0 dB (18) (Figura 21).

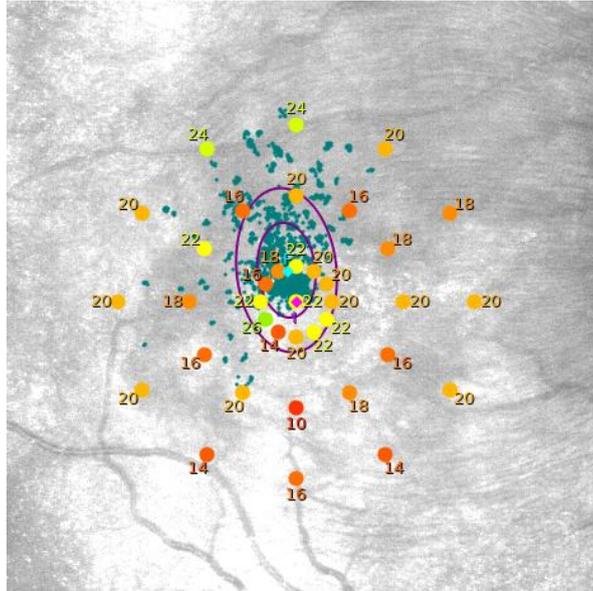


Figura 21: Ejemplo de microperimetría donde se muestra la sensibilidad macular en un paciente afecto de Retinopatía Diabética no Proliferativa Moderada, en el que se aprecia una pérdida de sensibilidad retiniana.

- 3) *Examen de Fijación*: que consiste en alinear ópticamente un área funcional de la retina, denominado PRL, la fovea en sujeto sanos o regiones extrafoveales en caso de patologías con afectación central de la retina y “visión excéntrica”, con un punto seleccionado (18).

Se realizan dos estimaciones de los PRL: la primera al comienzo del examen determina el *High-PRL* o PRL inicial, tomado como referencia para el alineamiento durante la prueba, medido mientras el paciente mantiene su máxima atención exclusivamente en la observación del estímulo central durante 10 segundos; la segunda al final del examen perimétrico realiza una segunda estimación de la localización del PRL, mientras la atención sobre el punto de fijación central se verá distraída por las respuestas del examen, esta vez incluyendo todas las coordenadas X e Y de los puntos de fijación registrados durante la realización del examen perimétrico, y que recibe el nombre de *Low-PRL* o PRL final. La posición de este PRL será el centro de la *Bivariate Contour Ellipse Area* (BCEA), es decir, es el baricentro de las coordenadas X e Y (Figura 22) (78,82). De esta forma se configura la nube de puntos de fijación del paciente, corrigiendo las pérdidas de fijación mediante *EyeTracker*, que se vuelcan sobre la imagen obtenida por SLO.

El análisis de la estabilidad de fijación se puede realizar mediante los Índices P1 y P2, que representan el porcentaje de puntos de fijación respecto al total que se encuentran dentro

de un círculo de 1° y 2° de radio respectivamente y en función de cuyos valores se clasificará la estabilidad de fijación en estable si  $P1 > 75\%$ , relativamente inestable si  $P1 < 75\%$  y  $P2 > 75\%$  (Figura 23), o inestable si  $P2 < 75\%$ ; y en segundo lugar el análisis de la elipse que contiene todos los puntos de fijación, la BCEA, calculada en función de las desviaciones estándar (DS) conteniendo el 63% (BCEA63 o elipse menor) y el 95% (BCEA95 o elipse mayor) de los puntos de fijación (18,83) (Figura 24).

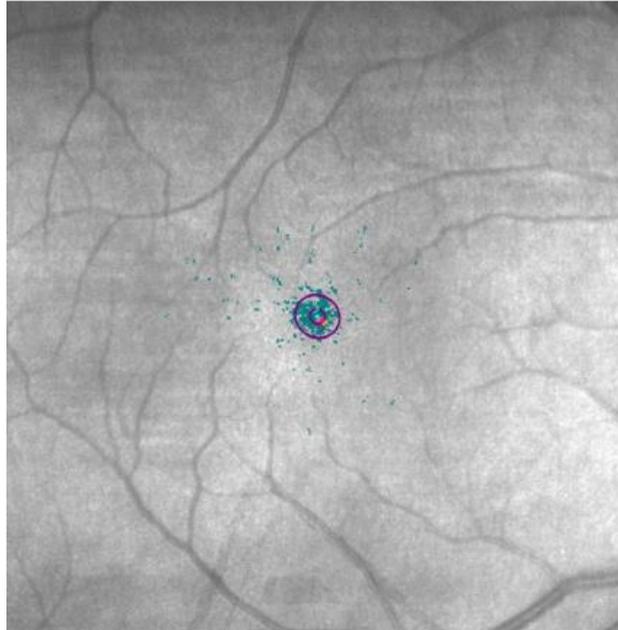


Figura 22: Representación del BCEA, en el que las elipses representan la BCEA95 y BCEA63. Tomada de: MAIA Microperimetry Handbook - First Edition.



Figura 23: Representación de la Estabilidad de Fijación y clasificación clínica en función de estos valores. Ejemplo de valores de los índices P1 y P2. Tomada de: MAIA Microperimetry Handbook - First Edition.

También puede analizarse la dispersión vertical y horizontal de los puntos de fijación, mediante los ejes mayor y menor de BCEA63 y BCEA95 proporcionando un ángulo para ambas elipses que nos indica la dirección en la que están orientadas (Figura 24).

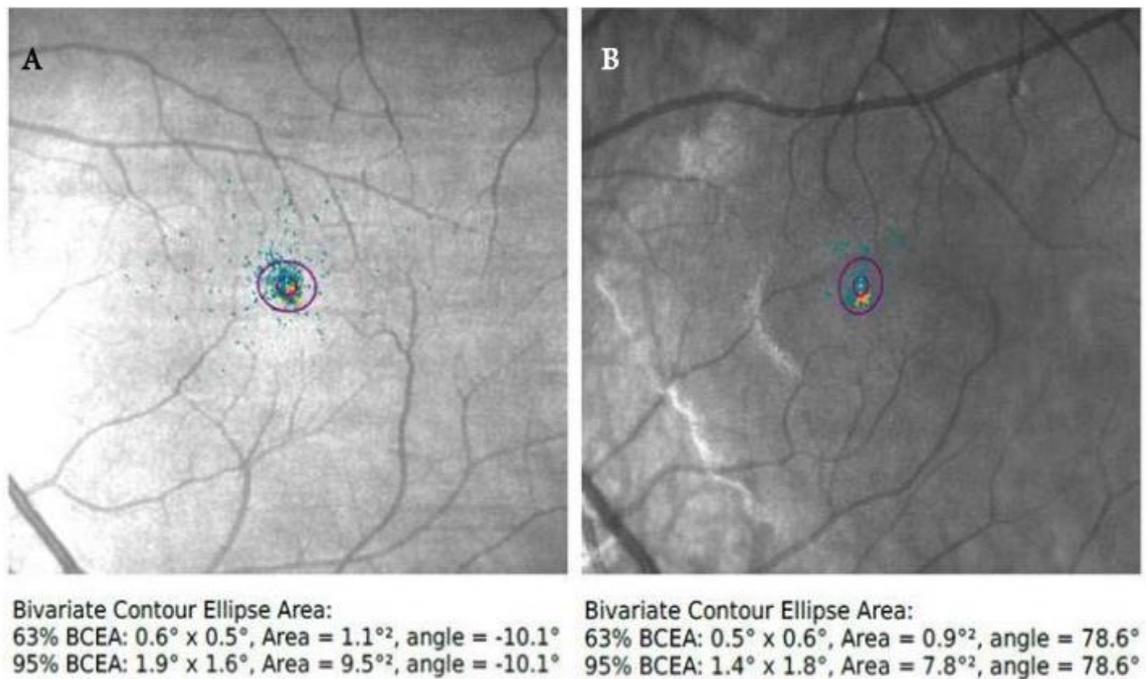


Figura 24: Representación de los BCEA de dos sujetos diferentes, con los valores del eje mayor y menor, el área total y el ángulo para BCEA63 y BCEA95. En la imagen de la izquierda (A) se observa una orientación predominantemente horizontal de la elipse, mientras que la imagen de la derecha (B) muestra una orientación predominantemente vertical. Tomada de: MAIA Microperimetry Handbook - First Edition.

Por otro lado, el Índice de Integridad Macular (*Macular Integrity*) determina la probabilidad de que los resultados del paciente sean secundarios al deterioro de la sensibilidad normal asociada a la edad (si es inferior al 40%), sospechosos (si la pérdida se encuentra entre el 40 y 60%), o son considerados patológicos (cuya pérdida es mayor al 60% al comparar con los valores normales ajustados por edad del paciente) (Figura 25). Hay que tener en cuenta que no se correlaciona con la severidad de la enfermedad y no existe una relación directa con el valor umbral promedio (expresado en dB), pudiendo ser este normal con una integridad macular alterada.

**MACULAR INTEGRITY**

Figura 25: Representación del Análisis de la Integridad Macular, que se encuentra dentro de los valores normales. Tomada de: MAIA Microperimetry Handbook - First Edition.

### 1.2.8. Manejo de la Retinopatía Diabética

El adecuado control de la enfermedad en estos pacientes es esencial con el fin de evitar las complicaciones asociadas previamente relatadas. Es imprescindible educar al paciente en la importancia de acudir a las revisiones y llevar a cabo un control exhaustivo de otros factores de riesgo para conseguir los mejores resultados visuales. Todo ello evitará la progresión de la enfermedad y permitirá detectar aquellos pacientes con riesgo de desarrollar pérdida visual antes de que ocurra un daño irreversible (5,59).

El tratamiento médico es esencial para un adecuado control de la glucemia, manteniendo cifras de glucemia preprandial, antes de acostarse y de HbA1c dentro de los límites recomendables (90). También es fundamental el control de la Tensión Arterial (TA) (< 140/90 mmHg), y de otros factores de riesgo cardiovascular como la dislipemia, controlando cifras de colesterol de baja densidad (LDL-C), triglicéridos (TG) y manteniendo un nivel adecuado de colesterol de alta densidad (HDL-C) (9).

El cribado sistemático de la enfermedad es fundamental. Actualmente la retinografía no midriática es una prueba válida para el cribado según la ADA (91), aunque no para realizar el diagnóstico de la RD ni su seguimiento. Puede realizarse por un técnico para ser posteriormente valorada por un oftalmólogo de forma telemática, reduciendo así la demanda asistencial y paliando la falta de medios y personal y la dispersión geográfica.

En caso de detectarse lesiones sugestivas de RD, el diagnóstico y seguimiento deberán realizarse mediante una exploración oftalmológica que incluya un examen completo con dilatación pupilar. Dichas revisiones se realizarán de forma periódica con unos intervalos dependientes del estadio de la enfermedad, con controles al menos anuales en el caso de los pacientes con DM1 o hasta dos años en los pacientes con DM2 (Tabla 2). Por su parte, el diagnóstico de EMD puede llevarse a cabo mediante la OCT incluso en casos incipientes (91).

Respecto al tratamiento de las complicaciones, el láser resulta especialmente importante mediante Panfotocoagulación retiniana en caso de proliferación vascular e isquemia extensa o mediante Fotocoagulación láser focal en caso de EMD sin afectación central.

Por otro lado las inyecciones con fármacos inhibidores del VEGF (anti-VEGF) disminuyen la permeabilidad vascular secundaria a la secreción del VEGF, reduciendo el grosor macular, consiguiendo mejores resultados visuales que el tratamiento láser, siendo en este momento el

tratamiento de elección en EMD con afectación central y enlenteciendo la progresión de la isquemia macular así como la progresión de la RD; también ha demostrado su utilidad en la regresión de la RDP (59,92). Se pueden utilizar fármacos que inhiban tanto el VEGF como la vía de la angiopoyetina 2 (Ang-2) (93). La inyección de corticoides de liberación lenta a nivel intravítreo también es eficaz como tratamiento del EMD, de preferencia en pacientes pseudofáquicos y no glaucomatosos.

Sin embargo, dichos tratamientos se dirigen a los cambios patológicos basados en las anomalías vasculares. Por tanto, la mayoría de los pacientes ya han tenido una pérdida de visión de moderada a grave al comienzo del tratamiento. Nuevas líneas de investigación estudian posibles nuevas dianas terapéuticas focalizadas en el papel de la neuroprotección que evite la ND retiniana asociada a la enfermedad y a la identificación de alteraciones o biomarcadores previos a los signos vasculares de la RD.

# JUSTIFICACIÓN DE LA UNIDAD TEMÁTICA



## 2. JUSTIFICACIÓN DE LA UNIDAD TEMÁTICA

La DM es la enfermedad metabólica más prevalente de este siglo, con una gran trascendencia social y económica, y una elevada comorbilidad para los pacientes. Actualmente, en la práctica clínica, la evaluación de los pacientes con RD se basa principalmente en el estudio de los valores de AV, exploración del fondo de ojo y espesor macular obtenidos por OCT, sin considerar otras variables de la función retiniana.

Sin embargo, debemos tener en cuenta que algunos pacientes sin signos de RD y con buena AV, presentan una disminución de la sensibilidad macular detectable mediante pruebas funcionales como la microperimetría, lo que sugiere un deterioro funcional en relación con un daño neurorretiniano temprano en pacientes diabéticos antes de que ocurran manifestaciones vasculares. Igualmente, sin existir lesiones clínicas, el enfermo puede tener una alteración del espesor retiniano con una pérdida neuronal a nivel de la retina interna.

La tendencia actual es a realizar una aproximación multimodal del paciente, que permita detectar cambios subclínicos e identificar pacientes de alto riesgo para poder tratarlos más precozmente, o controlarlos de modo más estrecho, antes de que la pérdida visual sea irreversible. Los avances van dirigidos a la determinación de biomarcadores específicos que permitan un diagnóstico precoz de la enfermedad y predigan la respuesta terapéutica.

Pocos estudios han conseguido correlacionar los cambios de la OCT con los resultados de la sensibilidad retiniana.

Nuestro objetivo es determinar aquellos cambios estructurales mediante el análisis de espesores mediante SS-OCT y la sensibilidad macular por microperimetría en pacientes con diabetes en comparación con adultos sanos, y estudiar la correlación de dichos datos estructurales y funcionales obtenidos. Igualmente valoraremos biomarcadores, como los obtenidos con la OCTA, de enfermedad retiniana, incluyendo cambios en los plexos capilares retinianos y coroideos o modificaciones en las medidas y morfología de la ZAF.



HIPÓTESIS  
Y  
OBJETIVOS



## 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 3.1. Hipótesis

La ND progresiva asociada a la DM puede ser detectada incluso en estadios precoces de la RD mediante técnicas de imagen no invasivas como la OCT o la OCTA y pruebas funcionales retinianas como la microperimetría.

### 3.2. Objetivos

- *Objetivo Principal:*
  1. Comparar y correlacionar los resultados estructurales y funcionales a nivel retiniano entre pacientes con DM y controles sanos de la misma edad.
  
- *Objetivos Secundarios:*
  1. Evaluar las alteraciones a nivel estructural sugestivas de ND retiniana en las diferentes capas de la retina incluyendo el estudio del espesor de la retina total (RT), CFNR, GCL+ y GCL++ en el área macular definida por los cuadrantes del ETDRS mediante SS-OCT en pacientes diabéticos (DM1 y DM2, con y sin RD).
  2. Evaluar las alteraciones a nivel funcional de los 37 puntos de sensibilidad retiniana mediante microperimetría MAIA en pacientes con DM (DM1 y DM2, con y sin RD).
  3. Evaluar la relación entre ND estructural a nivel macular y el control metabólico mediante los niveles de HbA1c, la duración de la diabetes y otras características demográficas de la enfermedad.

4. Analizar las características y los avances que aporta la OCTA en la valoración de las lesiones de los enfermos DM realizando una revisión sistemática de la evidencia disponible en la literatura.

# MÉTODOS



## 4. MÉTODOS

### 4.1. Metodología del 1<sup>er</sup> artículo

Se realizó un estudio observacional prospectivo en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza (España) entre Octubre de 2018 hasta Octubre de 2019 siguiendo los principios establecidos en la Declaración de Helsinki y tras la aprobación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA 18/2017) (Anexo 1). Todos los pacientes fueron informados del estudio y firmaron el consentimiento informado (Anexo 2) previamente a realizar ningún tipo de exploración, dándoles la opción de abandonar el estudio en cualquier momento.

#### 4.1.1. Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron pacientes con diagnóstico de DM1 mediante criterios de la ADA de al menos 9 años de evolución sin signos de RD a nivel biomicroscópico, retinográfico o mediante OCT estructural y con buen control glucémico.

El grupo control se compuso de voluntarios sanos mayores de 45 años de edad reclutados entre el personal hospitalario, familiares y otros conocidos del equipo investigador ajustados por edad.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

- Mejor AV corregida (MAVC) inferior a 20/25 en la escala de Snellen.
- Errores refractivos superiores a 5,00D de equivalente esférico (EE) y mayores de 3,00D de astigmatismo.
- Presión intraocular (PIO) superior a 20 mmHg mediante tonometría de aplanación de Goldmann.
- Alteraciones estructurales en la exploración del segmento anterior objetivadas mediante lámpara de hendidura o en el polo posterior mediante fundoscopia, retinografía u OCT.

- Antecedentes de otra patología ocular que pudiera comprometer la visión incluyendo glaucoma, patología del nervio óptico, inflamación ocular o cirugía ocular previa, así como procedimiento que incluyan terapia láser, terapia intravítrea, traumatismos oculares, patología del segmento anterior y opacidad de medios.
- Pacientes con otras patologías sistémicas o neurodegenerativas (como Alzheimer, enfermedad de Parkinson o Esclerosis Múltiple).

#### 4.1.2. Protocolo de examen

Se realizó un examen oftalmológico completo a todos los pacientes, en una única sesión el mismo día y en un orden estandarizado. Dicha exploración incluía:

- Determinación de la MAVC expresada en LogMAR medida mediante ETDRS a 4 metros.
- Autorrefractómetro para diagnosticar defectos de refracción.
- Biomicroscopía de polo anterior con lámpara de hendidura con valoración del estado del cristalino y otros medios transparentes.
- Evaluación de la motilidad ocular extrínseca e intrínseca.
- Medición de la PIO mediante tonometría de Goldmann y longitud axial (LA) medida con IOLMaster 500® (Carl Zeiss Meditec, Oberkochen, Alemania).
- Una anamnesis completa sobre aspectos demográfico de la enfermedad, incluyendo lectura rigurosa de la historia clínica del paciente que incluya medicación actual, tiempo de evolución de la enfermedad, niveles de HbA1c, perfil lipídico, filtrado glomerular (FG), existencia de microalbuminuria y niveles de creatinina medidos en un periodo menor a 6 meses respecto a la exploración actual.
- Exploración fundoscópica bajo midriasis farmacológica mediante oftalmoscopia indirecta, prestando especial atención a la existencia de lesiones de RD.

### 4.1.3. Análisis estructural de la retina

Además de una exploración fundoscópica indirecta, un único explorador (ABM) obtuvo imágenes estructurales mediante DRI-Triton SS-OCT (Topcon Corporation, Tokyo, Japón) obteniendo un escaneo macular tridimensional de 6,0 × 6,0 mm. La segmentación automática de cada capa de la retina se realizó con el software IMAGEnet 6 Versión 1.22.1.14101<sup>®</sup> 2014 (Topcon Corporation) para evaluar las distintas capas de la retina. Aunque la segmentación de las capas de la retina se realiza de forma automática, fue comprobada por el mismo investigador (ABM) que reposicionó las imágenes de referencia con la función “*Grid Reposition*” si era necesario.

Mediante el protocolo macula 3D evaluado en las 9 áreas ETDRS se obtuvo un mapa macular circular dividido en 3 círculos concéntricos con diámetros de 1 mm (central), 3 mm (interno) y 6 mm (externo), analizando los siguientes sectores: central (C) en el 1 mm central; temporal interno (TI), superior interno (SI), nasal interno (NI) e inferior interno (II) dentro de los 3 mm parafoveales; y temporal externo (TE), superior externo (SE), nasal externo (NE) e inferior externo (IE) en los 6 mm perifoveales.

Basándose en las diferencias de refringencia, el sistema de DRI-Triton SS-OCT utilizó el *Topcon Advanced Boundary Software*<sup>®</sup> para segmentar las capas de la retina y delimitar las líneas que definen los límites de retina y coroides, definiendo siete líneas en el espesor de la retina (Figura 26):

1. ILM: MLI.
2. CFNR/GCL: Límite entre la CCG y de CFNR.
3. IPL/INL: Límite entre la CPI y la CNI.
4. IS/OS: Límite entre los SI y SE de los fotorreceptores.
5. RPE: Límite del EPR.
6. BM: MB.
7. Límite externo de la coroides.

El software delimita las diferentes capas y analiza su espesor a partir de las siete líneas definidas, tanto para la rejilla del área macular como para los sectores del área peripapilar (88):

1. Espesor de la retina: desde MLI hasta el límite entre el EPR y la capa de fotorreceptores (límite OS/RPE).
2. Espesor de la CFNR: desde la MLI hasta el límite interno de la CCG (en el dispositivo línea RNFL/GCL).
3. Espesor GCL+: desde el límite interno de la CCG (línea RNFL/GCL) hasta el límite externo de la CPI (referido como la línea IPL/INL). Por lo tanto, esta capa abarca tanto la de CG como la CPI.
4. Espesor GCL++: desde la MLI hasta la llamada línea IPL/INL, englobando así tanto la CFNR como la CCG. Da valores del Complejo de CG (GCC).

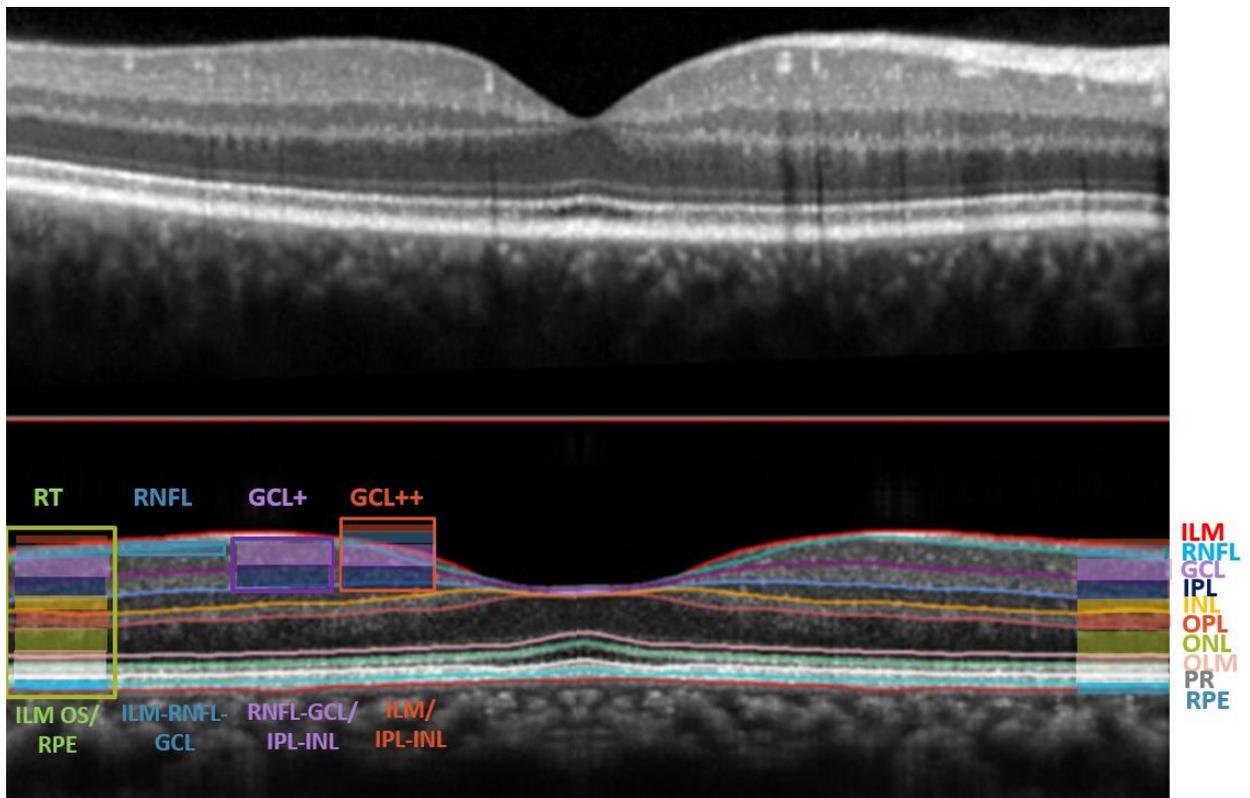


Figura 26: Imagen que muestra la segmentación de las capas de la retina por OCT, apreciándose las siete líneas de la retina tomada con el DRI-Triton SS-OCT y segmentada con el Topcon Advanced Boundary Software®.

En este estudio incluimos 3 protocolos: el de espesor retiniano total (desde la línea de MLI a la línea de MB, denominado "retina total"), el GCL+ (formado desde la CCG y la CPI -complejo GCL-

IPL- hasta la línea superior de CFNR e inferior de la CPI) y el GCL++ o GCC (la suma de CFNR, CCG y CPI desde la línea MLI a línea CPI).

#### 4.1.4. Análisis funcional de la retina

Para evaluar la sensibilidad macular y la integridad funcional utilizamos el microperímetro MAIA (*Macular Integrity Assessment System*; Topcon Corporation, Tokio, Japón) versión del software 1.6.3, en condiciones escotópicas y sin dilatación pupilar (Figura 27).

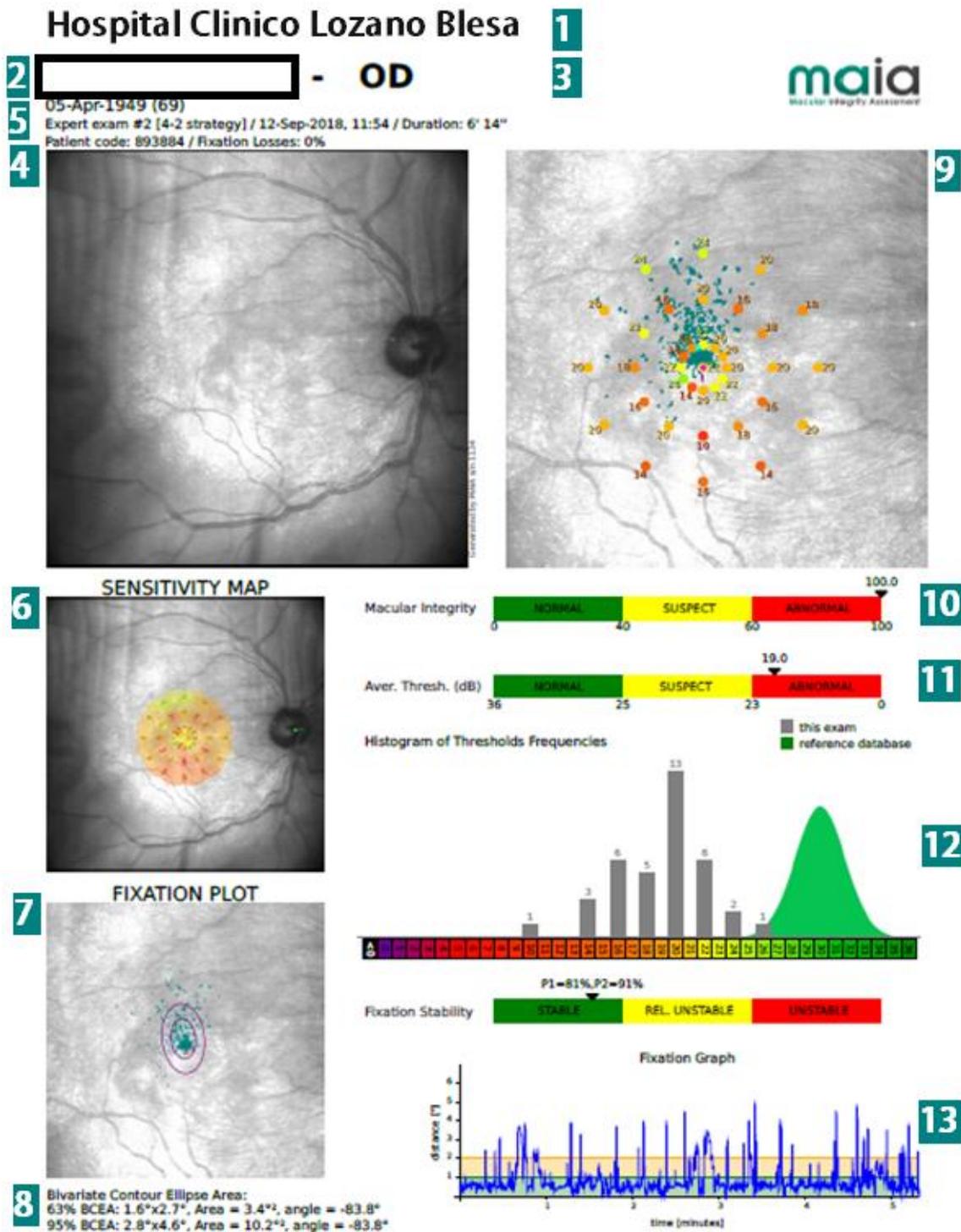


Figura 27: Variables análisis MAIA 1) Identificación del Hospital, 2) Información del paciente, 3) Ojo examinado, 4) Imagen SLO del fondo de ojo, 5) Información de la prueba, 6) Interposición del mapa de la sensibilidad retiniana sobre la imagen del fondo SLO, 7) Nube de punto de fijación sobre imagen de fondo SLO e identificación del PRL, 8) Índices Bivariate Contour Ellipse Area (BCEA) 9) Valores de sensibilidad retiniana (dB) y PRL sobre la imagen de fondo de SLO, 10) Índice de Integridad Macular, 11) Escala colores de Promedio Umbral, 12) Histogramas de valores umbrales (gris) comparados con la distribución normal (verde), 13) Gráfica de Fijación describiendo la amplitud de los movimientos oculares vs tiempo.

Los puntos de sensibilidad MAIA se correlacionaron directamente con las áreas correspondientes de la cuadrícula ETDRS proporcionada por DRI-Triton SS-OCT. Para evaluar la relación de los parámetros de sensibilidad proporcionados por MAIA con los datos de espesor retiniano de OCT, los puntos de sensibilidad del MAIA se dividieron en sectores equivalentes a los proporcionados por la cuadrícula ETDRS. Considerando un ojo emétrope,  $1^\circ$  en MAIA equivale aproximadamente a un círculo de 0,3 mm de radio;  $3^\circ$  a un círculo de 0,9 mm de radio y  $5^\circ$  a un círculo de 1,5 mm de radio. Según las medidas proporcionadas por la cuadrícula ETDRS, el punto central y los puntos de sensibilidad de  $1^\circ$  (diámetros de 0,6 mm) se incluyeron en el anillo central del ETDRS, y los puntos de sensibilidad se ubicaron en  $3^\circ$  y  $5^\circ$  (diámetros de 1,8 y 3 mm, respectivamente) al círculo de 3 mm de la rejilla ETDRS. Así, la media de los umbrales de sensibilidad retiniana calculados para el MAIA central y anillo interno se dispuso en el anillo central del ETDRS y los umbrales de los radios  $3^\circ$  y  $5^\circ$  correspondieron a los cuadrantes TI, SI, NI e II del anillo parafoveal ETDRS (media de 6 puntos de sensibilidad/cuadrante) (Figura 28).

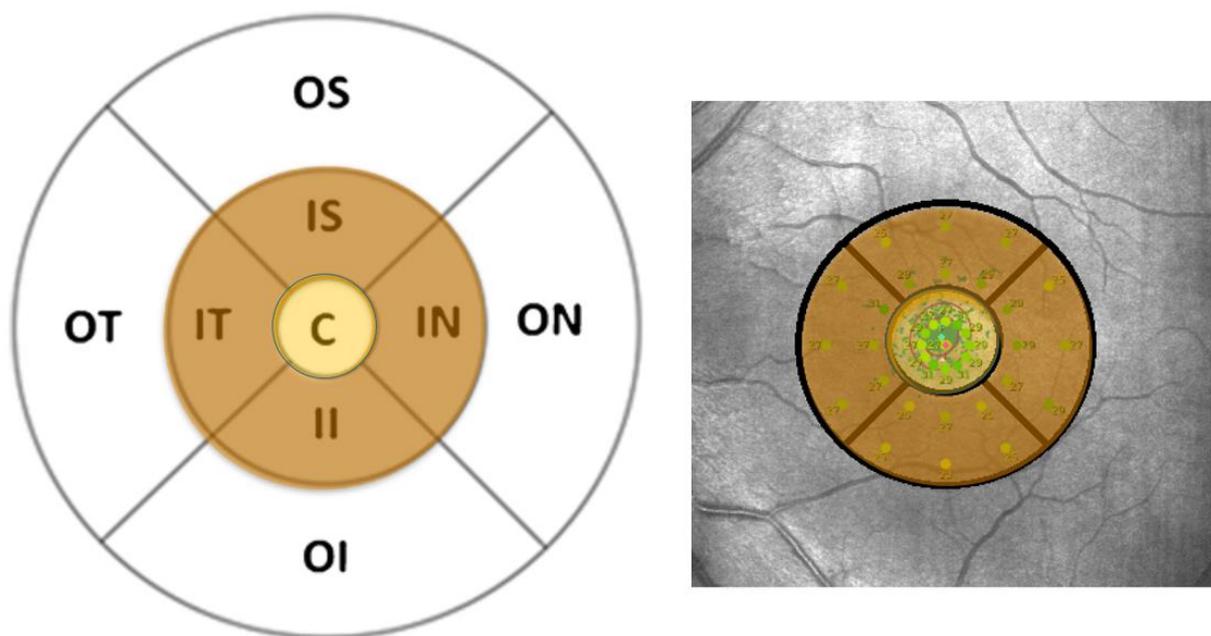


Figura 28. A) Representación de los 9 sectores medidos mediante DRI-Triton SS-OCT: Central (C), 3 mm (interno) y 6 mm (externo), analizando los siguientes sectores: central (C) en el 1 mm central; temporal interno (TI), superior interno (SI), nasal interno (NI) e inferior interno (II) dentro de los 3 mm parafoveales; y temporal externo (TE), superior externo (SE), nasal externo (NE) e inferior externo (IE) en los 6 mm perifeoveales. B) Representación de los 37 puntos de sensibilidad retiniana analizados por la microperimetría Macular Integrity Assessment (MAIA): uno central (amarillo), 12 en el radio  $1^\circ$  o 0,3 mm (rojo), 12 en el radio  $3^\circ$  o 0,9 mm (azul) y 12 en el radio  $5^\circ$  o 1,5 mm (verde). Así, el punto central y el radio

1° se corresponden con el diámetro del anillo ETDRS de 1 mm, y los puntos localizados en 3 y 5° a los anillos perifoveales del ETDRS de 3 mm.

Se comprobó manualmente la ubicación de la fijación y si no estaba correctamente centrada en la fovea, el ojo se excluía del estudio.

#### 4.1.5. Recogida y análisis de datos

Se exportó la imagen fundoscópica utilizada para registrar la posición de los estímulos, extrayendo la información perimétrica en un archivo que posteriormente se importó a la SS-OCT para su posterior análisis y comparación. Una vez recolectados los datos, los resultados fueron exportados y transformados para ser incluidos en una base de datos de Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EE.UU.).

#### 4.1.6. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, todas las variables fueron recogidas en hojas de cálculo en el programa Excel 2011 y posteriormente la información fue importada al software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 24.0, SPSS Inc., IBM Corporation, Armonk, NY, EE. UU.).

En primer lugar, se realizó un análisis estadístico descriptivo de la muestra según las variables demográficas y características clínicas, y se calcularon la media y la DS de las variables descriptivas cuantitativas continuas, mientras que para las variables cualitativas se calcularon las frecuencias absolutas y los porcentajes correspondientes.

Se evaluó la distribución de normalidad de todas las variables con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Como los valores no se ajustaban a la normalidad, se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para las dos muestras independientes y se aplicó la corrección de Bonferroni para comparación múltiple considerando diferencias estadísticamente significativas con un valor de  $p < 0,05$  en el primer y cuarto estudio, y  $p < 0,004$  en el segundo estudio, aplicada la corrección de Bonferroni.

Finalmente, con la prueba de correlación de Spearman se correlacionaron los datos anatómicos y funcionales.

## 4.2. Metodología del 2º y 4º artículo

Se realizaron dos estudios observacionales descriptivos en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza (España) entre Octubre de 2018 hasta Junio de 2019, y entre Octubre de 2021 y Junio 2022, respectivamente. Ambos estudios siguieron los principios establecidos en la Declaración de Helsinki fueron aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA PI19/252) (Anexo 3) habiendo sido todos los pacientes informados del estudio y firmando el consentimiento informado (Anexo 4) previamente a realizar ningún tipo de exploración. En todo momento pudieron optar a abandonar el estudio si así lo precisaban.

### 4.2.1. Criterios de inclusión y exclusión

Se analizaron pacientes con DM2 diagnosticados mediante criterios del *GDRPG* con RD moderada de al menos 1 año de evolución sin presencia o antecedentes de EMD diagnosticado mediante biomicroscópico, retinografía o mediante OCT estructural, y con buen o moderado control metabólico ( $HbA1c < 8\%$ ).

El grupo control se compuso de voluntarios sanos mayores de 45 años de edad reclutados entre el personal hospitalario, familiares y otros conocidos del equipo investigador apareados por edad.

Al igual que en el estudio previo, se excluyeron a aquellos individuos con:

- MAVC inferior de 20/25 Snellen.
- Errores refractivos superiores a 5,00D de EE y mayores de 3,00D de astigmatismo.
- PIOs superiores a 20 mmHg mediante tonometría de aplanación de Goldmann.
- Alteraciones estructurales en la exploración del segmento anterior mediante lámpara de hendidura o en el polo posterior mediante biomicroscopía, fundoscopia, retinografía u OCT.
- Antecedentes de otra patología retiniana o macular que pudiera comprometer la visión (escotomas), glaucoma, patología del nervio óptico, inflamación o cirugía ocular previa, así como cualquier procedimiento incluyendo terapia láser o terapia intravítrea, traumatismos oculares, patología del segmento anterior (como degeneraciones

corneales) y opacidad de medios que impidieran la realización o la obtención de una OCT de buena calidad.

- Pacientes con otras patologías sistémicas o neurodegenerativas (como Alzheimer, enfermedad de Parkinson o Esclerosis Múltiple).
- Pacientes con HTA mal controlada, diagnosticados de otro síndrome metabólico asociado a la DM, así como pacientes en tratamiento con terapia hormonal sustitutiva.

#### 4.2.2. Protocolo de examen

Se realizó un examen oftalmológico completo a todos los pacientes, en una única sesión el mismo día y en un orden estandarizado. Dicha exploración incluía:

- Determinación de la MAVC expresada en LogMAR medida mediante ETDRS a 4 metros.
- Exploración mediante autorrefractómetro de defectos de refracción.
- Evaluación de la motilidad ocular extrínseca e intrínseca.
- Biomicroscopía de polo anterior con lámpara de hendidura con valoración del estado del cristalino y otros medios transparentes.
- Medición de la PIO mediante tonometría de Goldmann y LA medida con Aladdin KR-1 W Series *Optical Biometry System* (Topcon Corporation, Tokyo, Japón).
- Anamnesis completa sobre aspectos demográfico de la enfermedad, incluyendo lectura rigurosa de la historia clínica del paciente valorando medicación actual, tiempo de evolución de la enfermedad, niveles de HbA1c, perfil lipídico, FG y niveles de creatinina medidos en un periodo menor a 6 meses respecto a la exploración actual.
- Exploración fundoscópica bajo midriasis farmacológica mediante oftalmoscopia indirecta, prestando especial atención a la existencia de lesiones de RD.

#### 4.2.3. Análisis estructural de la retina

El protocolo de estudio mediante DRI-Triton SS-OCT fue el mismo que se utilizó en el primer estudio, mediante el protocolo macula 3D para la obtención de los 3 protocolos estudiados (retina total, GCL+ y GCL++) realizado por parte de un único explorador (ABM) y con comprobación de la segmentación automática realizada por el software IMAGEnet 6 Versión 1.22.1.14101© 2014 por otro explorador diferente (MDDB).

#### 4.2.4. Análisis funcional de la retina

Los 37 puntos de sensibilidad macular, así como las diversas variables de sensibilidad retiniana también fueron analizadas por el microperímetro MAIA versión del software 1.6.3.

Se realizó la misma correlación de los puntos de sensibilidad MAIA con las mismas áreas de la cuadrícula ETDRS proporcionada por DRI-Triton SS-OCT descrita en el estudio anterior.

#### 4.2.5. Recogida y análisis de datos

Se exportó la imagen fundoscópica utilizada para registrar la posición de los estímulos, extrayendo la información perimétrica en un archivo que posteriormente se importó a la SS-OCT para su posterior análisis y comparación. Una vez recolectados los datos, los resultados fueron exportados y transformados para ser incluidos en una base de datos de Excel.

#### 4.2.6. Análisis estadístico

Los datos analizados fueron importados al software SPSS 20.0 (SPSS Inc., IBM Corporation, Armonk, NY, EE.UU.) para el análisis estadístico.

Se llevó a cabo análisis estadístico descriptivo de la muestra según las variables demográficas y características clínicas, calculando la media y la DS de las variables descriptivas cuantitativas continuas, mientras que para las variables cualitativas se calcularon las frecuencias absolutas y los porcentajes correspondiente. Se evaluó nuevamente si las variables se ajustaban a la normalidad con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Como no seguían una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para dos muestras independientes y se aplicó la corrección de Bonferroni para comparación múltiple, considerando diferencias estadísticamente significativas con un valor de  $p < 0,05$  en el cuarto estudio, y  $p < 0004$  en el segundo estudio, después de aplicar la corrección de Bonferroni.

Finalmente, con la prueba de correlación de Spearman correlacionamos los datos estructurales y funcionales.

### 4.3. Metodología del 3<sup>er</sup> artículo

Por otro lado, la revisión sistemática se desarrolló siguiendo la guía de *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA), mediante la búsqueda en diferentes bases de datos, incluyendo PubMed y EMBASE hasta el 15 de Abril de 2021, utilizando los siguientes términos: *OCTA OR OCT angiography OR optical coherence tomography angiography AND diabetes OR diabetes mellitus OR diabetic retinopathy OR diabetic maculopathy OR diabetic macular oedema OR diabetic macular ischaemia* excluyendo términos MeSH y sinónimos.

Se incluyeron estudios en los que la OCTA se utilizara en paciente diabéticos con o sin RD, limitándonos a artículos publicados en inglés y en revistas con revisión por pares, sin limitaciones de edad, tiempo de evolución de la enfermedad o seguimiento, excluyendo series de casos, abstracts de congresos y *cartas al editor*, así como estudios basados en TD-OCT.

Se recogieron 829 resultados en PubMed y 627 en EMBASE, para un total de 1.456 registros mediante la búsqueda realizada siguiendo el protocolo PRISMA por tres autores diferentes. Después de una revisión inicial de los resúmenes, se eliminaron los estudios duplicados o aquellos artículos que no cumplían con los criterios de selección. Se seleccionaron 107 artículos para una revisión completa de la literatura. Otros artículos previamente citados que no fueron seleccionados, pero que parecían ser importantes para nuestra revisión, se incluyeron a posteriori y al final se recogieron un total de 135 estudios en esta revisión sistemática cualitativa.

## 5. RESULTADOS

A continuación, se adjuntan cada una de las publicaciones que componen la presente tesis doctoral junto a un breve resumen de estas:

### 5.1. ARTÍCULO 1: *Microperimetry and Optical Coherence Tomography Changes in Type-1 Diabetes Mellitus without Retinopathy*

Elvira Orduna-Hospital , Judit Otero-Rodríguez , Lorena Perdices, Ana Boned-Murillo, Javier Acha, Isabel Pinilla.

*Diagnostics*. 2021 Jan 16;11(1):136.

DOI: 10.3390/diagnostics11010136.

Factor de Impacto JCR2021: 3,992

#### Resumen

Objetivo: valorar y correlacionar el espesor de las IRL mediante SS-OCT y la sensibilidad macular retiniana mediante microperimetría MAIA en pacientes DM1 sin RD.

Métodos: se incluyeron 51 pacientes con DM1 sin RD y 81 controles sanos de la misma edad evaluando la LA, el grosor macular en las áreas del ETDRS mediante SS-OCT y la sensibilidad retiniana a nivel macular mediante microperimetría.

Resultados: la edad media de los pacientes con DM1 fue de  $41,52 \pm 13,21$  años (con un tiempo medio de evolución de la enfermedad de  $25,88 \pm 8,42$  años) y la de los sujetos sanos de  $42,41 \pm 13,24$  años.

Los pacientes con DM1 sin RD mostraron espesores retinianos y del IRL más gruesos respecto a los sujetos sanos ( $p < 0,05$  en todas las áreas del ETDRS, excepto en el cuadrante TE, así como una disminución generalizada de la sensibilidad ( $p < 0,05$ ) concretamente en las áreas II, TI y NI del radio 5°; las áreas SI, II, TI y NI del radio 3°; y en superior central -SC- y temporal central -TC- del radio 1°, que disminuyó también con la edad (mostrando una correlación negativa significativa con la edad en todas las áreas). Respecto al resto de parámetros del MAIA solo se encontraron diferencias en cuanto a promedio umbral ( $28,16 \pm 1,46$  dB versus  $26,44 \pm 3,47$  dB, control y DM1 respectivamente,  $p = 0,005$ ) y pérdidas de fijación ( $0,42 \pm 2,83\%$  y  $6,56 \pm 12,99\%$ , para los grupos control y DM1 respectivamente,  $p = 0,013$ ).

Estudiando las correlaciones con el test de correlación de Spearman encontramos que los cambios en el espesor de las diferentes capas retinianas se acompañaban de una disminución en la sensibilidad a nivel macular en las áreas parafoveales, mostrando una correlación negativa entre la sensibilidad retiniana y el espesor IRL ( $r = -0,309$  con  $p = 0,029$  al correlacionar sensibilidad en el área NI y el espesor GCL++ en área TI).

Conclusiones: existe una degeneración retiniana en relación con la evolución de la enfermedad, así como una relación entre el espesor macular y la sensibilidad de la retina a este nivel.

### Abstract

Background: we aimed to measure and correlate inner retinal layer (IRL) thickness and macular sensitivity by optical coherence tomography (OCT) and by microperimetry, respectively, in type 1 diabetes mellitus patients (DM1) without diabetic retinopathy (DR).

Methods: fifty-one DM1 patients and 81 age-matched healthy subjects underwent measurement of the axial length (AL), retinal thickness in the macular ETDRS areas by swept source (SS)-OCT and macular sensitivity by microperimeter.

Results: the total retinal and IRL thicknesses were thicker in the DM1 group ( $p < 0.05$ ) in practically all ETDRS areas, and they had a generalized decrease in sensitivity ( $p < 0.05$ ) in 9 areas between both groups. There was a significant negative correlation between retinal sensitivity and age in all areas and in visual acuity (VA) in 5 out of the 9 areas for DM1 patients. Only a mild negative correlation was observed between retinal sensitivity in the 5° nasal inner (5NI) area and in IRL thickness in the temporal inner (TI) area ( $r = -0.309$  with  $p = 0.029$ ) in the DM1 group.

Conclusion: aging and disease evolution in DM1 patients without DR signs generate a decrease in retinal sensitivity. There was a direct relationship between retinal sensitivity and macular thickness in the DM1 group.

## Article

# Microperimetry and Optical Coherence Tomography Changes in Type-1 Diabetes Mellitus without Retinopathy

Elvira Orduna-Hospital <sup>1,2</sup>, Judit Otero-Rodríguez <sup>2</sup>, Lorena Perdices <sup>1</sup>, Ana Sánchez-Cano <sup>1,2</sup>, Ana Boned-Murillo <sup>1,3</sup>, Javier Acha <sup>1,4</sup> and Isabel Pinilla <sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Aragon Institute for Health Research (IIS Aragón), 50009 Zaragoza, Spain; elvisab14@hotmail.com (E.O.-H.); lperdices@gmail.com (L.P.); anaisa@unizar.es (A.S.-C.); anabomu@hotmail.com (A.B.-M.); j.acha.perez@gmail.com (J.A.)

<sup>2</sup> Department of Applied Physics, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain; juditaotro97@gmail.com

<sup>3</sup> Department of Ophthalmology, Lozano Blesa University Hospital, 50009 Zaragoza, Spain

<sup>4</sup> Department of Endocrinology, Miguel Servet University Hospital, 50009 Zaragoza, Spain

\* Correspondence: isabel.pinilla@telefonica.net; Tel.: +34-696-808-295



**Citation:** Orduna-Hospital, E.; Otero-Rodríguez, J.; Perdices, L.; Sánchez-Cano, A.; Boned-Murillo, A.; Acha, J.; Pinilla, I. Microperimetry and Optical Coherence Tomography Changes in Type-1 Diabetes Mellitus without Retinopathy. *Diagnostics* **2021**, *11*, 136. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11010136>

Received: 14 December 2020

Accepted: 13 January 2021

Published: 16 January 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Background: We aimed to measure and correlate inner retinal layer (IRL) thickness and macular sensitivity by optical coherence tomography (OCT) and by microperimetry, respectively, in type 1 diabetes mellitus patients (DM1) without diabetic retinopathy (DR). Methods: Fifty-one DM1 patients and 81 age-matched healthy subjects underwent measurement of the axial length (AL), retinal thickness in the macular ETDRS areas by swept source (SS)-OCT and macular sensitivity by microperimeter. Results: The total retinal and IRL thicknesses were thicker in the DM1 group ( $p < 0.05$ ) in practically all ETDRS areas, and they had a generalized decrease in sensitivity ( $p < 0.05$ ) in 9 areas between both groups. There was a significant negative correlation between retinal sensitivity and age in all areas and in visual acuity (VA) in 5 out of the 9 areas for DM1 patients. Only a mild negative correlation was observed between retinal sensitivity in the 5° nasal inner (5NI) area and in IRL thickness in the temporal inner (TI) area ( $-0.309$  with  $p = 0.029$ ) in the DM1 group. Conclusion: Aging and disease evolution in DM1 patients without DR signs generate a decrease in retinal sensitivity. There was a direct relationship between retinal sensitivity and macular thickness in the DM1 group.

**Keywords:** diabetic retinopathy; total retinal thickness; inner retinal layer thickness; ophthalmology; macular sensitivity; microperimetry; swept source optical coherence tomography (SS-OCT); type 1 diabetes mellitus

## 1. Introduction

Although diabetic retinopathy (DR) is regarded mainly as a microvascular disorder [1], there is evidence that supports the appearance of functional changes in early stages [2,3]. It suggests that prior to the appearance of DR, there is neurodegeneration that causes functional [4,5] and structural abnormalities [6,7], such as a decrease in retinal sensitivity detectable by microperimetry [8–10] or changes in macular thickness seen on optical coherence tomography (OCT) [11,12].

In diabetes, there is evidence of increased retinal cell apoptosis [13], which begins affecting the ganglion cell (GC) bodies with shrinkage of dendritic arbors and their consequent axonal involvement [14]. Neuronal changes can be detected measuring the different inner retinal layers (IRL), such as the retinal nerve fiber layer (RNFL), the GC layer (GCL) and the inner plexiform layer (IPL), known as the ganglion cell complex (GCC), in addition to the total retinal thickness by OCT. Previous studies have demonstrated changes in the total retinal thickness and IRL thickness in diabetic patients without DR [11,15–18].

Microperimetry shows decreased macular sensitivity despite high visual acuity (VA) in diabetic patients without DR signs [8–10], suggesting that microperimetry may give

additional information reflecting functional impairment in diabetic patients before vascular manifestations occur.

Many studies indicate early neurodegeneration in diabetes in terms of functional and morphological impairments, but only a few of them have correlated OCT changes with retinal sensitivity results [19,20]. Diabetic subjects with no or minimal vascular signs have been evaluated by spectral domain (SD)-OCT and by microperimetry, but only mean foveal sensitivity and foveal thickness measurements have been analyzed. Moreover, to our knowledge, the correlation between the IRL and retinal sensitivity of the macula was only investigated by Montesano et al. [8].

The purpose of this study was to measure the total retinal thickness and the different IRL thicknesses by swept source (SS)-OCT and macular sensitivity by microperimetry in type 1 diabetes mellitus (DM1) patients without diabetic retinopathy (DR) and to compare the results with those of healthy subjects. In addition, we studied the correlation of the structural and functional data obtained from the ETDRS macular grid.

## 2. Materials and Methods

This study was developed following the principles established in the Declaration of Helsinki and after the approval of the Ethics Committee for Clinical Research of Aragon (CEICA 18/2017), approved on 17 October 2017. Written informed consent was explained and signed by each participant before carrying out any type of exploration, giving them the freedom to leave the study at any time.

It is a prospective observational study on macular retinal thickness and sensitivity in 51 DM1 patients without DR signs with good glycemic control and in 81 age-matched healthy subjects from October 2018–October 2019. All the patients were evaluated at the Ophthalmology Department of the Lozano Blesa University Hospital by the same investigator.

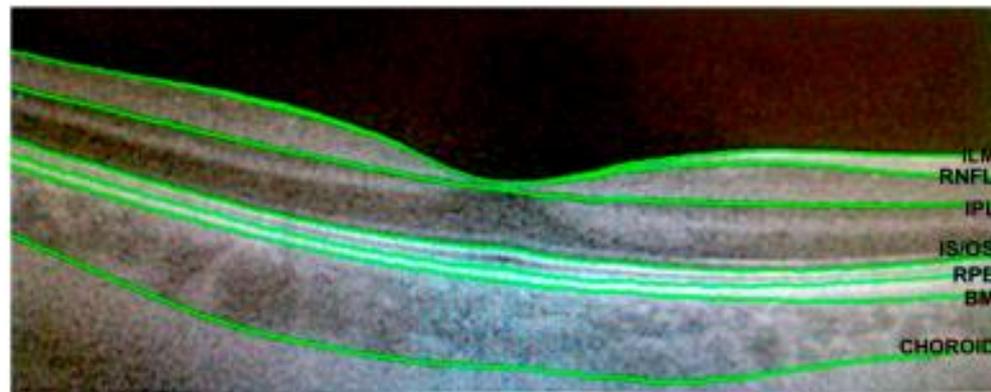
The DM1 patients participating in the study had at least 9 years of disease evolution with no signs of DR identified by biomicroscopy, retinography or structural OCT. They were well controlled by the endocrinology unit. Blood samples were analyzed every six months. Glycosylated hemoglobin (HbA1c), lipid values and arterial blood pressure were maintained under extreme control.

The inclusion criteria were a VA over 20/25 on the Snellen chart to avoid difficulties in performing ophthalmic tests, refractive errors between +5.00 to −5.00 spherical diopters and less than 3 diopters of astigmatism, a normal anterior segment examination with slit-lamp biomicroscopy, intraocular pressure (IOP) less than 20 mmHg measured by Goldman tonometry and no funduscopy anomalies observed by ophthalmoscopy, retinography or structural OCT. A detailed familial, systemic and ophthalmological medical history was obtained from each patient.

The exclusion criteria were the presence of any sign or manifestation of DR, glaucoma, optic nerve pathology, ocular inflammation or previous ocular surgery or procedure including laser therapy, ocular traumatism, anterior segment pathology or media opacification. Patients with other systemic pathology or neurodegenerative disease (Alzheimer's, Parkinson's, multiple sclerosis) were also excluded.

VA was measured by the Snellen chart and by the ETDRS 100% contrast test at four meters in LogMAR scale. The axial length (AL) was measured with the optical biometry IOLMaster<sup>®</sup> 500 (Carl Zeiss Meditec, Oberkochen, Germany).

Each participant was imaged by Deep Range Imaging (DRI)-Triton SS-OCT (Topcon Corporation, Tokyo, Japan) obtaining a macular 6.0 × 6.0 mm three-dimensional scan; automatic segmentation of each retinal layer was made with IMAGENet 6 Version software 1.22.1.14101© 2014 Topcon Corporation (Figure 1) to evaluate the structural function of the retina in 3D [21].



**Figure 1.** Segmentation of the different retinal layers as well as the choroid with the DRI Triton swept source optical coherence tomography (SS-OCT). The provided lines are as follows: ILM, inner limiting membrane line; RNFL, retinal nerve fiber layer line; IPL, inner plexiform layer line; IS/OS, inner/outer segments line; RPE, retinal pigment epithelium line; and choroid line.

The DRI Triton SS-OCT in its 3D macula protocol was used to obtain tomographic macular images and the image quality scale, which ranges from 0 to 100, must be over 60 [22].

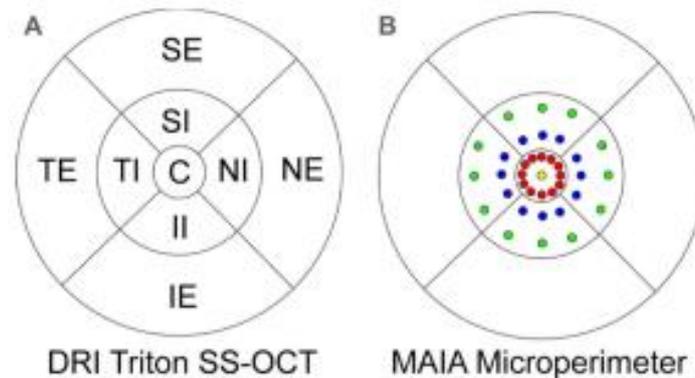
The 3D macula protocol measures in the 9 ETDRS areas [23], providing a circular macular map analysis divided in three concentric circles with diameters of 1, 3 (internal) and 6 (external) mm. The acquired values were the central or subfoveal area (1 mm, C), 3-mm parafoveal ring with four areas, temporal internal (TI), superior internal (SI), nasal internal (NI) and inferior internal (II) areas, and four other areas belonging to the 6-mm perifoveal ring including the temporal external (TE), superior external (SE), nasal external (NE) and inferior external (IE) areas to study each macular layer thickness (Figure 2). To evaluate the different layers, the DRI Triton SS-OCT software uses the refringent properties of each retinal layer.

In our study, we included 3 retinal protocols: the total retinal thickness from the ILM line to the BM line, called “retina” by the device; the “GCL+” formed by the GCL and the inner plexiform layer (IPL) (GCL-IPL complex) from the RNFL upper line to the IPL bottom line; and the “GCL++” or GCC, referring to the sum of the RNFL, GCL and IPL from the ILM line to the IPL line.

To evaluate the macular sensitivity and functional integrity we used Macular Integrity Assessment (MAIA, Macular Integrity Assessment system; Topcon Corporation, Tokyo, Japan) microperimeter in each participant in scotopic conditions and without pupillary dilation. The MAIA is designed to identify any decrease sensitivity compared to the normal sensitivity for the patient’s age and to differentiate pathological changes associated with retinal diseases. This instrument automatically calculates a macular integrity estimation and an analysis for the residual MS threshold values in dB, classifying macular integrity as normal (loss of sensitivity less than 40%), suspicious (loss of sensitivity from 40% to 60%) and out of normal limits (sensitivity losses greater than 60%) [24]. The MAIA software version was 1.6.3.

During the first 10 s of testing, the instrument calculates the location of the “preferred retinal locus” (PRL), which serves as an alignment reference, locating the foveola when the patient looks at the fixation point without stimuli yet projected (PRL-High). Then, a second estimate of this location is taken at the end of the test, which is the reference point for the other points (PRL-Low). Both estimated data are graphically represented on the screen; the MAIA classifies the fixing stability based on the location of PRL-Low as follows: stable, more than two-thirds of the attachment points are centered within the PRL-Low circle; relatively unstable, more than one-third of the attachment points are centered outside the

PRL-Low circle; and unstable, less than one-third of the attachment points are centered within the PRL-Low circle.



**Figure 2.** (A) ETDRS grid of a right eye divided into nine areas provided by the Deep Range Imaging (DRI) Triton SS-OCT. Four areas for the 6-mm perifoveal ring: nasal external (NE), temporal external (TE), superior external (SE) and inferior external (IE) areas; four areas for the 3 mm parafoveal ring: nasal internal (NI), temporal internal (TI), superior internal (SI) and inferior internal (II) areas; and the 1-mm central area. (B) The 37 sensitivity points provided by the Macular Integrity Assessment (MAIA) microperimeter and its location: one in the center (yellow), 12 in the 1° radius (red), 12 in the 3° radius (blue) and 12 in the 5° radius (green). One degree is equivalent to a radius of 0.3 mm; 3° to a radius of 0.9 mm; and 5° to a circle with a 1.5-mm radius. The center point and the 1° sensitivity points (0.6-mm diameters) correspond to the ETDRS 1-mm diameter center ring, and the localized sensitivity points at 3 and 5° (diameters of 1.8 and 3 mm, respectively) to the 3-mm diameter parafoveal ring of the ETDRS grid.

The MAIA sensitivity points were directly correlated to the same areas of the ETDRS grid provided by DRI-Triton SS-OCT. The MAIA provides 37 sensitivity points including one in the center, 12 in the 1° radius (corresponding to a radius of 0.3 mm), 12 in the 3° radius (corresponding to a circle with a 0.9-mm radius) and 12 in the 5° radius that represents a circle with a radius of 1.5 mm. Figure 2 represents the location of the different points and the ETDRS area in an emmetropic eye.

Thus, the mean of the retinal sensitivity thresholds calculated by the MAIA for the central and the inner rings were arranged in the central 1-mm ETDRS ring (13 sensitivity points) and the 3 and 5° radius MAIA thresholds corresponded to the SI, NI, II and TI areas of the 3-mm parafoveal ETDRS ring (mean of 6 sensitivity points per area).

With the MAIA, we evaluated the following data: fixation loss, retinal sensitivity, macular integrity index, mean total threshold, fixation stability (p1 and p2, percentage of fixation points with respect to the total within circles with 1° and 2° radii, respectively, classified as stable (p1 > 75%), relatively unstable (p1 < 75% and p2 > 75%) or unstable (p2 < 75%)), bivariate contour ellipse area (BCEA) where the fixation points are contained, BCEA63 (minor ellipse) and BCEA95 (major ellipse).

All the eyes included in the study had foveal fixation that was checked manually. Fundoscopic images were extracted and subsequently imported into SS-OCT for analysis and comparison.

The studied variables were recorded in an Excel database (Microsoft® Office Excel 2011, Microsoft Corporation). Statistical analysis was performed with the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 24.0 Inc., IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

First, a descriptive statistical analysis of the sample was carried out according to the demographic variables and clinical characteristics, and the mean and standard deviation of the continuous quantitative descriptive variables were calculated, while for the qualitative variables, the absolute frequencies and the corresponding percentages were obtained.

The distribution of normality of all the variables was also assessed with the Kolmogorov–Smirnov test. As they did not conform to normality, the non-parametric Mann–Whitney U test was used for the two independent samples (DM1 group and control group) and Bonferroni correction for multiple comparison was applied considering statistical significant differences with a value of  $p < 0.05$ .

Finally, with the Spearman correlation test, we correlated the anatomical and functional data of the DM1 patients.

### 3. Results

A total of 132 eyes were analyzed, of which 51 belonged to 51 DM1 patients (46.2% women and 53.8% men) with an average disease evolution of  $25.88 \pm 8.42$  years and without DR signs, while 81 eyes corresponded to 81 healthy subjects (54% women and 46% men) without statistically significant differences between the gender ( $p = 0.371$ ). The eye of each participant studied was randomly chosen.

The mean age in healthy controls was  $42.41 \pm 13.24$  years (25 to 68) and the mean age in DM1 patients was  $41.52 \pm 13.21$  years (24 to 68), without differences between groups ( $p = 0.361$ ).

There were no differences ( $p > 0.05$ ) between groups in mean spherical equivalent (SE), axial length (AL), IOP or LogMAR VA (Table 1).

**Table 1.** Mean, standard deviation (SD) and statistical significance ( $p$ -value) of visual acuity (VA) in the LogMAR scale, spherical equivalent (SE) in diopters (D), axial length (AL) in mm and intraocular pressure (IOP) in mmHg between the control and type 1 diabetes mellitus (DM1) group. No statistical differences were found between groups ( $p > 0.05$ ).

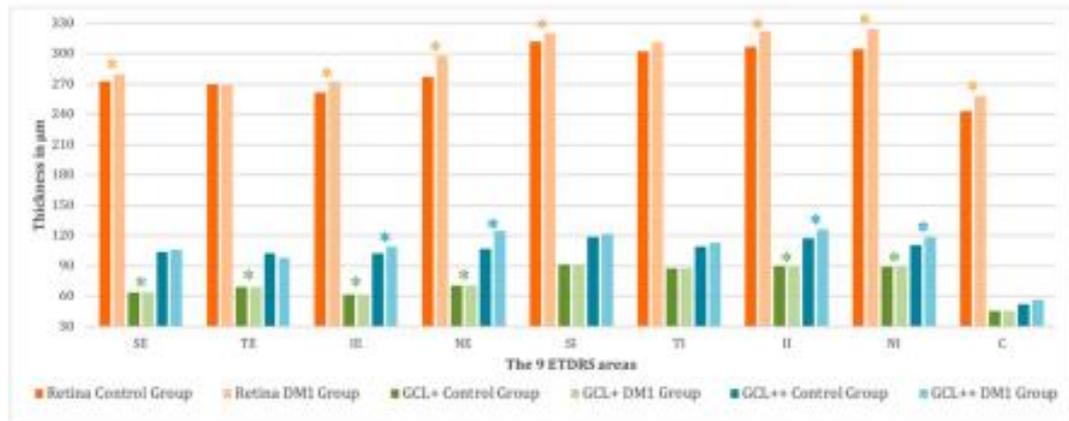
	Control Group		DM1 Group		$p$
	Mean	SD	Mean	SD	
VA (LogMAR)	−0.113	0.07	−0.130	0.01	0.910
SE	0.25	1.85	0.21	2.08	0.369
AL (mm)	23.61	2.14	23.37	1.16	0.297
IOP (mmHg)	16.85	2.47	16.59	3.00	0.150

#### 3.1. Comparative Analysis of the Retinal Thickness

We found differences between groups in the total retinal thickness measured by DRI-Triton OCT (Figure 3), except for the TE ( $270.06 \pm 22.36 \mu\text{m}$  vs.  $269.38 \pm 17.96 \mu\text{m}$ , control vs. DM1 group,  $p = 0.701$ ) and T1 area ( $302.56 \pm 23.97 \mu\text{m}$  vs.  $311.46 \pm 24.45 \mu\text{m}$ , control vs. DM1 group,  $p = 0.100$ ). DM1 patients had a higher retinal thickness than healthy controls in practically all ETDRS areas, with the exception of the TE area.

Analyzing the GCL+ (Figure 3), there were no differences between both groups in the SI area ( $91.38 \pm 8.52 \mu\text{m}$  vs.  $94.25 \pm 13.34 \mu\text{m}$ , control vs. DM1 group,  $p = 0.073$ ), T1 area ( $87.87 \pm 8.83 \mu\text{m}$  vs.  $89.94 \pm 13.58 \mu\text{m}$ , control vs. DM1 group,  $p = 0.231$ ) and the central area ( $45.54 \pm 14.03 \mu\text{m}$  vs.  $50.52 \pm 19.19 \mu\text{m}$ , control vs. DM1 group,  $p = 0.109$ ) that achieved significant differences in the total retinal thickness evaluation. We observed that the T1 area was maintained without differences between groups.

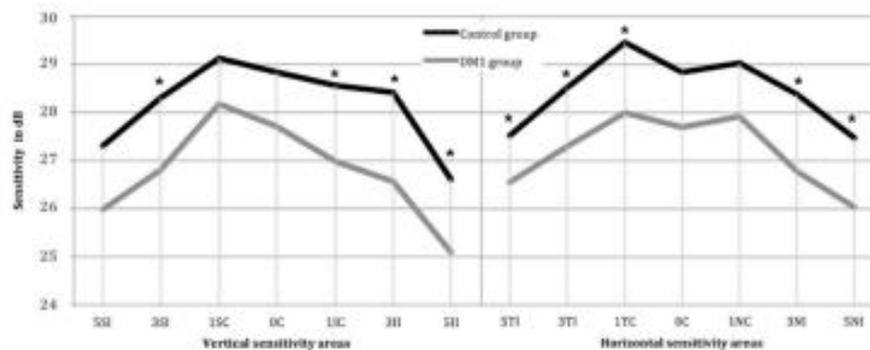
Evaluating the GCL++ (Figure 3), the areas that were different between groups decreased, showing differences only in the nasal and inferior areas (IE:  $102.11 \pm 10.62 \mu\text{m}$  vs.  $109.29 \pm 18.72 \mu\text{m}$ ,  $p = 0.028$ ; NE:  $106.92 \pm 16.90 \mu\text{m}$  vs.  $124.44 \pm 15.76 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.001$ ; II:  $117.45 \pm 11.87 \mu\text{m}$  vs.  $126.38 \pm 25.44 \mu\text{m}$ ,  $p = 0.019$  and NI:  $110.61 \pm 9.56 \mu\text{m}$  vs.  $118.98 \pm 17.10 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.001$  in the control vs. DM1 group). Furthermore, the thickest pattern continued in the DM1 group, except for the TE area ( $102.45 \pm 16.76 \mu\text{m}$  vs.  $97.75 \pm 12.12 \mu\text{m}$ , control vs. DM1 group,  $p = 0.142$ ).



**Figure 3.** Mean thickness of the total retina (from the ILM line to the BM line), GCL+ (from the RNFL line to the IPL line) and GCL++ (from the ILM line to the IPL line) in the 9 ETDRS areas obtained by the DRI-Triton OCT for the control and the DM1 groups. Statistically significant differences between groups ( $p < 0.05$ ) are marked with \*. The measures are divided into 9 ETDRS areas. SE, superior external; TE, temporal external; IE, inferior externa; NE, nasal external; SI, superior internal; TI, temporal internal; II, inferior internal; NI, nasal internal; and C, central. Thickness values are expressed as  $\mu\text{m}$ .

3.2. Comparative Analysis of Retinal Sensitivity

Analyzing the data obtained by the MAIA (Figure 4), we observed a generalized decrease in sensitivity in the DM1 group compared to the control group. In addition, there were 9 areas with differences between both groups ( $p < 0.05$ ): in the  $5^\circ$  radius, the areas were the II, TI and NI; in the  $3^\circ$  radius, the areas were the SI, II, TI and NI; and in the  $1^\circ$  radius, the areas were the SC and TC. The sensitivities of the different areas are shown in Figure 4.



**Figure 4.** Mean retinal sensitivity in dB measured by the MAIA microperimeter in the ETDRS areas corresponding to the 3-mm parafoveal ring divided into 2 subrings (mean of 3 points per area at  $5^\circ$  and  $3^\circ$ ) and the 1-mm central ring divided into 2 subrings (mean of 3 points per area at  $1^\circ$  and a central point): 5SI,  $5^\circ$  superior internal; 5TI,  $5^\circ$  temporal internal; 5II,  $5^\circ$  inferior internal; 5NI,  $5^\circ$  nasal internal; 3SI,  $3^\circ$  superior internal; 3TI,  $3^\circ$  temporal internal; 3II,  $3^\circ$  inferior internal; 3NI,  $3^\circ$  nasal internal; 1SC,  $1^\circ$  superior central; 1TC,  $1^\circ$  temporal central; 1IC,  $1^\circ$  inferior central; 1NC,  $1^\circ$  nasal central; and OC,  $0^\circ$  central. Statistically significant differences are at  $p < 0.05$  and are marked with \*.

The rest of the parameters obtained by the MAIA are represented in Table 2. We only found differences in two of the analyzed parameters: the average threshold ( $28.16 \pm 1.46$  dB vs.  $26.44 \pm 3.47$  dB, control vs. DM1 group,  $p = 0.005$ ) and the fixation losses ( $0.42 \pm 2.83\%$  vs.  $6.56 \pm 12.99\%$ , control vs. DM1 group,  $p = 0.013$ ).

**Table 2.** Mean and standard deviation (SD) of the rest of the parameters that the MAIA microperimeter offers for the control group and the DM1 group and a comparison between the values of both groups. The statistically significant values shown in bold and with an asterisk ( $p < 0.05$ ). BCEA, Bivariate contour ellipse angle. The macular integrity and average threshold are measured in dB, the BCEA angle is measured in degrees, the area is measured in square degrees and fixation losses, P1, P2 are reported in %.

	Control Group		DM1 Group		<i>p</i>
	MEAN	SD	MEAN	SD	
Macular integrity index	47.35	28.64	46.59	35.20	0.990
Average threshold (dB)	28.16	1.46	26.44	3.46	<b>0.005 *</b>
Fixation stability P1 (%)	86.47	18.22	87.44	14.67	0.982
Fixation stability P2 (%)	95.70	7.43	96.64	4.91	0.492
BCEA 63 area (° <sup>2</sup> )	6.47	9.87	4.73	7.21	0.833
BCEA 63 angle (°)	9.36	62.36	2.01	60.84	0.477
BCEA 95 area (° <sup>2</sup> )	6.42	9.85	4.70	7.31	0.817
BCEA 95 angle (°)	9.36	62.36	1.52	61.19	0.468
Fixation losses (%)	0.42	2.83	6.56	12.99	<b>0.013 *</b>

### 3.3. Anatomic-Functional Correlation Study

To correlate the structural and functional data obtained by DRI Triton SS-OCT and the MAIA, we used the Spearman test.

Regarding age, there was a significant negative correlation ( $p < 0.05$ ) with retinal sensitivity in all areas in DM1 patients and with VA in 2 areas of the 5° ring: 5SI (−0.356 with  $p = 0.011$ ) and 5II (−0.301 with  $p < 0.034$ ); and in 3 areas of the 3° ring: 3SI (−0.341 with  $p = 0.015$ ), 3TI (−0.369 with  $p = 0.008$ ) and 3II (−0.341 with  $p = 0.015$ ). There was no correlation between the sensitivity of the MAIA microperimeter and AL (Table 3).

**Table 3.** Spearman's correlation between the retinal sensitivity measured by the MAIA microperimeter in the 9 ETDRS areas and the different parameters of visual function and age for the DM1 group. Statistically significant difference between groups ( $p < 0.05$ ) are in bold. Correlation coefficient with  $p < 0.05$  have one asterisk and with  $p < 0.01$  have two asterisks. Nine ETDRS areas: SE, superior external; TE, temporal external; IE, inferior external; NE, nasal external; SI, superior internal; TI, temporal internal; II, inferior internal; NI, nasal internal; C-global, central; VA, visual acuity; SE, spherical equivalent; AL, axial length; and IOP, intraocular pressure.

	Retinal Sensitivity								
	5SI	5TI	5II	5NI	3SI	3TI	3II	3NI	0C
Age—correl coef.	−0.413 **	−0.369 **	−0.493 **	−0.354 *	−0.455 **	−0.398 **	−0.364 **	−0.410 **	−0.361 **
Sig.	0.003	0.008	<0.001	0.012	0.001	0.004	0.009	0.003	0.010
VA—correl coef.	−0.356 *	−0.256	−0.301 *	−0.263	−0.341 *	−0.369 **	−0.341 *	−0.207	−0.195
Sig.	0.011	0.073	0.034	0.065	0.015	0.008	0.015	0.149	0.175
SE—correl coef.	−0.336 *	−0.262	−0.286 *	−0.204	−0.412 **	−0.371 **	−0.290 *	−0.232	−0.317 *
Sig.	0.017	0.066	0.044	0.155	0.003	0.008	0.041	0.105	0.025
AL—correl coef.	0.002	−0.053	−0.081	−0.121	−0.057	0.024	−0.048	−0.037	0.018
Sig.	0.989	0.715	0.574	0.404	0.693	0.869	0.739	0.801	0.903
IOP—correl coef.	0.314 *	0.239	0.205	0.193	0.267	0.300 *	0.146	0.293 *	0.276
Sig.	0.027	0.095	0.154	0.179	0.061	0.034	0.312	0.039	0.052

Table 4 shows the correlation between the thickness values in the central circle of the ETDRS grid and the sensitivity values of the internal and central rings belonging to the DM1 group. We did not find any correlation.

The correlations between the thicknesses of the 3 protocols in the four parafoveal inner ETDRS areas (SI, TI, II and NI) with the measured thresholds of macular sensitivity in the 3 and 5° radii are also analyzed in Table 4. Only a mild negative correlation was observed in the GCL++ protocol between retinal sensitivity in the 5NI area and thickness in the TI area (−0.309 with  $p = 0.029$ ).

**Table 4.** Spearman's correlation between the total retina (from the ILM to the BM line), GCL+ (from the RNFL to the IPL line) and GCL++ (from the ILM to the IPL line) thickness values in the central circle obtained by DRI Triton SS-OCT and the retinal sensitivity values obtained by the MAIA microperimeter in DM1 patients. Then, Spearman's correlation between the parafoveal ETDRS areas (SI, TI, II and NI) of the total retina, GCL+ and GCL++ thickness layers measured by DRI Triton SS-OCT and the retinal sensitivity thresholds of the 3- and 5-degree radii measured by the MAIA microperimeter in the DM1 group. Statistically significant differences are in bold (sig.  $p < 0.05$ ). The 9 ETDRS areas are as follows: C global, central global ring; SE, superior external; TE, temporal external; IE, inferior external; NE, nasal external; SI, superior internal; TI, temporal internal; II, inferior internal; and NI, nasal internal; correl coef, correlation coefficient; sig, statistically significant.

	ETDRS C (Retina)		ETDRS C (GCL+)	ETDRS C (GCL++)
0C global—Correl coef	−0.180		−0.070	−0.134
Sig.	0.210		0.627	0.353
Retinal Sensitivity	ETDRS SI (Retina)	ETDRS TI (Retina)	ETDRS II (Retina)	ETDRS NI (Retina)
5SI—Correl coef	0.085	−0.037	−0.031	0.011
Sig.	0.559	0.798	0.833	0.939
5TI—Correl coef	0.138	−0.022	0.016	0.055
Sig.	0.340	0.882	0.912	0.705
5II—Correl coef	0.013	−0.109	−0.104	−0.066
Sig.	0.931	0.453	0.472	0.649
5NI—Correl coef	0.022	−0.111	−0.122	−0.087
Sig.	0.882	0.443	0.398	0.550
3SI—Correl coef	0.087	−0.069	−0.067	−0.012
Sig.	0.546	0.634	0.643	0.934
3TI—Correl coef	0.131	−0.054	−0.010	0.051
Sig.	0.363	0.711	0.947	0.724
3II—Correl coef	0.105	−0.037	−0.031	−0.005
Sig.	0.470	0.800	0.829	0.970
3NI—Correl coef	0.026	0.024	−0.089	−0.060
Sig.	0.855	0.870	0.539	0.680
Retinal Sensitivity	ETDRS SI (GCL+)	ETDRS TI (GCL+)	ETDRS II (GCL+)	ETDRS NI (GCL+)
5SI—Correl coef	−0.002	0.051	−0.045	−0.082
Sig.	0.988	0.723	0.754	0.574
5TI—Correl coef	0.007	0.020	0.003	−0.048
Sig.	0.963	0.891	0.983	0.741
5II—Correl coef	−0.087	−0.052	−0.129	−0.148
Sig.	0.549	0.721	0.371	0.305
5NI—Correl coef	−0.122	−0.107	−0.184	−0.211
Sig.	0.399	0.459	0.201	0.140
3SI—Correl coef	−0.046	−0.031	−0.113	−0.107
Sig.	0.752	0.832	0.434	0.460
3TI—Correl coef	0.050	0.044	−0.037	−0.018
Sig.	0.729	0.760	0.801	0.901
3II—Correl coef	−0.038	−0.014	−0.087	−0.134
Sig.	0.794	0.922	0.550	0.352
3NI—Correl coef	−0.032	−0.053	−0.109	−0.142
Sig.	0.828	0.713	0.451	0.327
Retinal Sensitivity	ETDRS SI (GCL++)	ETDRS TI (GCL++)	ETDRS II (GCL++)	ETDRS NI (GCL++)

Table 4. Cont.

	ETDRS C (Retina)		ETDRS C (GCL+)	ETDRS C (GCL++)
5SI—Correl coef	0.041	−0.104	−0.065	−0.132
Sig.	0.777	0.473	0.654	0.359
5TI—Correl coef	0.075	−0.102	−0.003	−0.055
Sig.	0.604	0.482	0.986	0.702
5II—Correl coef	−0.033	−0.258	−0.139	−0.201
Sig.	0.820	0.070	0.337	0.162
5NI—Correl coef	−0.062	−0.309	−0.208	−0.264
Sig.	0.670	<b>0.029</b>	0.148	0.064
3SI—Correl coef	0.026	−0.171	−0.105	−0.126
Sig.	0.855	0.234	0.467	0.383
3TI—Correl coef	0.119	−0.102	−0.017	−0.032
Sig.	0.412	0.480	0.907	0.823
3II—Correl coef	0.038	−0.163	−0.087	−0.156
Sig.	0.795	0.258	0.548	0.280
3NI—Correl coef	0.023	−0.232	−0.123	−0.184
Sig.	0.872	0.104	0.396	0.202

#### 4. Discussion

In this study, we found higher macular thicknesses in the DM1 group. It could reflect changes in the blood–retinal barrier, allowing fluid to enter the extravascular space, thereby leading to retinal thickening in the macular area. Other possibilities that have been described include modifications in Müller cells or an increase in the height of RPE cells [11,25].

The GCL+ and GCL++ (Figure 3) showed increased thickness at the macular level in DM1 patients. The GC bodies were at the inner ring, and their axons were mainly located at the perifoveal ring, justifying the foveal morphology. The loss of GCs due to apoptosis and the neurodegeneration suffered by DM1 patients without DR suggests a functional dysfunction manifested by the decreased VA with low contrast demonstrated in other studies [4,6,14,26]. We correlated microperimetry values with the corresponding areas in the ETDRS grid although there is no exact location of the respective fields. We did not consider the displacement of the GCs from their respective fields due to the variability between subjects [27].

The GCL decrease was also reflected in the control group related with aging; this has already been demonstrated by other authors [26]. In the absence of differences between the mean ages of both groups, our findings are accounted for by the disease.

We found a generalized decrease in sensitivity in all quadrants in the DM1 group compared to the control group (Figure 4), including differences ( $p < 0.05$ ) between groups in 3 out of the 4 quadrants in the 5° ring, in all 4 quadrants of the 3° ring and in 2 out of the 4 quadrants of the 1° ring. Significant differences were seen in the 3 rings in the temporal and inferior quadrants. A negative correlation was also seen between all sensitivity areas and patient age. Other studies have described the same phenomenon: decreased sensitivity was greater according to the earlier age at which they were found, and the severity of DR progressed [28,29].

Regarding the patient fixation values (location and stability) obtained with the MAIA, they were strongly associated with the patient's visual function [28]. In Table 2, the fixation stability is similar between groups, showing that the macular sensitivity and the VA were not impaired. However, in DM1 patients, we observed a decreased macular integrity without differences compared to the control group. However, there were differences ( $p = 0.005$ ) between groups in the average threshold, with lower values in the DM1 group probably related to the slight decrease in VA in this group. The fixation was also affected, with more fixation loss in DM1 patients (6.56%) than in the control group (0.42%) ( $p = 0.013$ ).

In the anatomo-functional study, we found a negative correlation between VA and retinal sensitivity (Table 3) since good VA depends on correct retinal neuron function [30].

We found a decrease in GCs in the DMI group; however, we cannot account for the loss of VA.

We also showed a negative correlation in the central ring between the retinal thickness and the retinal sensitivity (Table 4). These retinal changes are related to diminished retinal sensitivity [29] but were not significant for any of the three retinal studied layers. Furthermore, there was no decrease in retinal sensitivity in these patients.

Finally, only a significant negative correlation for the DMI group was present (Table 4) in the GCL++ between the retinal sensitivity in the 5NI area and thickness in the TI area ( $-0.309$  with  $p = 0.029$ ). We did not find any other correlation between thickness and the macular sensitivity in the DMI group. In general, we observed that the thickness changes in the different retinal layers caused a greater decrease in sensitivity in the temporal, inferior and nasal quadrants of the parafoveal ring.

All these results helped us to clarify the doubt about which of the mechanisms is the first one that triggers DR and whether it is a microvascular or neurodegenerative damage mechanism. Sensitivity changes without anatomical findings on structural OCT suggest that the second hypothesis is the most plausible option, as already postulated other studies [2–12,15–18].

Microperimetry is an excellent functional test complementary to VA and the retinal thickness measured with OCT. Thanks to the combination of these newly developed technologies, we can detect any type of retinal damage prior to the onset of DR, and we are able to treat affected patients before possibly irreversible complications have occurred.

## 5. Conclusions

In conclusion, aging and disease evolution in DMI patients without DR signs generate a decrease in retinal sensitivity. There was a direct relationship between retinal sensitivity and macular thickness in the DMI group.

**Author Contributions:** I.P. and J.A. designed the research. E.O.-H., J.O.-R. and A.B.-M. recruited the control and diabetic subjects and performed the experiments. A.S.-C. and E.O.-H. did the statistical calculations, made tables and critically reviewed the manuscript. L.P. critically reviewed the manuscript for important intellectual content. A.S.-C. and E.O.-H. reviewed the microperimeter data and the SS-OCT images. I.P. did the eye fundus examinations. I.P., J.O.-R. and E.O.-H. wrote the manuscript. The corresponding author attests that all listed authors meet authorship criteria and that no others meeting the criteria have been omitted. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** Publication of this article was supported by the General Council of Aragon (Diputación General de Aragón) Group B08\_7R, the Health Research Fund Instituto de Salud Carlos III (Fondo de Investigación Sanitaria, Spanish Ministry of Health) PI13/01124, and RETICS-Oftared RD16/0008 and Menarini Laboratories.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee for Clinical Research of Aragon (CEICA 18/2017).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available within the article.

**Acknowledgments:** The authors thank the patients in this study and colleges contribution.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

## References

1. Ciulla, T.A.; Amador, A.G.; Zinman, B. Diabetic retinopathy and diabetic macular edema: Pathophysiology, screening, and novel therapies. *Diabetes Care* **2003**, *26*, 2653–2664. [\[CrossRef\]](#)
2. Wolter, J.R. Diabetic retinopathy. *Am. J. Ophthalmol.* **1961**, *51*, 1123–1141. [\[CrossRef\]](#)
3. Bloodworth, J.M. Diabetic retinopathy. *Diabetes* **1962**, *11*, 1–22.
4. Dosso, A.A.; Borvin, E.R.; Morel, Y.; Golay, A.; Assal, J.P.; Leuenberger, P.M. Risk factors associated with contrast sensitivity loss in diabetic patients. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **1996**, *234*, 300–305. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Scanlon, P.H.; Foy, C.; Chen, F.K. Visual acuity measurement and ocular co-morbidity in diabetic retinopathy screening. *Br. J. Ophthalmol.* **2008**, *92*, 775–778. [\[CrossRef\]](#)
6. Santos, A.R.; Ribeiro, L.; Bandello, F.; Lattanzio, R.; Egan, C.; Frydkjaer-Olsen, U.; Garcia-Arumi, J.; Gibson, J.; Grauslund, J.; Harding, S.P.; et al. Functional and Structural Findings of Neurodegeneration in Early Stages of Diabetic Retinopathy: Cross-sectional Analyses of Baseline Data of the EUROCONDOR Project. *Diabetes* **2017**, *66*, 2503–2510. [\[CrossRef\]](#)
7. Zhu, T.; Ma, J.; Li, Y.; Zhang, Z. Association between retinal neuronal degeneration and visual function impairment in type 2 diabetic patients without diabetic retinopathy. *Sci. China Life Sci.* **2015**, *58*, 550–555. [\[CrossRef\]](#)
8. Montesano, G.; Gervasoni, A.; Ferri, P.; Allegrini, D.; Migliavacca, L.; De Cilla, S.; Rossetti, L. Structure-function relationship in early diabetic retinopathy: A spatial correlation analysis with OCT and microperimetry. *Eye* **2017**, *31*, 931–939. [\[CrossRef\]](#)
9. Pinilla, I.; Sanchez-Cano, A.; Ferreras, A.; Acha, J.; Pérez-García, D.; Ibañez-Alperete, J.; Abecia, E. Retinal Sensitivity in Patients with Type 1 Diabetes without Retinopathy or with Minor Retinal Changes. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **2016**, *124*, 613–617. [\[CrossRef\]](#)
10. Pinilla, I.; Ferreras, A.; Idoipe, M.; Sanchez-Cano, A.I.; Perez-Garcia, D.; Herrera, L.X.; Pinilla, M.J.; Abecia, E. Changes in frequency-doubling perimetry in patients with type 1 diabetes prior to retinopathy. *Biomol. Res. Int.* **2013**, *2013*, 341269. [\[CrossRef\]](#)
11. Pinilla, I.; Idoipe, M.; Perdices, L.; Sanchez-Cano, A.; Acha, J.; Lopez-Galvez, M.I.; Cuenca, N.; Abecia, E.; Orduna-Hospita, E. Changes in Total and Inner Retinal Thicknesses in Type 1 Diabetes With No Retinopathy After 8 Years of Follow-Up. *Retina* **2020**, *40*, 1379–1386. [\[CrossRef\]](#)
12. Tavares Ferreira, J.; Alves, M.; Dias-Santos, A.; Costa, L.; Santos, B.O.; Cunha, J.P.; Papoila, A.L.; Pinto, L.A. Retinal Neurodegeneration in Diabetic Patients Without Diabetic Retinopathy. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, 6455–6460. [\[CrossRef\]](#)
13. Abu-El-Asrar, A.M.; Dralands, L.; Missotten, L.; Al-Jadaan, I.A.; Geboes, K. Expression of apoptosis markers in the retinas of human subjects with diabetes. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2004**, *45*, 2760–2766. [\[CrossRef\]](#)
14. Leung, C.K.; Weirneb, R.N.; Li, Z.W.; Liu, S.; Lindsey, J.D.; Choi, N.; Liu, L.; Cheung, C.Y.; Ye, C.; Qiu, K.; et al. Long-term in vivo imaging and measurement of dendritic shrinkage of retinal ganglion cells. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2011**, *52*, 1539–1547. [\[CrossRef\]](#)
15. Cabrera DeBuc, D.; Somfai, G.M. Early detection of retinal thickness changes in diabetes using Optical Coherence Tomography. *Med. Sci. Monit.* **2010**, *16*, MT15–MT21.
16. Carpineto, P.; Toto, L.; Aloia, R.; Ciciarelli, V.; Borrelli, E.; Vitacolonna, E.; Di Nicola, M.; Di Antonio, L.; Mastropasqua, R. Neuroretinal alterations in the early stages of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eye* **2016**, *30*, 673–679. [\[CrossRef\]](#)
17. Chihara, E.; Matsuoka, T.; Ogura, Y.; Matsumura, M. Retinal nerve fiber layer defect as an early manifestation of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* **1993**, *100*, 1147–1151. [\[CrossRef\]](#)
18. Bronson-Castain, K.W.; Bearnse, M.A.; Neuville, J.; Jonasdottir, S.; King-Hooper, B.; Barez, S.; Schneck, M.E.; Adams, A.J. Early neural and vascular changes in the adolescent type 1 and type 2 diabetic retina. *Retina* **2012**, *32*, 92–102. [\[CrossRef\]](#)
19. De Benedetto, U.; Querques, G.; Lattanzio, R.; Borrelli, E.; Triolo, G.; Maestranzi, G.; Calori, G.; Querques, L.; Bandello, F. Macular dysfunction is common in both type 1 and type 2 diabetic patients without macular edema. *Retina* **2014**, *34*, 2171–2177. [\[CrossRef\]](#)
20. Verma, A.; Rani, P.K.; Raman, R.; Pal, S.S.; Laxmi, G.; Gupta, M.; Sahu, C.; Vaitheeswaran, K.; Sharma, T. Is neuronal dysfunction an early sign of diabetic retinopathy? Microperimetry and spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) study in individuals with diabetes, but no diabetic retinopathy. *Eye* **2009**, *23*, 1824–1830. [\[CrossRef\]](#)
21. Michalewska, Z.; Michalewski, J.; Nawrocki, J. New OCT technologies take imaging deeper and wider. *Retin. Physician* **2013**, *10*, 42–48.
22. Pérez Del Palomar, A.; Cegoñino, J.; Montolio, A.; Orduna, E.; Vilades, E.; Sebastián, B.; Pablo, L.E.; Garcia-Martin, E. Sweep source optical coherence tomography to early detect multiple sclerosis disease. The use of machine learning techniques. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0216410. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Arch. Ophthalmol.* **1985**, *103*, 1796–1806. [\[CrossRef\]](#)
24. Markowitz, S.N.; Reyes, S.V. Microperimetry and clinical practice: An evidence-based review. *Can. J. Ophthalmol.* **2013**, *48*, 350–357. [\[CrossRef\]](#)
25. Barber, A.J. A new view of diabetic retinopathy: A neurodegenerative disease of the eye. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2003**, *27*, 283–290. [\[CrossRef\]](#)
26. van Dijk, H.W.; Kok, P.H.; Garvin, M.; Sonka, M.; Devries, J.H.; Michels, R.P.; van Velthoven, M.E.; Schlingemann, R.O.; Verbraak, F.D.; Abramoff, M.D. Selective loss of inner retinal layer thickness in type 1 diabetic patients with minimal diabetic retinopathy. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2009**, *50*, 3404–3409. [\[CrossRef\]](#)
27. Drasdo, N.; Millican, C.L.; Katholi, C.R.; Curcio, C.A. The length of Henle fibers in the human retina and a model of ganglion receptive field density in the visual field. *Vis. Res.* **2007**, *47*, 2901–2911. [\[CrossRef\]](#)

- 
28. Midena, E.; Vujosevic, S. Microperimetry in diabetic retinopathy. *Saudi J. Ophthalmol.* **2011**, *25*, 131–135. [[CrossRef](#)]
  29. Vujosevic, S.; Midena, E.; Pilotto, E.; Radin, P.P.; Chiesa, L.; Cavarzeran, F. Diabetic Macular Edema: Correlation between Microperimetry and Optical Coherence Tomography Findings. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2006**, *47*, 3044–3051. [[CrossRef](#)]
  30. Lieth, E.; Gardner, T.W.; Barber, A.J.; Antonetti, D.A.; Penn State Retina Research Group. Retinal neurodegeneration: Early pathology in diabetes. *Clin. Exp. Ophthalmol.* **2000**, *28*, 3–8. [[CrossRef](#)]



## 5.2. ARTÍCULO 2: *Structural and functional findings in patients with moderate diabetic retinopathy*

Ana Boned-Murillo, María Dolores Diaz-Barreda, Antonio Ferreras, Isabel Bartolomé-Sesé, Elvira Orduna-Hospital, Paula Montes-Rodríguez, Javier Ascaso, Isabel Pinilla.

Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2021 Dec;259(12):3625-3635.

DOI: 10.1007/s00417-021-05277-y.

Factor de Impacto JCR 2021: 3,535

### Resumen

Objetivo: evaluar los cambios oculares estructurales y funcionales en pacientes con DM2 y RD moderada sin EMD aparente estudiando los espesores retinianos mediante OCT y la sensibilidad macular por microperimetría.

Métodos: estudio descriptivo transversal unicéntrico incluyendo 75 controles sanos y 48 pacientes con DM2 y RD moderada sin EMD. Se evaluaron con un examen oftalmológico completo que incluyó medición de LA, estudio del grosor macular mediante SS-OCT y de la sensibilidad retiniana mediante microperimetría MAIA.

Resultados: la edad media fue de 62,7±8,5 años el grupo control y 64,1±10,7 años en el grupo DM2 (p=0,38).

El grosor macular central fue similar en ambos grupos (242,17±35,0 μm en el grupo DM2 vs 260,64±73,9 μm en el grupo control). Hubo una disminución en el grosor del área parafoveal en el grupo DM2 en el GCC, a nivel de las áreas parafoveales de GCL+ y en el área IS de GCL++.

La sensibilidad de la retina se redujo en todos los sectores del grupo DM2. El valor global central fue 24,0 ±5,7 dB en el grupo DM2 y 27,31±2,7 dB en el grupo control (p<0,001). La integridad macular fue de 80,89±26,4 vs 64,70±28,3 (p<0,001) y el umbral medio total fue 23,90±4,9 vs 26,48±2,6 (p<0,001) en el grupo DM2 y control, respectivamente.

Se detectaron correlaciones moderadas entre el sector C de la microperimetría MAIA y el espesor central total de la retina ( $R=-0,347$ ;  $p=0,0035$ ). La edad, la AV y los niveles de HbA1c también se correlacionaron con la sensibilidad de la retina.

Conclusiones: existen alteraciones funcionales y anatómicas en pacientes con DM2 con RD moderada, lo que sugiere que la DM implica un deterioro de la sensibilidad retiniana y de las capas internas de la retina, aunque las lesiones vasculares sean moderadas.

La detección de la presencia de una ND retiniana central previa a la aparición del EMD brinda la posibilidad de un abordaje precoz y un mejor pronóstico.

### Abstract

Purpose: to evaluate structural and functional ocular changes in patients with type 2 diabetes mellitus (DM2) and moderate diabetic retinopathy (DR) without apparent diabetic macular edema (DME) assessed by optical coherence tomography (OCT) and microperimetry.

Methods: this was a single-center cross-sectional descriptive study for which 75 healthy controls and 48 DM2 patients with moderate DR were included after applying exclusion criteria (one eye per patient was included). All eyes underwent a complete ophthalmic examination (axial length, macular imaging with swept-source OCT, and MAIA microperimetry). Macular thicknesses, ganglion cell complex (GCC) thicknesses, and central retinal sensitivity were compared between groups, and the relationships between the OCT and microperimetry parameters were evaluated.

Results: macular thickness was similar in both groups ( $242.17\pm 35.0$   $\mu\text{m}$  in the DM2 group vs  $260.64\pm 73.9$   $\mu\text{m}$  in the control group). There was a diminution in the parafoveal area thickness in the DM2 group in the GCC complex. Retinal sensitivity was reduced in all sectors in the DM2 group. The central global value was  $24.01\pm 5.7$  dB in the DM2 group and  $27.31\pm 2.7$  dB in the control group ( $p<0.001$ ). Macular integrity was  $80.89\pm 26.4$  vs  $64.70\pm 28.3$  ( $p<0.001$ ) and total mean threshold was  $23.90\pm 4.9$  vs  $26.48\pm 2.6$  ( $p<0.001$ ) in the DM2 and control group, respectively. Moderate correlations were detected between the central sector of MAIA microperimetry and retina total central thickness ( $R=-0.347$ ;  $p=0,0035$ ). Age, visual acuity, and hemoglobin A1c levels also correlated with retinal sensitivity.

Conclusion: macular GCC thickness and central retinal sensitivity were reduced in patients with moderate DR without DME, suggesting the presence of macular neurodegeneration.

Graefé's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology (2021) 259:3625–3635  
<https://doi.org/10.1007/s00417-021-05277-y>

RETINAL DISORDERS



## Structural and functional findings in patients with moderate diabetic retinopathy

A. Boned-Murillo<sup>1,2,3</sup> · M. D. Díaz-Barreda<sup>1,2,3</sup> · A. Ferreras<sup>2,3,4</sup> · I. Bartolomé-Sesé<sup>1,2,3</sup> · E. Orduna-Hospital<sup>2,5</sup> · P. Montes-Rodríguez<sup>1</sup> · J. Ascaso<sup>1,2,3</sup> · Isabel Pinilla<sup>1,2,3</sup>

Received: 25 January 2021 / Revised: 3 June 2021 / Accepted: 8 June 2021 / Published online: 15 July 2021  
 © The Author(s) 2021, corrected publication 2021

### Abstract

**Purpose** To evaluate structural and functional ocular changes in patients with type 2 diabetes mellitus (DM2) and moderate diabetic retinopathy (DR) without apparent diabetic macular edema (DME) assessed by optical coherence tomography (OCT) and microperimetry.

**Methods** This was a single-center cross-sectional descriptive study for which 75 healthy controls and 48 DM2 patients with moderate DR were included after applying exclusion criteria (one eye per patient was included). All eyes underwent a complete ophthalmic examination (axial length, macular imaging with swept-source OCT, and MAIA microperimetry). Macular thicknesses, ganglion cell complex (GCC) thicknesses, and central retinal sensitivity were compared between groups, and the relationships between the OCT and microperimetry parameters were evaluated.

**Results** Macular thickness was similar in both groups ( $242.17 \pm 35.0$  in the DM2 group vs  $260.64 \pm 73.9$  in the control group). There was a diminution in the parafoveal area thickness in the DM2 group in the GCC complex. Retinal sensitivity was reduced in all sectors in the DM2 group. The central global value was  $24.01 \pm 5.7$  in the DM2 group and  $27.31 \pm 2.7$  in the control group ( $p < 0.001$ ). Macular integrity was  $80.89 \pm 26.4$  vs  $64.70 \pm 28.3$  ( $p < 0.001$ ) and total mean threshold was  $23.90 \pm 4.9$  vs  $26.48 \pm 2.6$  ( $p < 0.001$ ) in the DM2 and control group, respectively. Moderate correlations were detected between the central sector of MAIA microperimetry and retina total central thickness ( $-0.347$ ;  $p = 0.0035$ ). Age, visual acuity, and hemoglobin A1c levels also correlated with retinal sensitivity.

**Conclusion** Macular GCC thickness and central retinal sensitivity were reduced in patients with moderate DR without DME, suggesting the presence of macular neurodegeneration.

### Key messages

- Neurodegeneration may explain the visual loss and functional abnormalities that occur in the moderate stages of DR without important macular involvement.
- Macular GCC thickness and central retinal sensitivity were reduced in patients with moderate DR without DME.
- Analysis of the retinal layers and microperimetry offers an opportunity to detect neuronal damage secondary to DR, providing the possibility for early diagnosis and treatment.

**Keywords** Diabetic retinopathy · Microperimetry · Neurodegeneration · Swept-source OCT · Type 2 diabetes mellitus

Isabel Pinilla  
[isabel.pinilla@telefonica.net](mailto:isabel.pinilla@telefonica.net); [ipinilla@unizar.es](mailto:ipinilla@unizar.es)

Extended author information available on the last page of the article

## Introduction

Diabetes mellitus (DM) is one of the most prevalent diseases of the twenty-first century and has great socio-sanitary importance, with an expected incidence of over 500 million in 2030 [1]. Diabetic retinopathy (DR) is a frequent and disabling complication, and is considered the most common cause of blindness in the active population of developed countries; diabetic macular edema (DME) is the most frequent cause of decreased visual acuity (VA) and proliferative DR is responsible for the most severe visual deficits [2, 3]. Good medical treatment for DM is therefore essential [4].

Regarding the pathogenesis of DR, microvascular changes are considered the most likely cause of visual loss, due mainly to chronic hyperglycemia [5]. A current topic of great interest, however, is neurodegeneration secondary to apoptosis of retinal cells as a potential cause, leading to progressive neuronal loss with atrophy and degeneration of the inner nuclear layer (INL), and the inner plexiform layer (IPL) and ganglion cell complex (GCC; comprising the retinal nerve fiber layer [RNFL], ganglion cell layer, and IPL), which would explain the changes observed prior to the microvascular findings [6–9]. In fact, some findings, such as a significant decrease in peripheral retinal sensitivity as well as RNFL thinning, suggest that neuronal damage is more related to diabetic neuropathy than to vascular changes [10]. These changes would explain the visual loss and functional abnormalities that occur in the early stages of the disease, prior to the onset of DR [11, 12].

In clinical practice, ophthalmologists rely mainly on the VA and macular thickness values obtained by optical coherence tomography (OCT) to establish the need to treat patients with DME, without considering other retinal function variables. Diabetic patients with normal VA and a normal-appearing fundus, however, may have changes at the functional level that alter macular sensitivity and functionality. Microperimetry to evaluate retinal sensitivity represents a selective method for evaluating early neuroretinal damage in this pathology [8]. Microperimetry improvements can track eye movement and to compensate them, allowing to assess retinal sensitivities in specific points and precise locations. It provides numerous data about the retinal sensitivity and can find subtle changes. Its sensibility and specificity make the microperimetry one of the most widely used and reliable method to check macular function.

The aim of our study was to compare the retinal sensitivity and structural changes measured by OCT between healthy individuals and patients with type 2 diabetes (DM2) having moderate DR without evidence of DME.

## Methods

The study protocol adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki and approved by the Clinical Research Ethics Committee of the Hospital Clínico Universitario of Zaragoza and the Clinical Research Ethics Committee of Aragon (CEICA P119/252). All participants provided written informed consent after receiving an explanation of the study.

## Study design

We conducted a descriptive, single-center cross-sectional study, including 141 eyes of 141 participants. Group 1 comprised 66 DM2 patients with moderate DR (graded by retinal specialists with color retinographs according to the ETDRS classification) and Group 2 comprised 75 healthy subjects with no previous ocular disease. Only one eye per subject was randomly selected. Patients were prospectively and consecutively recruited from the outpatient clinic of the Hospital Clínico Universitario from October 2018 through June 2019, more than 1 year after moderate DR diagnosis, and with good or moderate metabolic control (hemoglobin A1c (HbA1c) levels < 8%). The diagnosis of DR was established by fundus examination and retinography evaluation, according to the Global Diabetic Retinopathy Project Group criteria [13]. Inclusion criteria for the DM2 group were patients with moderate DR without actual or previous DME and the absence of another retinal pathology that could compromise the best-corrected VA (BCVA). Exclusion criteria were amblyopia or VA less than 20/40 on the Snellen chart, refractive error more than 5 diopters (D) of spherical equivalent (SE) or 3D of astigmatism, intraocular pressure (IOP) higher than 20 mmHg, history of any ocular pathology affecting central vision, patients with previous intraocular surgery, laser photocoagulation or anti-VEGF treatment, patients with topical glaucoma therapy as well as glaucoma with perimetric involvement or papillary atrophy, or inability to perform good quality OCT or microperimetry exams (difficulty in the layer segmentation, media opacification, or lack of fixation or cooperation—a total amount of 18 eyes were excluded based on this criteria, resulting in final studied patients' number 48). The control group included healthy subjects older than 45 years of age recruited from among the hospital staff, family members, and other relatives of the research staff.

## Study protocol

All the exams were performed on the same day and in a standardized order. All participants underwent a complete

ophthalmological evaluation, including BCVA expressed in logarithm of the minimum resolution angle (logMAR) measured with ETDRS at 4 m, IOP measured by Goldmann tonometry, and axial length (AL) using an Aladdin KR-1 W Series optical biometry system (Topcon Corporation, Tokyo, Japan) as the mean of 5 measurements and expressed in millimeters. In addition to the ophthalmological evaluation, a complete history was performed in which all aspects related to the patient's disease (DM2) were evaluated, including current medication, time of evolution, HbA1c levels, lipid levels, glomerular filtration, and creatinine levels (the values were obtained within a period of less than 6 months of the examination).

Retinal thickness was evaluated using a swept-source OCT (SS-OCT), with the DRI-Triton SS-OCT (Topcon Corporation), and patient eyes were dilated prior to OCT imaging. For macular layer segmentation, we used the macular protocol (3D Macula H) and the IMAGENet 6 Version software 1.22.1.14101© 2014 (Topcon Corporation), which performs measurements on a 100-cell grid located in the macula, each cell comprising  $600 \times 600 \mu\text{m}$ , collecting the macular thickness in each area of the center and 8 quadrants of the ETDRS grid. The regional retinal thicknesses, including the fovea (1 mm, C); the parafoveal ring with 4 quadrants, inner temporal (IT), inner superior (IS), inner nasal (IN), and inner inferior (II); and 4 perifoveal quadrants, outer temporal (OT), outer superior (OS), outer nasal (ON), and outer inferior area (OI).

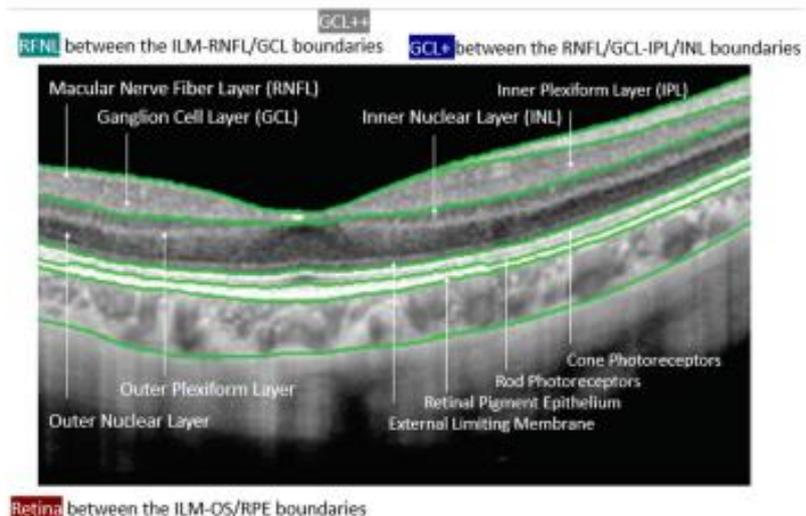
The DRI-Triton OCT performed automatic segmentation of the retinal layers, which was checked by a researcher performing a repositioning with "Grid, Reposition" function based on the reference retinal image if necessary. Three

protocols were considered: total retina thickness (from ILM to the boundary between the retinal pigment epithelium [RPE] and the photoreceptor layer [OS/RPE limit]), GCL+ protocol (from the internal boundary of the ganglion cell layer [GCL: line RNFL/GCL] up to the external limit of the IPL [the IPL/INL line]), and GCL++ protocol (from the internal limiting membrane to the IPL/INL line [GCC]) (Fig. 1). Thicknesses of the described ETDRS areas of each retinal protocol were analyzed.

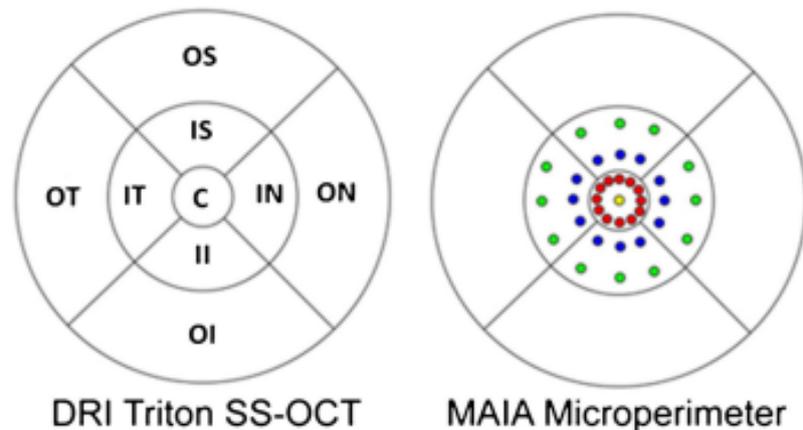
Finally, all patients were evaluated with third-generation microperimetry (Macular Integrity Assessment Device [MAIA]; Topcon Corporation). This device uses Goldmann III stimulation, projecting light stimuli directly onto the retinal surface with a size of 26 arc minutes and presented to the patient in different locations, attenuated in ranges from 0 to 36 dB. It also has a backlight of  $1.27 \text{ cd/m}^2$  (4 asb) and maximum luminance of  $318.47 \text{ cd/m}^2$  (1000 asb). A complete evaluation (expert) was carried out with a 4–2 complete threshold strategy, requiring a mean of 5.5 min, covering an area of  $10^\circ$  in diameter, including 37 measurement points, and thus obtaining an image composed of 3 radii of 12 points each and a foveal central point, all centered on the preferred retinal locus and with a radius of  $1^\circ$ ,  $3^\circ$ , and  $5^\circ$ , respectively.

To evaluate the relationship of the sensitivity parameters provided by the MAIA with the OCT retinal thickness data, the MAIA sensitivity points were divided into sectors similar to those provided by the ETDRS grid. Considering an emmetropic eye,  $1^\circ$  in MAIA is approximately equivalent to a circle with a radius of 0.3 mm;  $3^\circ$  to a circle with a radius of 0.9 mm, and  $5^\circ$  to a circle with a radius of 1.5 mm. According to the measurements provided by

**Fig. 1** OCT for showing the total retina (from ILM to the boundary between the retinal pigment epithelium [RPE] and the photoreceptor layer [OS/RPE limit]), GCL+ protocol (from the internal boundary of the ganglion cell layer [GCL: line RNFL/GCL] up to the external limit of the IPL [the IPL/INL line]), and GCL++ protocol (from the internal limiting membrane to the IPL/INL line [GCC]) used in the study



**Fig. 2** Grids of macular sectors for the DRI-Triton swept-source OCT (SS-OCT) and MAIA microperimeter for the 9 areas of the ETDRS grid (OS, outer superior; OT, outer temporal; OL, outer inferior; ON, outer nasal; IS, inner superior; IT, inner temporal; II, inner inferior; IN, inner nasal; C, central)

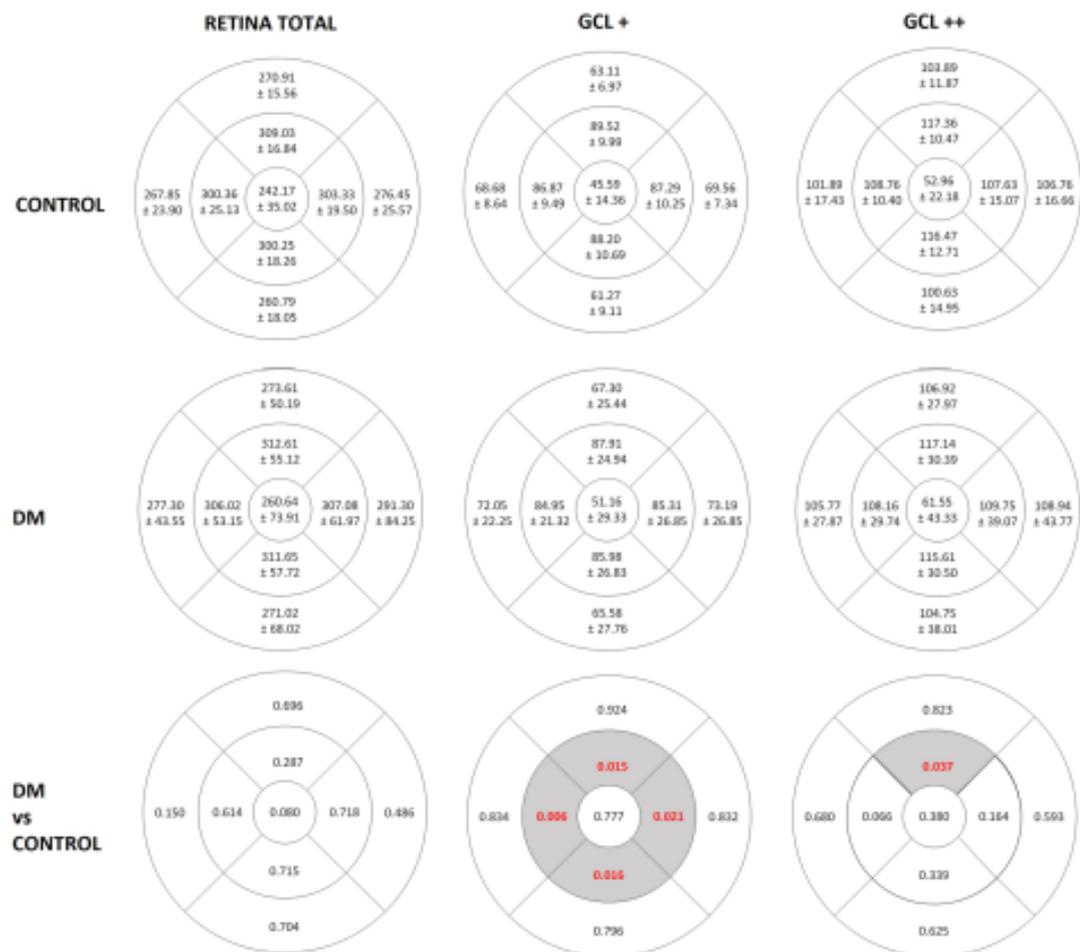


the ETDRS grid, [14] the center point and the sensitivity points of  $1^\circ$  (0.6 mm diameters) were included in the central ring of the ETDRS, and the sensitivity points were located at  $3^\circ$  and  $5^\circ$  (diameters of 1.8 and 3 mm, respectively) to the 3 mm circle of the ETDRS grid. Thus, the mean of the retinal sensitivity thresholds calculated for the central MAIA and internal ring was arranged in the central ring of the ETDRS and the thresholds of the  $3^\circ$  and  $5^\circ$  radii corresponded to the upper, nasal, lower, and temporal internal quadrants of the ETDRS parafoveal ring (mean of 6 sensitivity points/quadrant; Fig. 2). The following results were obtained: fixation loss, retinal sensitivity, macular integrity index (classifies the age-related sensitivity deterioration when compared with the patient's age adjusted normal values in normal if the loss is less than 40%, suspicious if the loss is between 40 and 60%, or as pathological (those due to AMD and other pathologies of

the central retina) whose loss is greater than 60%), mean total threshold, fixation stability (p1 and p2, percentage of fixation points with respect to the total that are within a circle of  $1^\circ$  and  $2^\circ$  of radius, respectively, classified as stable [p1 > 75%], relatively unstable [p1 < 75% and p2 > 75%], or unstable [p2 is < 75%]), and bivariate contour ellipse area (BCEA)63 and BCEA95 (analysis of the area of an ellipse that contains all the fixation points, comprising 63% [BCEA63 or minor ellipse] and 95% [BCEA95 or greater ellipse] of the fixation points). The location of the fixation was checked manually and if the fixation was not properly centered on the fovea, the eye was excluded from the study. The fundoscopic image used to record the position of the stimuli was exported, extracting the perimetric information in a file that was subsequently imported to the SS-OCT for later analysis and comparison. Once the data were collected, the results were exported and transformed

**Table 1** Clinical characteristics of the DM2 and control groups. Values are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD), and minimum–maximum values in brackets. The differences that reached statistical significance are shown in bold ( $p < 0.004$ ). DM, diabetes mellitus; BCVA, best-corrected visual acuity; SE, spherical equivalent; AL, axial length; IOP, intraocular pressure; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; TG, triglycerides; GFR (CKD-EPI), glomerular filtrate rate (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration)

	DM2 Mean $\pm$ SD	Control Mean $\pm$ SD	p
BCVA (logMAR)	0.11 $\pm$ 0.16 (0.00 to 1.00)	0.06 $\pm$ 0.08 (0.00 to 0.30)	0.059
SE (D)	0.43 $\pm$ 2.13 (– 5.25 to 5.75)	0.65 $\pm$ 2.09 (– 9.25 to 4.62)	0.351
AL (mm)	23.35 $\pm$ 1.01 (22.04 to 26.89)	23.58 $\pm$ 1.01 (22.01 to 27.74)	0.073
IOP (mmHg)	14.53 $\pm$ 2.63 (10 to 20)	13.15 $\pm$ 2.44 (8 to 19)	<b>0.002</b>
Years of DM evolution	3.30 $\pm$ 3.38 (0 to 11)		
HbA1c values (%)	7.80 $\pm$ 1.37 (5.30 to 7.7)		
Total cholesterol (mg/dL)	150.67 $\pm$ 30.65 (101.0 to 244.0)		
HDL cholesterol (mg/dL)	46.79 $\pm$ 13.65 (29.0 to 78.0)		
LDL cholesterol (mg/dL)	81.03 $\pm$ 55.77 (32.2 to 490.0)		
TG (mg/dL)	146.80 $\pm$ 99.14 (61.0 to 626.0)		
GFR (CKD-EPI) (mL/min/1.73)	70.70 $\pm$ 19.16 (28.53 to 90.0)		
Creatinine (mg/dL)	1.05 $\pm$ 0.39 (0.58 to 2.06)		



**Fig. 3** Mean and standard deviation (SD) of the thicknesses (in micrometers,  $\mu\text{m}$ ) (first and second row) and p-values (last row) of the total retina layers, GCL+ and GCL++ protocols measured by the SS-OCT DRI-Triton in patients with DM2 and in healthy con-

trols (significant values are highlighted in a different color). OS, outer superior; OT, outer temporal; OI, outer inferior; ON, outer nasal; IS, inner superior; IT, inner temporal; II, inner inferior; IN, inner nasal; C, central; RNFL, retinal nerve fiber layer

to be included in an Excel database (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

**Statistical analysis**

For this study, all the variables were collected in spreadsheets in the Excel 2016 program and the information was subsequently imported into the Statistical Package for Social Sciences software (SPSS 20, SPSS Inc., IBM Corporation, Armonk, NY, USA) for statistical analysis. The results are expressed as mean and standard deviation for the quantitative variables, and as the number of cases and percentage

for the qualitative variables. The Kolmogorov–Smirnov test was performed, verifying that the variables did not follow a normalized distribution. Thus, non-parametric tests were used for the analysis.

First, a descriptive analysis of the sample was carried out according to demographic variables and clinical characteristics. Second, to determine differences in the parameters between the control group and the DM2 group, the Mann–Whitney U test was used for independent samples. Correlations between anatomical and functional variables were also calculated by the Spearman correlation test. The Bonferroni correction for multiple comparisons was applied,

**Table 2** Mean and standard deviation (SD) of the retinal sensitivity measured by MAIA microperimetry in diabetes mellitus 2 (DM2) patients and in healthy controls. Values are provided for the 9 areas of the ETDRS grid (OS, outer superior; OT, outer temporal; OI, outer inferior; ON, outer nasal; IS, inner superior; IT, inner temporal; II, inner inferior; IN, inner nasal; C, central), which is subdivided into CS, central superior; CT, central temporal; CI, central inferior; CN, central nasal; C global, central global). The values that reached statistically significant differences ( $p < 0.004$ ) are shown in bold print

Retinal sensitivity (dB)			
	DM2 Media ± SD	Control Media ± SD	p
OS	23.98 ± 5.06	25.48 ± 3.04	<b>0.016</b>
OT	24.40 ± 6.27	25.97 ± 2.85	0.001
OI	22.20 ± 6.59	24.75 ± 3.64	0.002
ON	23.50 ± 5.82	26.09 ± 2.56	<0.001
IS	24.39 ± 4.70	26.75 ± 2.55	<0.001
IT	24.39 ± 5.60	27.10 ± 2.32	<0.001
II	23.43 ± 6.88	26.77 ± 5.86	0.001
IN	24.44 ± 5.34	26.78 ± 2.71	0.001
C	23.62 ± 4.71	25.52 ± 3.37	<b>0.005</b>
CS	24.02 ± 6.03	27.73 ± 2.58	<0.001
CT	24.28 ± 6.01	27.81 ± 2.64	<0.001
CI	23.39 ± 6.58	26.79 ± 3.34	<0.001
CN	24.48 ± 6.37	27.25 ± 3.00	<b>0.003</b>
C global	24.01 ± 5.74	27.31 ± 2.70	<0.001

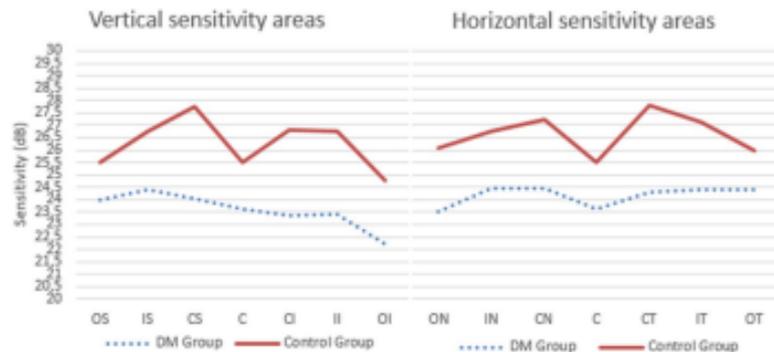
resulting in a significance level of  $p < 0.004$ . A regression analysis was performed looking for the most relevant predictors of the global retinal sensitivity in DR patients.

**Results**

**Clinical characteristics**

Mean (SD) age was 62.7 (8.5) years (50 to 83 years) in the control group and 64.1 (10.7) years (42 to 84 years) in the DM2 group ( $p = 0.38$ ). Table 1 shows the clinical

**Fig. 4** Mean retinal sensitivity in dB measured by the MAIA microperimeter for the 9 areas of the ETDRS grid (OS, outer superior; OT, outer temporal; OI, outer lower; ON, outer nasal; IS, inner superior; IT, inner temporal; II, inner inferior; IN, inner nasal; and C, central), which is then subdivided into CS: central superior, CT: central temporal, CI: central inferior, and CN: central nasal). All the values were significantly different between groups ( $p < 0.004$ )



characteristics of the sample. BCVA, SE, and AL were similar between groups; BCVA was slightly lower in the DM2 group without achieving statistical differences. IOP values were higher in the DM2 group.

**Retinal thickness study (OCT): comparative analysis between the control and DM2 groups**

Macular thickness was similar in both groups (Fig. 3). Mean (SD) central macular thickness was  $242.17 \pm 35.0$  in the DM2 group and  $260.64 \pm 73.9$  in the control group. When assessed with the GCL+ protocol, the thickness was reduced in the DM2 group compared with the control group in all the parafoveal areas, including the IS ( $p = 0.015$ ), IT ( $p = 0.006$ ), II ( $p = 0.016$ ), and IN ( $p = 0.021$ ) areas. With the GCL+ + analysis, only the IS area was decreased in the DM2 group compared with healthy individuals ( $p = 0.037$ ).

**Retinal sensitivity using MAIA**

MAIA microperimetry revealed lower retinal sensitivities in the DM2 group (Table 2, Fig. 4). The C global value (mean [SD] value of the central area and the inner ring) was  $24.01 \pm 5.7$  in the DM2 group and  $27.31 \pm 2.7$  in the control group ( $p < 0.001$ ). The macular integrity ( $80.89 \pm 26.4$  vs  $64.70 \pm 28.3$ ;  $p < 0.001$ ) and total mean threshold ( $23.90 \pm 4.9$  vs  $26.48 \pm 2.6$ ;  $p < 0.001$ ) differed between the DM2 and the control groups, respectively (Table 3).

**Regression analysis**

The results (B coefficient (95%CI)) revealed that the most relevant predictors of global retinal sensitivity in DM patients were SE sensitivity (0.093 [0.032];  $p = 0.005$ ), IE (0.173 [0.037];  $p < 0.001$ ), CS (0.154 [0.032];  $p < 0.001$ ), CT (0.148 [0.031];  $p < 0.001$ ), and CI (0.135 [0.029];  $p = 0.002$ ).

**Table 3** Mean and standard deviation (SD) of the sensitivity of the variables measured by MAIA microperimetry in patients with diabetes mellitus (DM2) and in healthy controls and their comparison. BCEA, bivariate contour ellipse area. The values that reached statistical significance appear in bold print ( $p < 0.004$ )

	Retinal sensitivity (dB)		p
	DM2	Control	
	Media $\pm$ SD	Media $\pm$ SD	
Macular integrity	80.89 $\pm$ 26.38	64.70 $\pm$ 28.31	<b>&lt; 0.001</b>
Average threshold	23.90 $\pm$ 4.87	26.48 $\pm$ 2.55	<b>&lt; 0.001</b>
Fixation stability P1	75.38 $\pm$ 28.52	83.27 $\pm$ 18.14	0.535
Fixation stability P2	86.74 $\pm$ 22.11	94.89 $\pm$ 7.27	0.118
BCEA 63 angle	6.97 $\pm$ 52.71	3.31 $\pm$ 61.16	0.939
BCEA 95 area	17.92 $\pm$ 32.13	10.02	0.270
BCEA 95 angle	3.57 $\pm$ 51.91	61.16 $\pm$ 45.22	0.790
Fixation losses (%)	8.98 $\pm$ 18.79	12.28 $\pm$ 20.31	0.529

### Correlation between the functional and anatomical values

Correlations for the clinical data and the functional and anatomical outcomes are shown in Table 4. Age, BCVA, and HbA1c had mild to moderate correlations with the OS area of retinal sensitivity measured by microperimetry. BCVA correlated moderately with all the retinal sensitivity parameters assessed by microperimetry.

Central macular thickness (OCT) and retinal sensitivity of the inner ring (MAIA) were moderately correlated ( $r = -0.347$ ;  $p = 0.0035$ ) (Table 5). No significant correlations were observed between retinal sensitivity of internal and external quadrants measured by MAIA microperimetry and retinal thickness of the internal ring measured by SS-OCT in patients with type 2 diabetes.

### Discussion

Our results suggested functional deterioration at the macular level in patients with DR without DME. Although some investigators have argued that retinal neurodegeneration is only a manifestation of diabetic polyneuropathy, other researchers [9] consider that signs of retinal neurodegeneration are observed prior to microvascular alterations, as described by Simó et al. [15]. Our group has already described anatomical and functional alteration prior to the appearance of DR. In the present study, we were looking for these neurodegeneration signs in patients with already developed DR but with not comprised macular function by DME. The link between the processes, however, remains unknown. In addition to vascular alterations, multiple early changes in the neuroretina of DM patients have been observed [19].

These structural changes have been preferentially demonstrated in patients with evidence of microvascular lesions and reduction of the GCL and RNFL thickness, [16–18] as well as in other studies of DM patients without signs of DR or with minimal alterations but with structural findings suggesting neurodegeneration. In our study, the mean (SD) BCVA in the DM2 group with moderate DR and no DME was good (0.11 [0.2] logMAR), with better values for the control group but no significant difference between them ( $p = 0.06$ ), indicating well-preserved visual function in terms of VA.

Regarding macular thickness, we detected no differences between groups in any of the quadrants of the ETDRS. The fovea (ETDRS C) had the lowest thickness in both groups (242.17 [35.02]  $\mu\text{m}$  in the DM2 group and 260.64 [73.91]  $\mu\text{m}$  in the control group) and the thinnest sector was the outer inferior (260.79 [18.05]  $\mu\text{m}$  in the DM2 group and 271.02 [68.06]  $\mu\text{m}$  in the control group). As reported, the inner macular areas had greater thicknesses than the outer macular areas, the nasal greater than the temporal, and the superior greater than the inferior [19]. Analysis of retinal thickness in patients with DR compared to healthy patients reveals wide variability in the results due to changes related to the disease evolution and the absence of a uniform pattern or behavior [20–23]. The thickness decreases due to the loss of neural tissue, although it could increase due to vascular permeability and inflammation, thus counteracting the effect of neurodegeneration on macular thickness, as Sugimoto et al. [24] suggested. But increased macular thickness is not sufficient to rule out the existence of an associated neurodegenerative process [25]. Macular thickness cannot be considered the only parameter for evaluating early changes in the retina of DM2 patients, because is not sensitive enough to detect changes in the microstructure of the retinal layers.

In our study, the inner sectors of the GCL + (GCL + IPL complex) showed thinning in the DM2 group with differences between groups (IS,  $p = 0.015$ ; IT,  $p = 0.006$ ; II,  $p = 0.016$ ; and IN,  $p = 0.021$ ), which is consistent with the results published by Bandello et al. [26]. Other investigators, such as Ng et al., [27] Scarinci et al., [28] and Gundogan et al. [29] considered that measurement of the GCL is preferable to that of the RNFL for quantifying the loss of ganglion cells, because the ganglion cell bodies have a diameter 10–20 times larger than that of their axons that form the RNFL and have different metabolic needs, which could produce different results despite the same damage [26, 27]. In the Chhablani et al. [30] study, the mean RNFL thickness in the macula did not differ significantly between a control group and 3 types of diabetic patients (with no DR, with non-proliferative DR, and with proliferative DR), whereas the GCL-IPL complex was significantly thinner in all patients with diabetes, including those without DR.

**Table 4** Correlations between retinal sensitivity measured by MAMA microperimetry and clinical variables in DM12 patients. *MP OS*, microperimetry outer superior; *OT*, microperimetry outer temporal; *OI*, microperimetry outer inferior; *ON*, microperimetry outer nasal; *IS*, microperimetry inner superior; *IT*, microperimetry inner temporal; *II*, microperimetry inner inferior; *IN*, microperimetry inner nasal; *MP C global*, microperimetry central global; *DR*, diabetic retinopathy; *HDL*, high-density lipoprotein; *LDL*, low-density lipoprotein; *TG*, triglycerides; *GFR (CKD-EPI)*, glomerular filtration rate (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration); *BCVA*, best-corrected visual acuity; *SE*, spherical equivalent; *AL*, axial length; *IOP*, intraocular pressure. The values that reached statistical significance are shown in bold print ( $p < 0.004$ )

	MP OS		MP OT		MP OI		MP ON		MP IS		MP IT		MP II		MP IN		MPC global	
	dB	p	dB	p	dB	p	dB	p	dB	p								
Age	-0.323	0.009	<b>-0.411</b>	0.001	<b>-0.403</b>	0.001	-0.321	0.009	<b>-0.373</b>	0.002	-0.242	0.054	-0.298	0.017	-0.282	0.024	-0.266	0.033
Time evolution	0.021	0.869	0.064	0.610	0.097	0.442	-0.146	0.246	-0.048	0.709	0.023	0.859	-0.041	0.747	-0.072	0.574	0.009	0.942
DR	-0.205	0.101	-0.157	0.211	-0.208	0.097	<b>-0.260</b>	0.036	-0.228	0.070	-0.132	0.299	<b>-0.265</b>	0.035	-0.229	0.069	-0.212	0.093
HbA1c	-0.005	0.965	0.010	0.935	0.042	0.741	0.079	0.530	0.006	0.961	0.072	0.571	-0.098	0.442	-0.056	0.661	-0.043	0.738
Cholesterol	-0.093	0.462	-0.100	0.430	-0.111	0.377	-0.060	0.633	-0.010	0.940	-0.087	0.493	-0.120	0.346	-0.031	0.809	-0.073	0.567
HDL	0.005	0.968	0.003	0.981	0.088	0.485	0.168	0.181	0.037	0.773	0.114	0.368	-0.030	0.816	0.023	0.855	0.032	0.811
LDL	0.046	0.715	0.081	0.521	0.006	0.964	-0.027	0.830	-0.046	0.719	0.029	0.822	-0.063	0.621	-0.092	0.470	-0.069	0.585
TG	-0.040	0.753	0.058	0.645	-0.044	0.729	0.057	0.652	-0.049	0.699	0.018	0.890	-0.067	0.597	-0.017	0.894	-0.078	0.538
GFR	0.214	0.087	0.036	0.777	0.190	0.129	0.145	0.248	0.201	0.111	0.118	0.355	0.187	0.138	0.089	0.487	0.163	0.198
Creatinine	<b>-0.594</b>	<0.001	<b>-0.460</b>	<0.001	<b>-0.430</b>	<0.001	<b>-0.421</b>	<0.001	<b>-0.561</b>	<0.001	<b>-0.508</b>	0.000	<b>-0.516</b>	<0.001	<b>-0.580</b>	0.000	<b>-0.539</b>	<0.001
BCVA	-0.258	0.038	-0.203	0.105	-0.384	0.020	-0.323	0.009	-0.318	0.010	-0.183	0.149	-0.322	0.010	-0.234	0.063	-0.315	0.110
SE	0.138	0.273	0.100	0.428	0.222	0.076	0.251	0.044	0.220	0.081	0.149	0.241	0.242	0.054	0.190	0.133	0.281	0.025
AL	-0.036	0.776	-0.034	0.789	-0.079	0.533	-0.141	0.264	-0.003	0.982	-0.092	0.468	-0.094	0.460	-0.029	0.821	-0.099	0.436
KVP																		

**Table 5** Correlations between retinal sensitivity of central quadrants measured by MAIA microperimetry and retinal thickness of the central ring measured by SS-OCT in patients with type 2 diabetes. *GCL+*, from the internal boundary of the ganglion cell layer [GCL; line RNFL/GCL] up to the external limit of the IPL (the IPL/INL line); *GCL++*, from the internal limiting membrane to the IPL/INL line [GCC]; *C*, central; *C global*, central global. Bold numbers indicate statistically significant differences ( $p < 0.004$ )

Retinal sensitivity	ETDRS C (total retina)	ETDRS C (GCL+)	ETDRS C (GCL++)
C global	-0.347	-0.246	-0.283
p	<b>0.0035</b>	0.054	0.026

Additionally, they found a greater thinning of the nasal area of the *GCL+*, where the bundle of fibers goes to the optic nerve head, which is similar to what occurs in neurodegenerative diseases.

On the other hand, when we evaluated the thickness of the layers included in the *GCL++* protocol (GCC), the inner superior area showed significant thinning in the DM2 group ( $p = 0.037$ ). In this regard, another study carried out in patients with DM2 without DR detected a reduction of the GCC in the upper macular area. They found that the thickness of the macular GCC was decreased in DM patients before loss of the peripapillary RNFL. Other studies have examined changes in the retinal layers. Tavares Ferreira et al. analyzed the outermost layers of the retina in the macular area and found a significant reduction in the photoreceptor layer of DM patients compared to healthy subjects [31]. Salvi et al. [9] analyzed the GCC in patients with DM2 and healthy individuals and found no differences between the groups.

We correlated microperimetry points with the corresponding areas in the ETDRS grid. We did not consider the displacement of the GC from their receptive fields because there is no clear agreement due to the variability between subjects [32, 33]. In our study, the DM2 group had reduced retinal sensitivity compared with the control group, similar to previous reports [4, 7, 8, 34]. Nittala et al. [8] reported lower retinal sensitivity in patients with severe DR than in those with mild or moderate DR. In addition, they observed that the sensitivity of the central 20° of the macula was reduced depending on the severity of the DR, being lower in patients with severe non-proliferative DR than in patients with proliferative DR. They also found that in patients with DM without DR, there is a loss of retinal sensitivity between the center, 2°, and 20° (2°, 8°, 10°, 12°, 20°), as well as in the lower and nasal quadrants, but not in the temporal quadrants.

We observed a negative correlation of age and BCVA with retinal sensitivity. Other studies, such as those of Okada et al. [35] and Nittala et al., [8] reported that reduced retinal sensitivity was related to an increase in the foveal avascular

zone and in the duration and severity of the disease, as well as morphological alterations detected with OCT. Other authors, however, reported no significant relationship [36]. The loss of retinal sensitivity with age has been also described in healthy people, with a mean reduction of 0.11 dB/year using the MP-1 microperimeter [8]. We also observed a negative correlation between the HbA1c levels and retinal sensitivity in the ON and II areas, which suggests that worse control of the disease is related to a worse prognosis and increases the risk for developing DME, as reported by van Dijk et al., Martin et al., and Verma et al. [7].

The central inner ring of the MAIA perimetry correlated with the central macular thickness ( $r = -0.347$ ;  $p = 0.005$ ). The results are similar to other studies, like Verma et al., [7] Senthil et al. [37], and Orduna-Hospital et al. [38], which also found a correlation between the foveal thickness and retinal sensitivity, while other authors also evaluated the relationship between retinal sensitivity and the thickness of the retinal inner layers (GCL and IPL) between healthy and patients with DM2 without DR, and did not find such a correlation [4, 39].

The main limitations of our study were the size of the sample and how it only included patients with moderate DR. Future studies including a higher number of patients as well as different RD stages would further clarify the functional impairment of diabetic patients.

In conclusion, functional and anatomical alterations are observed in patients with DM with moderate DR, suggesting that DM leads to a deterioration in retinal sensitivity and inner retinal layer thickness, even though the vascular lesions are moderate and with no macular edema. Retinal thicknesses are diminished in DM2 patient's inner retina, with no clear affection of the RNFL. Analysis of the retinal layers and microperimetry offer an opportunity for early detection of neuronal damage secondary to this pathology, providing the possibility for early diagnosis and improved prognosis.

**Funding** Open Access funding provided thanks to the CRUE-CSIC agreement with Springer Nature. This study was supported by Instituto de Salud Carlos III [Ocular Pathology National Net RETICS-Oftared RD16/0008]; the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) funds: "Una manera de hacer Europa"; and the Government of Aragon, Group B08\_17R.

## Declarations

**Ethical approval** All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the Clinical Research Ethics Committee of the Hospital Clínico Universitario de Zaragoza and the Clinical Research Ethics Committee of Aragon (CEICA PI19/252) and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

**Informed consent** Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

**Conflict of interest** All authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organization or entity with any financial interest or non-financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

## References

- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ (2010) Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 87(1):4–14
- Williams R, Airey M, Baxter H et al (2004) Epidemiology of diabetic retinopathy and macular oedema: a systematic review. *Eye* 18(10):963–983
- Fong DS, Aiello LP, Ferris FL et al (2004) Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 27(10):2540–2553
- Progression of retinopathy with intensive versus conventional treatment in the Diabetes Control and Complications Trial (1995) Diabetes control and complications trial research group. *Ophthalmology* 102(4):647–661
- Sun JK, Keenan HA, Cavallerano JD et al (2011) Protection from retinopathy and other complications in patients with type 1 diabetes of extreme duration: the joslin 50-year medalist study. *Diabetes Care* 34(4):968–974
- Verma A, Raman R, Vaitheeswaran K et al (2012) Does neuronal damage precede vascular damage in subjects with type 2 diabetes mellitus and having no clinical diabetic retinopathy? *Ophthalmic Res* 47(4):202–207
- Verma A, Rani PK, Raman R et al (2009) Is neuronal dysfunction an early sign of diabetic retinopathy? Microperimetry and spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) study in individuals with diabetes, but no diabetic retinopathy. *Eye (Lond)* 23(9):1824–1830
- Nittala MG, Gella L, Raman R, Sharma T (2012) Measuring retinal sensitivity with the microperimeter in patients with diabetes. *Retina* 32(7):1302–1309
- Salvi L, Plateroti P, Balducci S et al (2016) Abnormalities of retinal ganglion cell complex at optical coherence tomography in patients with type 2 diabetes: a sign of diabetic polyneuropathy, not retinopathy. *J Diabetes Complications* 30(3):469–476
- Neriyani S, Pardhan S, Gella L et al (2017) Retinal sensitivity changes associated with diabetic neuropathy in the absence of diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 101(9):1174–1178
- Nilsson M, von Wendt G, Wanger P, Martin L (2007) Early detection of macular changes in patients with diabetes using Rarebit Fovea Test and optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol* 91:1596–1598
- Browning DJ, Glassman AR, Aiello LP et al (2008) Optical coherence tomography measurements and analysis methods in optical coherence tomography studies of diabetic macular edema. *Ophthalmology* 115(8):1366–1371
- Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE et al (2003) Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 110(9):1677–1682
- Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research G (1985) Photocoagulation for diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol* 103:1796–1806
- Simó R, Stitt AW, Gardner TW (2018) Neurodegeneration in diabetic retinopathy: does it really matter? *Diabetologia* 61(9):1902–1912
- Lynch SK, Abramoff MD (2017) Diabetic retinopathy is a neurodegenerative disorder. *Vision Res* 139:101–107
- van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PHB et al (2010) Decreased retinal ganglion cell layer thickness in patients with type 1 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51:3660–3665
- van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PHB et al (2012) Early neurodegeneration in the retina of type 2 diabetic patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53(6):2715–2719
- Chalam KV, Bressler SB, Edwards AR et al (2012) Retinal thickness in people with diabetes and minimal or no diabetic retinopathy: Heidelberg Spectralis optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53(13):8154–8161
- Trento M, Durando O, Lavecchia S et al (2017) Vision related quality of life in patients with type 2 diabetes in the EUROCONDOR trial. *Endocrine* 57(1):83–88
- De Clerck EE, Schouten JS, Berendschot TT et al (2015) New ophthalmologic imaging techniques for detection and monitoring of neurodegenerative changes in diabetes: a systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol* 3(8):653–663
- Brown JC, Solomon SD, Bressler SB et al (2004) Detection of diabetic foveal edema: contact lens biomicroscopy compared with optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 122(3):330–335
- Browning DJ, Fraser CM, Clark S (2008) The relationship of macular thickness to clinically graded diabetic retinopathy severity in eyes without clinically detected diabetic macular edema. *Ophthalmology* 115(3):533–539.e2
- Sugimoto M, Sasoh M, Ido M et al (2005) Detection of early diabetic change with optical coherence tomography in type 2 diabetes mellitus patients without retinopathy. *Ophthalmologica* 219(6):379–385
- Oshitani T, Hanawa K, Adachi-Usami E (2009) Changes of macular and RNFL thicknesses measured by Stratus OCT in patients with early stage diabetes. *Eye (Lond)* 23(4):884–9
- Bandello F, Tejerina AN, Vujosevic S et al (2015) Retinal layer location of increased retinal thickness in eyes with subclinical and clinical macular edema in diabetes type 2. *Ophthalmic Res* 54(3):112–117
- Ng DS, Chiang PP, Tan G et al (2016) Retinal ganglion cell neuronal damage in diabetes and diabetic retinopathy. *Clin Exp Ophthalmol* 44(4):243–250
- Scarinci F, Picconi F, Virgili G et al (2017) Single retinal layer evaluation in patients with type 1 diabetes with no or early signs of diabetic retinopathy: the first hint of neurovascular crosstalk damage between neurons and capillaries? *Ophthalmologica* 237(4):223–231
- Gundogan FC, Akay F, Unzu S et al (2016) Early neurodegeneration of the inner retinal layers in type 1 diabetes mellitus. *Ophthalmologica* 235(3):125–132
- Chhablani J, Sharma A, Goud A et al (2015) Neurodegeneration in type 2 diabetes: evidence from spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56(11):6333–6338
- Tavares Ferreira J, Proença R, Alves M et al (2017) Retina and choroid of diabetic patients without observed retinal vascular changes: a longitudinal study. *Am J Ophthalmol* 176:15–25
- Drasdo N, Millican CL, Katholi CR, Curcio CA (2007) The length of Henle fibers in the human retina and a model of

- ganglion receptive field density in the visual field. *Vision Res* 47(22):2901–2911
33. Turpin A, Chen S, Sepulveda JA, McKendrick AM (2015) Customizing structure-function displacements in the macula for individual differences. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56(10):5984–5989
  34. Mrejen S, Spaide RF (2013) Optical coherence tomography: imaging of the choroid and beyond. *Surv Ophthalmol* 58(5):387–429
  35. Okada K, Yamamoto S, Mizunoya S et al (2006) Correlation of retinal sensitivity measured with fundus-related microperimetry to visual acuity and retinal thickness in eyes with diabetic macular edema. *Eye (Lond)* 20(7):805–809
  36. Kube T, Schmidt S, Toonen F et al (2005) Fixation stability and macular light sensitivity in patients with diabetic maculopathy: a microperimetric study with a scanning laser ophthalmoscope. *Ophthalmologica* 219(1):16–20
  37. Senthil RP, Srikanth K, Jha KN, Rajalakshmi AR (2019) Functional and structural changes in the macula in diabetic retinopathy – a correlative study. *TNOA J Ophthalmic Sci Res* 57:21–23
  38. Orduna-Hospital E, Otero-Rodríguez J, Perdices L, Sánchez-Cano A, Boned-Murillo A, Acha J, Pinilla I (2021) Microperimetry and optical coherence tomography changes in type-1 diabetes mellitus without retinopathy. *Diagnostics* 11:136
  39. Rohrschneider K, Bultmann S, Springer C (2008) Use of fundus perimetry (microperimetry) to quantify macular sensitivity. *Prog Retin Eye Res* 27(5):536–48

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

### Authors and Affiliations

A. Boned-Murillo<sup>1,2,3</sup> · M. D. Díaz-Barreda<sup>1,2,3</sup> · A. Ferreras<sup>2,3,4</sup> · I. Bartolomé-Sesé<sup>1,2,3</sup> · E. Orduna-Hospital<sup>2,5</sup> · P. Montes-Rodríguez<sup>1</sup> · J. Ascaso<sup>1,2,3</sup> · Isabel Pinilla<sup>1,2,3</sup> 

<sup>1</sup> Department of Ophthalmology, Lozano Blesa University Hospital, 50009 Zaragoza, Spain

<sup>2</sup> Aragón Health Research Institute (IIS Aragón), 50009, Zaragoza, Spain

<sup>3</sup> Department of Surgery, School of Medicine, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain

<sup>4</sup> Department of Ophthalmology, Miguel Servet University Hospital, 50009 Zaragoza, Spain

<sup>5</sup> Department of Applied Physics, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain



### 5.3. ARTÍCULO 3: *Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review.*

Ana Boned-Murillo, Henar Albertos-Arranz, María Dolores Diaz-Barreda, Elvira Orduna-Hospital, Ana Sánchez-Cano, Antonio Ferreras, Nicolás Cuenca, Isabel Pinilla.

*Biomedicines.* 2021 Dec 31;10(1):88.

DOI: 10.3390/diagnostics11010136.

Factor de Impacto JCR 2021: 4,757

#### Resumen

Objetivo: analizar las aplicaciones actuales de la OCTA y proporcionar una visión general actualizada de las mismas en la evaluación de DR.

Métodos: se realizó una búsqueda bibliográfica sistemática en PubMed y EMBASE, incluyendo las palabras clave “OCTA” OR “OCT angiography” OR “optical coherence tomography angiography” AND “diabetes” OR “diabetes mellitus” OR “diabetic retinopathy” OR “diabetic maculopathy” O “edema macular diabético” O “isquemia macular diabética” mediante el protocolo PRISMA.

De los 1.456 estudios identificados inicialmente, 107 estudios aparecieron duplicados y se eliminaron los artículos que no cumplían con los criterios de selección. Finalmente, después de añadir otros estudios relevantes externos a la búsqueda, se incluyeron 135 estudios en esta revisión. Presentamos los hallazgos comunes y distintivos en los artículos analizados después de la búsqueda bibliográfica que incluyen el uso diagnóstico de OCTA en pacientes con DM.

Analizamos los hallazgos característicos en la vascularización de la retina, incluidos MAs, cambios en la ZAF tanto en sus medidas como en morfología, cambios en la perfusión vascular, aparición de AMIRes o NV, y EMD y el uso de tecnología de Inteligencia Artificial aplicada a esta enfermedad.

Resultados: la OCTA ofrece ventajas frente a la AGF, porque es una evaluación no invasiva y más rápida que puede utilizarse como exploración de rutina. Analiza una variedad de medidas que

incluyen el área de la ZAF, índice de acircularidad, relación de ejes, densidad vascular (DV), NV y otros parámetros vasculares, como la dimensión fractal (DF), la tortuosidad de los vasos o la densidad del esqueleto, que pueden considerarse marcadores de la enfermedad y su progresión. Tiene especial interés en el estudio y la detección de cambios vasculares y áreas de no perfusión

Sin embargo, existe una alta variabilidad entre sujetos que puede interferir en los resultados, y el estudio de la periferia resulta menos preciso que en otros aparatos con estudio de campo amplio.

Se deben mejorar los protocolos, el campo estudiado, la velocidad de adquisición, así como las mediciones realizadas automáticamente, incluidas las mediciones ZAF y la irregularidad, DV y el índice de flujo, y otras características cuantitativas que incluyen el calibre de los vasos sanguíneos, la tortuosidad, el coeficiente de ramificación de los vasos y ángulo, etc. El desarrollo de la periferia con OCTA de campo amplio, junto con la determinación de biomarcadores para el desarrollo de RD o de respuesta al tratamiento tipificados mediante OCTA podría cambiar el diagnóstico y el manejo de la enfermedad.

Conclusiones: la OCTA permite el diagnóstico y seguimiento de pacientes con DM, incluso de aquellos sin lesiones detectables con otros dispositivos. La evaluación de los plexos retiniano y coroideo mediante OCTA es una herramienta fundamental para el diagnóstico y pronóstico de la RD.

### Abstract

Background: diabetic retinopathy (DR) is the leading cause of legal blindness in the working population in developed countries. Optical coherence tomography (OCT) angiography (OCTA) has risen as an essential tool in the diagnosis and control of diabetic patients, with and without DR, allowing visualization of the retinal and choroidal microvasculature, their qualitative and quantitative changes, the progression of vascular disease, quantification of ischaemic areas, and the detection of preclinical changes. The aim of this article is to analyse the current applications of OCTA and provide an updated overview of them in the evaluation of DR.

Methods: a systematic literature search was performed in PubMed and Embase, including the keywords "OCTA" OR "OCT angiography" OR "optical coherence tomography angiography" AND "diabetes" OR "diabetes mellitus" OR "diabetic retinopathy" OR "diabetic maculopathy" OR

"diabetic macular oedema" OR "diabetic macular ischaemia". Of the 1456 studies initially identified, 107 studies were screened after duplication, and those articles that did not meet the selection criteria were removed. Finally, after looking for missing data, we included 135 studies in this review.

Results: we present the common and distinctive findings in the analysed papers after the literature search including the diagnostic use of OCTA in diabetes mellitus (DM) patients. We describe previous findings in retinal vascularization, including microaneurysms, foveal avascular zone (FAZ) changes in both size and morphology, changes in vascular perfusion, the appearance of retinal microvascular abnormalities or new vessels, and diabetic macular oedema (DME) and the use of deep learning technology applied to this disease.

Conclusion: OCTA findings enable the diagnosis and follow-up of DM patients, including those with no detectable lesions with other devices. The evaluation of retinal and choroidal plexuses using OCTA is a fundamental tool for the diagnosis and prognosis of DR.

Systematic Review

# Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review

Ana Boned-Murillo <sup>1,†</sup>, Henar Albertos-Arranz <sup>2,†</sup>, María Dolores Diaz-Barreda <sup>1</sup>, Elvira Orduna-Hospital <sup>3,4</sup>, Ana Sánchez-Cano <sup>3,4</sup>, Antonio Ferreras <sup>3,5</sup>, Nicolás Cuenca <sup>2</sup> and Isabel Pinilla <sup>1,3,6,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Ophthalmology, Lozano Blesa University Hospital, 50009 Zaragoza, Spain; abonedm@salud.aragon.es (A.B.-M.); mddiaz@salud.aragon.es (M.D.D.-B.)

<sup>2</sup> Department of Physiology, Genetics and Microbiology, University of Alicante, 03690 Alicante, Spain; henar.albertos@ua.es (H.A.-A.); cuenca@ua.es (N.C.)

<sup>3</sup> Aragón Health Research Institute (IIS Aragón), 50009 Zaragoza, Spain; eordunahospital@unizar.es (E.O.-H.); anaisa@unizar.es (A.S.-C.); aferreras@unizar.es (A.F.)

<sup>4</sup> Department of Applied Physics, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain

<sup>5</sup> Department of Ophthalmology, Miguel Servet University Hospital, 50009 Zaragoza, Spain

<sup>6</sup> Department of Surgery, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain

\* Correspondence: ipinilla@unizar.es; Tel.: +34-696-808-295

† These authors contributed equally to this work.



**Citation:** Boned-Murillo, A.; Albertos-Arranz, H.; Diaz-Barreda, M.D.; Orduna-Hospital, E.; Sánchez-Cano, A.; Ferreras, A.; Cuenca, N.; Pinilla, I. Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review. *Biomedicines* **2022**, *10*, 88. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10010088>

Academic Editor: Maria Grau

Received: 8 December 2021

Accepted: 29 December 2021

Published: 31 December 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Background: Diabetic retinopathy (DR) is the leading cause of legal blindness in the working population in developed countries. Optical coherence tomography (OCT) angiography (OCTA) has risen as an essential tool in the diagnosis and control of diabetic patients, with and without DR, allowing visualisation of the retinal and choroidal microvasculature, their qualitative and quantitative changes, the progression of vascular disease, quantification of ischaemic areas, and the detection of preclinical changes. The aim of this article is to analyse the current applications of OCTA and provide an updated overview of them in the evaluation of DR. Methods: A systematic literature search was performed in PubMed and Embase, including the keywords “OCTA” OR “OCT angiography” OR “optical coherence tomography angiography” AND “diabetes” OR “diabetes mellitus” OR “diabetic retinopathy” OR “diabetic maculopathy” OR “diabetic macular oedema” OR “diabetic macular ischaemia”. Of the 1456 studies initially identified, 107 studies were screened after duplication, and those articles that did not meet the selection criteria were removed. Finally, after looking for missing data, we included 135 studies in this review. Results: We present the common and distinctive findings in the analysed papers after the literature search including the diagnostic use of OCTA in diabetes mellitus (DM) patients. We describe previous findings in retinal vascularization, including microaneurysms, foveal avascular zone (FAZ) changes in both size and morphology, changes in vascular perfusion, the appearance of retinal microvascular abnormalities or new vessels, and diabetic macular oedema (DME) and the use of deep learning technology applied to this disease. Conclusion: OCTA findings enable the diagnosis and follow-up of DM patients, including those with no detectable lesions with other devices. The evaluation of retinal and choroidal plexuses using OCTA is a fundamental tool for the diagnosis and prognosis of DR.

**Keywords:** diabetes mellitus; diabetic retinopathy; foveal avascular zone; FAZ; optical coherence tomography angiography; OCTA; diabetic macular oedema

## 1. Introduction

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease caused by an increase in glucose levels due to a diminution of insulin secretion or an increase in resistance to its activity. DM is expected to increase worldwide in a rapid manner, increasing by 25% by 2030 and 51% by 2045 [1].

Diabetic retinopathy (DR) is the most severe and frequent ophthalmic complication [1,2]. DR is the leading cause of legal blindness in the working population in developing countries. Diabetic patients may primarily have a neurodegeneration process in the retina, followed by well-known changes at the microvascular net, with pericyte loss and an increase in thickness of the basal membrane, with a breakdown of the inner blood retinal barrier. Although there is a trend towards a reduction in proliferative DR incidence due to improved control, the prevalence of DR in DM patients is approximately 35% of that in other patients [3–6]. There was a period with no DR signs but neuronal degeneration and microvascular changes, which were not detectable by ordinary examination. Any method that could help to find changes before these changes are evident would be a fundamental tool as a disease biomarker [7].

The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) divided DR into groups: nonproliferative DR (NPDR) and proliferative DR (PDR). NPDR can be divided into mild, moderate, and severe DR [8]. At each level, patients present different changes in their fundus related to either an increase in vessel permeability or a diminution of the vascular supply, including microaneurysms (MAs), exudation or oedema, haemorrhages, intraretinal microvascular abnormalities (IRMAs), vascular changes, and neovascularization (NV) [9].

Clinical examination of diabetic patients was based on ophthalmoscopy under mydriasis, fundus photography, fluorescein angiography (FA), and optical coherence tomography (OCT).

FA has been considered the gold standard to evaluate retinal vascularization [10]. FA can evaluate vascular integrity, the presence of MA, the loss of vascular perfusion, and the increased permeability of the vessels generating oedema and NV. FA is an invasive test that can generate severe adverse effects in a small percentage of patients [11]. Due to its potential secondary effects, it is not usually performed as a screening method.

The development of OCT angiography (OCTA) has been an important tool in the control of DM patients with and without microvascular lesions.

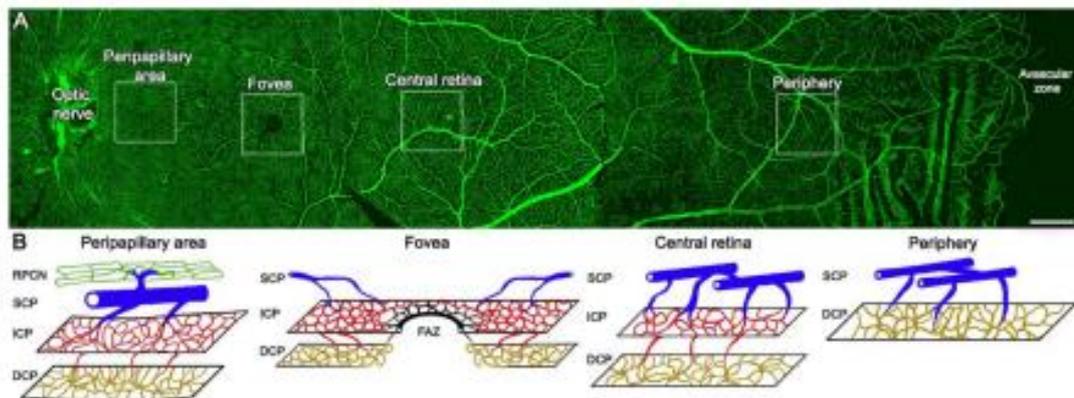
### *1.1. Morphology of the Retinal and Choroidal Blood Vessels*

The central retinal artery, a terminal branch of the ophthalmic artery, divides and forms the different retina plexuses covering the entire retina, excluding the central foveal avascular zone (FAZ) and the most peripheral 1–1.5 mm [12–15]. The number of retinal plexuses varies from one to four depending on the eccentricity [16]. These plexuses are the radial peripapillary capillary network (RPCN), close to the optic nerve head, the superficial capillary plexus (SCP), the intermediate capillary plexus (ICP), and the deep capillary plexus (DCP) [17]. The rest of the central retina is formed by the SCP, ICP, and DCP [17] (Figure 1). For more information about retinal morphology and vascularization, see Supplementary File S1.

### *1.2. Optical Coherence Tomography Angiography (OCTA)*

OCTA is a new non-invasive angiography technique based on OCT technology that can be performed without pupillary dilation. It provides high-resolution images of the retinal capillary plexuses and the choriocapillaris (CC) without using any contrast in a rapid and easy way. Using more advanced hardware and acquisition software, OCTA enables greyscale retinal vascular flow imaging. It can provide perfusion density maps and average perfusion density. OCTA is able to visualise changes in the DR, such as MA, nonperfusion areas, IRMA, or NV. OCTA can demonstrate noncapillary perfusion areas even better than FA, and the image will not have interference from any leakage [18,19]. It is based on the detection of moving blood cells, such as red blood cells. Performing consecutive B-scans in the same location on the retina shows the presence of movement through the blood vessels. The change in contrast over time indicates the vessel location and erythrocyte movement through them [20]. Changes are subsequently processed with different computer algorithms. This technology allows en face images and reconstructions of different retinal layers to be obtained. Image capture in OCTA requires great precision

because it is based on differential analysis of the B-scan changes related to erythrocyte micromovements and the high sequential image speeds of the devices [20].



**Figure 1.** Morphological changes in the vascular plexuses throughout the human retina. (A) Whole-mount human retina immunostained with an antibody against collagen type IV showing the vascular network from the optic nerve to *Ora serrata*. (B) Drawings of the different plexuses corresponding to the insets in (A). Four plexuses can be observed in the peripapillary area (RPCN, SCP, ICP, and DCP) close to the optic nerve. The central retina is composed of three plexuses (SCP, ICP, and DCP), except in the fovea where the foveal avascular zone (FAZ) exists. Only two plexuses (SCP and DCP) are present in the far-periphery area. RPCN, radial peripapillary capillary network; SCP, superficial capillary plexus; ICP, intermediate capillary plexus; DCP, deep capillary plexus. Scale bar: 1 mm.

The maps generated by OCTA are a representation of retinal vascularization over a particular area of interest, in this case the macular area, and according to different anatomically interesting segmentation profiles. In OCTA, the introduction of projection resolved OCTA algorithms and three-dimensional visualisation increased the depth quality of the images. OCTA allows retinal segmentation into different vascular and nonvascular layers: SCP, ICP, DCP, external retina, and CC. The introduction of wild field (WF) OCTA allows better knowledge of the capillary plexuses in both the mid- and far periphery. The in-depth resolution enables visualisation of aneurysmal dilatations in the plexuses, avascular or low perfusion areas, retinal NV or intraretinal shunts, vascular structures in the choroid, or loss of CC vessels.

OCTA provides a dye-free image useful to detect angiographic signs of DR and changes in the capillary network at the macular level, even before onset of the disease. In patients with DR, areas of nonperfusion and their location in the SCP and DCP, as well as irregular capillaries, MA dilatations, and modifications in the CC layer, have been clearly analysed [21,22]. In addition to these qualitative characteristics, OCTA can provide a quantitative analysis of the density and flow of retinal blood vessels in each layer [23].

OCTA disadvantages include the loss of findings in which flow is slow, the inability to see leakage or staining, and difficulty visualising the peripheral retina. OCTA is an effective tool to evaluate DR, but the large amount of data and protocols can generate problems in the most sensitive parameters [24].

In summary, OCTA data acquisition is faster than FA and is three-dimensional and depth-resolved, allowing individual capillary plexuses automatically assessment based on current software algorithm. OCTA allows the visualisation of all plexuses, including the intermediate capillary, detecting pathological features that are not available in traditional dye-based angiography. In addition, as a non-invasive and rapid test, it is adequate for patients who require frequent follow-up exams. Nevertheless, FA is still the gold standard for retinal vessel evaluation, providing some additional findings such as leakage.

The purpose of this review was to provide an actual summary of the different findings assessed by OCTA and the diagnostic value of OCTA in DR patients, which is a great future challenge due to the prevalence of DM and the heavy burden caused by DR.

## 2. Methods

### 2.1. Literature Search

A systematic review was performed following the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines [25] using a PRISMA checklist. It included a comprehensive search of different databases, including PubMed and EMBASE, last run-on 15 April 2021, for the following terms: OCTA OR OCT angiography OR optical coherence tomography angiography AND diabetes OR diabetes mellitus OR diabetic retinopathy OR diabetic maculopathy OR diabetic macular oedema OR diabetic macular ischaemia including MeSH terms and synonyms.

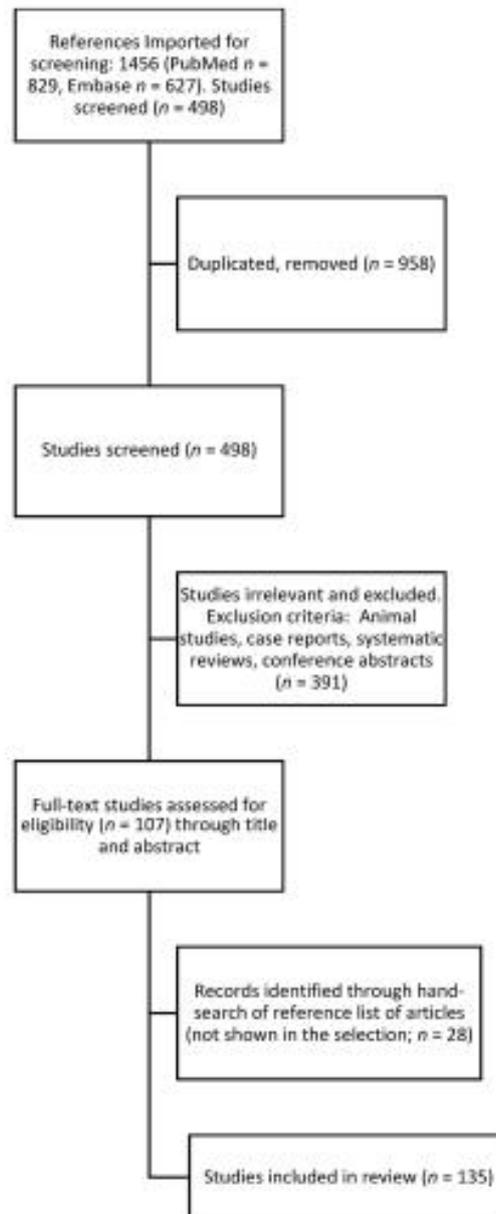
### 2.2. Inclusion/Exclusion Criteria

The search was performed to identify those studies in which OCTA was used to image diabetes patients with or without any type of DR. The included studies were limited to those published in English and in peer-reviewed journals, excluding case reports, conference proceedings and letters, and studies based on time-domain OCT. No restrictions existed for age, diabetes type or control, or follow-up.

### 2.3. Literature Review

Using the search criteria described above, a total of 829 results in PubMed and 627 in Embase, a total of 1456 records were found. PRISMA search was performed by three authors. After an initial review of abstracts by two independent reviewers, removal of duplicate studies or those articles that did not meet the selection criteria, 107 articles were selected for a full literature review. Other papers previously cited that were not selected, which appeared to be important to our review, were added supported by a third author, and at the end, a total of 135 studies were included in this qualitative systematic review. OCTA has been used to evaluate any kind of change in DM patients with or without DR. We described selected paper findings in the FAZ, MA, nonperfusion areas, ischaemia, IRMA, NV, and diabetic macular oedema (DME) (Figure 2).

Each of these topics will be discussed in turn, followed by a discussion of OCTA's future directions in DR.

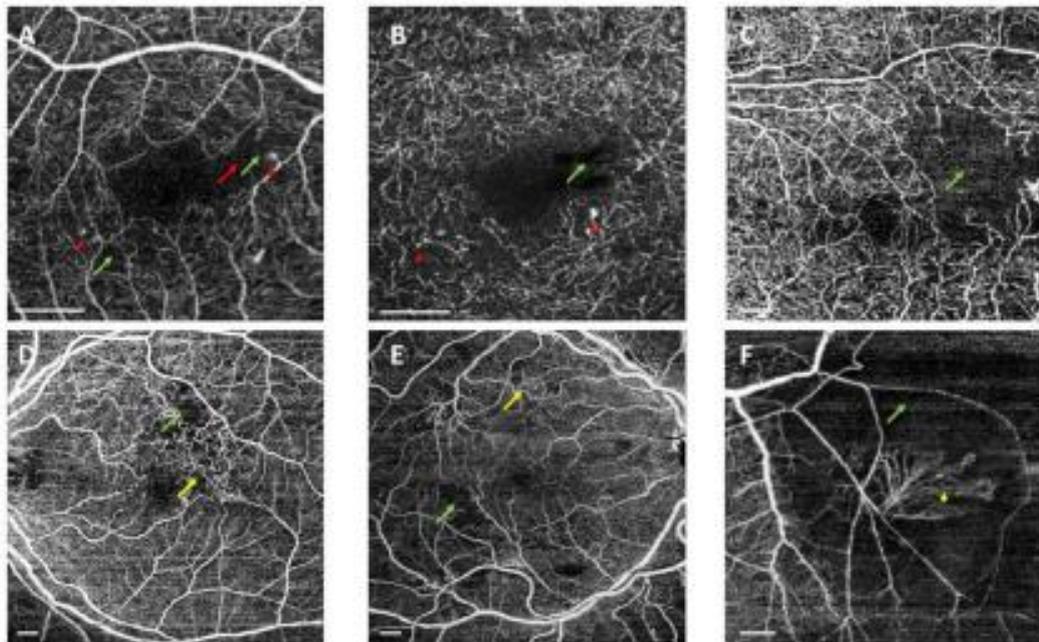


**Figure 2.** Flow chart explaining the literature selection. A systematic review was performed following PRISMA guidelines. A total of 1456 records were selected (829 in PubMed and 627 in Embase), and after the removal of duplicate studies or articles that did not meet the selection criteria, 107 articles were selected for a full literature review. Ultimately, a total of 135 studies were included after adding important works that were not found in the databases.

### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Foveal Avascular Zone

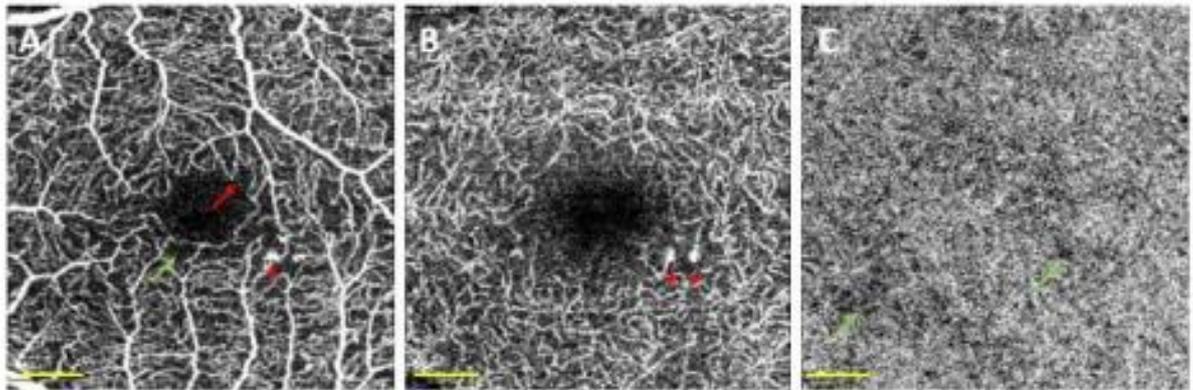
Different papers have analysed FAZ changes in either diabetes mellitus type 1 (DM1) or diabetes mellitus type 2 (DM2) with or without DR. FAZ has previously been analysed using FA, only evaluating changes at the SCP. FA showed that FAZ increased in DR with retinopathy stage [26] due to loss of the surrounding capillary [27]. Studies have demonstrated that compared with FA, OCTA allows better discrimination of the central and parafoveal macular microvasculature, especially for FAZ disruption and capillary dropout [28] (Figure 3A,B).



**Figure 3.** Swept source optical coherence tomography angiography (SS-OCTA) showing representative examples of OCTA findings in diabetic patients. OCTA was acquired using DRI-Triton SS-OCT (Topcon, Tokyo, Japan). (A,B) Superficial (SCP) and deep capillary plexuses (DCP) in  $3 \times 3$  mm scans. Figure 3C shows SCP in a  $6 \times 6$  scan. (D,E) The SCP in a  $9 \times 9$  scan and 3F SCP in a  $6 \times 6$  scan protocol. (B) An irregular foveal avascular zone (red arrows) and microaneurysms (red arrowheads) in the superficial and deep capillary plexuses. (C) Nonperfusion areas in the temporal area (green arrows). (D,E) Areas of impaired perfusion associated with intraretinal microvascular abnormalities (yellow arrows). (F) Retinal neovascularization elsewhere (yellow arrowhead). Scale bar represents 1 mm.

Nevertheless, not all OCTA studies in DM had the same results evaluating the FAZ, and the methodology differed between them, evaluating the plexuses one by one or all in total. Other discrepancies between studies were in the way they dealt with projection artefacts or artefacts caused by vitreous opacities [29].

The first author who analysed OCTA changes in patients with no DR signs was De Carlo [30], who demonstrated that DM without DR showed an increase in the FAZ and areas of capillary nonperfusion (considering both DM1 and DM2 patients). Similarly, Dimitrova and colleagues showed an increase in the FAZ of the SCP in DM patients without DR as well as a decrease in vessel density (VD) in both plexuses [31] (Figure 4).



**Figure 4.** Optical coherence tomography angiography (OCTA) of a diabetic patient without detectable diabetic lesions. OCTA was acquired using DRI-Triton SS-OCT (Topcon, Tokyo, Japan) with a  $3 \times 3$  mm scan protocol. (A) Superficial capillary plexus, (B) deep capillary plexus, and (C) choriocapillaris (CC). Red arrow shows a disruption in the foveal avascular zone (FAZ), red arrowheads correspond to microaneurysms, and green arrows correspond to non-perfusion areas in the CC. Scale bar (in yellow) represents 500 microns.

Takase et al., found an increase in the en face FAZ in all DM patients with or without DR signs [32], and Di et al., described an increase in FAZ in DM patients. They found that patients with more severe retinal damage had a much larger FAZ, with changes in the area and vertical and horizontal radius [33]. An enlarged FAZ associated with a reduction in the VD of the SCP and DCP in the foveal and parafoveal areas has been observed in patients with NPDR [34]. Comparing DM1 patients without DR or with mild NPDR with controls, Simonett et al., suggested that parafoveal capillary nonperfusion in DM1 is an early marker of retinal changes starting in the DCP [35]. Wang et al., as previously described, postulated that FAZ metrics may have a prognostic value in DR progression, DME, and visual acuity (VA), but highlighted that the high variation among normal individuals in FAZ area and perimeter makes them less than ideal biomarkers for staging DR. None of their FAZ metrics differed with the severity of DR, indicating that they may not play an important role in advanced DR, but may have a prognostic role in predicting DR progression, DME, and VA [36].

Parafoveal nonperfusion has been analysed using different strategies to identify a better biomarker for DR severity [23,37–39] and ischaemic index [40]. When the DR appeared, this density changed into a progressive loss of the capillary network. Xu and You [29,41] indicated that FAZ and nonperfusion areas were both significantly larger in the diabetic group, whereas the FAZ circularity was significantly smaller [41]. You et al. also demonstrated that treatment requirements were related to the extrafoveal avascular areas for the baseline DCP [29]. The nonperfusion ratio was studied by Wang et al., who found a significantly lower parafoveal VD in DR patients compared with those without DR, with an increase in VD loss related to DR severity [42]. VD diminished with age and higher HbA1c levels, and patients with DME had a significantly lower average parafoveal VD according to Xie and colleagues [43]. Other authors, such as Rosen, found an increased area of capillary density in DM patients without DR after extracting the noncapillary structures, suggesting an autoregulatory response to an increase in metabolic needs [44], highlighting that OCTA may help identify early-stage DR before retinopathy is apparent. Rosen suggested that perfused capillary density is a more sensitive marker to detect differences between healthy individuals and DM patients than FAZ metrics [44].

In contrast, some studies deny OCTA as the most appropriate tool for detecting preclinical changes in patients with diabetes, suggesting that clinical examinations and glycaemic control should be kept on as the primary clinical parameter during DR screening [45].

Differences in FAZ parameters between DM1 and DM2 patients have been studied. Oliverio et al. found that changes in FAZ parameters were more pronounced in DM1, and these modifications were correlated with the duration of the disease [46]. Vujosevic and Um indicated that the increase in FAZ area, and a decrease in VD, are related to DR progression and are more severe in the DCP than in the SCP in both DM types [47,48].

Changes in the FAZ can be related to visual impairment [49,50], as was demonstrated in Samara's study. They found a negative correlation between logMAR VA and VD in both SCP and DCP, and a positive correlation between logMAR VA and FAZ area in both plexuses [51].

FAZ morphology can be visualised in en face projections. The SCP is formed by large and small capillaries that end at the FAZ as a terminate capillary ring with a centripetally branching pattern. The DCP ends at the macula with lobular patterns with no direction [16]. The acircularity index provides information about the extent to which the FAZ differs from a circle. Krawitz and colleagues found differences in the FAZ shape between controls and all DR patients, but not DM patients with no lesions. The mean acircularity index was 1.32 in both the control and no DR groups, 1.57 in the NPDR group, and 1.78 in the PDR group. There were no differences between NPDR and PDR [52]. They also considered the axis ratio as an index of disease progression and therapeutic interventions. The average axis ratios were 1.17, 1.12, 1.27, and 1.33 in the different stages. A higher acircularity index and axis ratio were associated with a worse stage of DR.

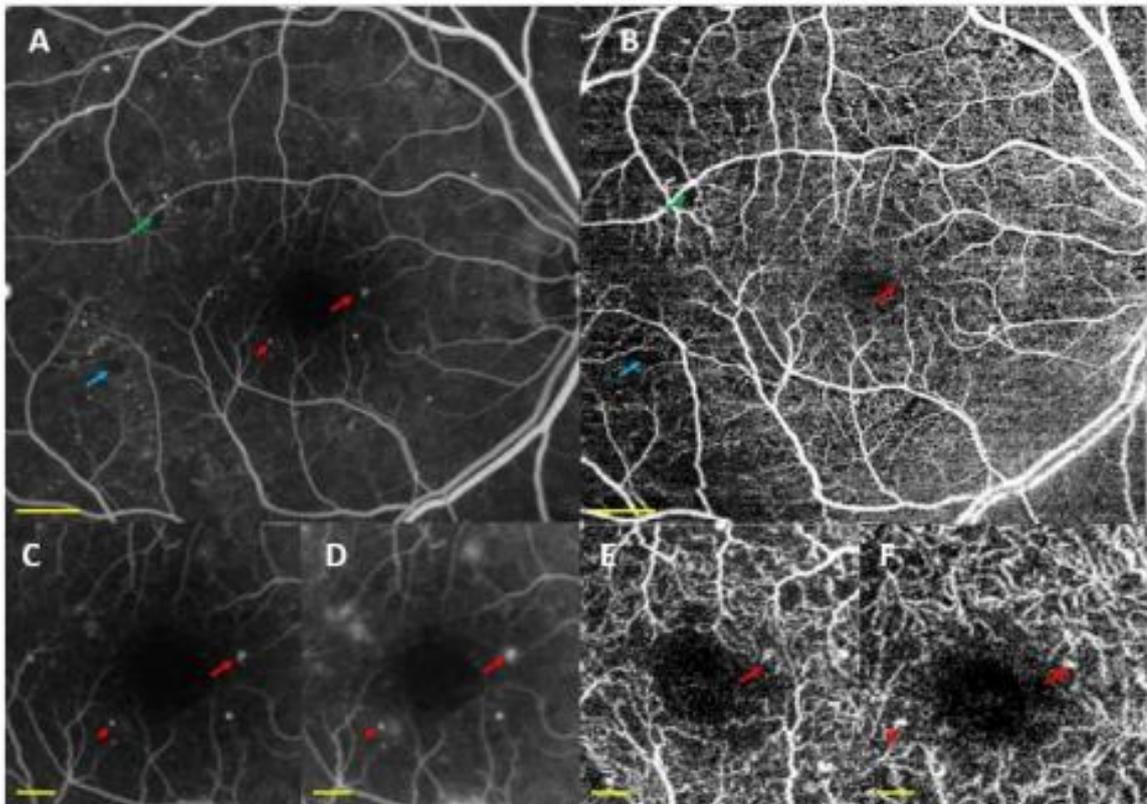
Zahid and colleagues [53], using fractal dimension (FD) analysis, a mathematical method to evaluate the complexity of tissues, found a reduction in the flow in DR, both in SCP and DCP, in the absence of DME. Tang et al. also observed a lower FD associated with DR severity and an increased FAZ area and decreased FAZ circularity [54]. The study performed by Sun et al. evaluated the risk of DR progression and DME development beyond traditional risk factors and related FAZ area, VD, and FD of DCP with DR progression, whereas VD of SCP would predict DME development [55]. Other authors suggested FD-300 analysis (VD of a 300 µm width annulus surrounding the FAZ) was useful for detecting preclinical microvascular alterations in DR screening [56].

In addition, the decrease in FAZ circularity and parafoveal vessel density are postulated to be related to structural retinal neurodegeneration, because they would be highly correlated with ganglion cell layer—inner plexiform layer (GCL-IPL) thinning, regardless of the presence of DR, and would predict microvascular impairment in early DR [57,58].

### 3.1.1. Microaneurysms

Microaneurysms (MAs) were identified using OCTA (Figure 3A,B). We found saccular dilatation or fusiform capillaries, as described by Ishibazawa et al. [18], in both the SCP and DCP. According to Park and colleagues [59], it is also possible to identify MAs in the ICP. OCTA is able to identify a smaller number of MAs than FA, but it has the ability to detect MAs in both the SCP and DCP (Figure 5).

Salz and colleagues found that compared with FA, OCTA had a sensitivity of 85% (95% CI, 53–97%) and a specificity of 75% (95% CI, 21–98%) in detecting MAs. [60]. These results have been supported by other studies [19,61]. Soares and colleagues compared FA and OCTA AngioVue and AngioPlex, with FA being superior to both for detecting MAs in both the SCP and total retina slab [28]. As already described, MAs were more frequently located in the DCP. MAs were related to ischaemic areas, and they found MAs surrounding nonperfusion areas (NPAs) [19]. Parrulli et al. also found that FA is the best way to detect MAs. OCTA devices can differentiate their detection depending on the number of B-scans, with great variability between devices [62]. Hamada et al. also found discrepancies between FA, OCT B-scan, and OCTA, with the latter being able to overlook MAs in patients with diabetic macular oedema (DME) [63].



**Figure 5.** Fluorescein angiography (FA) (A,C,D) vs. swept source optical coherence tomography angiography (SS-OCTA) (B,E,F) showing microaneurysms (MAs) (red arrow and arrowhead) in diabetic patients. (A,C,D) MAs in the superficial and deep capillary plexuses (SCP and DCP) and nonperfusion areas (green and blue arrows) detected by (A,B,E,F) show the same MAs in SCP (E), DCP (F), and nonperfusion areas (B), visualised by OCTA. FA was acquired using a Spectralis-HRA (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). (A,C) Arterial time in the FA and (D) tissue times. OCTA was acquired with DRI-Triton SS-OCT (Topcon, Tokyo, Japan). (B)  $9 \times 9$  mm OCTA and (E,F)  $3 \times 3$  mm OCTA of both SCP and DCP, respectively. Scale bar (in yellow) represents 1 mm in Figure 5A,B and 250 microns in Figure 5C,E.

Park et al. described MAs in all three plexuses [59]. Other authors found a higher number of MAs in the DCP than in the SCP [18,19,64]. Byeon et al. described the deep location of the MA [65] leaking in the outer plexiform layer (OPL). MAs can protrude towards outer layers, such as the outer nuclear layer (ONL).

Some authors have correlated the MAs on structural OCT and OCTA. Parravano studied the correlation between them and their evolution [64,66]. They described two MA patterns based on OCT findings. Hyporeflective lesions on structural OCT were less visualised using OCTA than hyper-reflective or moderate lesions (66.7% vs. 88.9%). They suggested that the hyporeactive lesions could have a lower flow that was not detected with OCTA. Other authors have suggested the possibility of turbulent flow [18], or that MAs are not perfused with luminal fibrosis and lipid infiltration in their histology [67]. Parravano [64,66] also described the different behaviours depending on their OCT reflectivity. MAs that developed over 12 months in extracellular fluid were hyper-reflective (66% vs. 18% of the hyporeactive MAs). The location was also related to fluid development: those located in the DCP were those which leaked after one year. The relationship of DCP MAs

with the development of DME has also been described by Hasegawa et al. [68]. In summary, 12 months after their description, MAs with a hyper-reflective pattern persisted on OCTA and were mainly located in the DCP.

Schaal et al., studied the agreement in the detection of DR signs on colour fundus photography (CFP) versus SS-OCTA. In patients with an ETDRS level  $\geq$  CFP, MAs were found in 90% of the cases, close to 91% of which were found with OCTA. They suggested that MAs are more apparent on the  $3 \times 3$  mm scan than on the  $12 \times 12$  scan due to the lower resolution [69]. Following their assessment of WF-OCTA, Tian and colleagues used  $12 \times 12$  mm scanning with different slabs for MAs. They analysed 247 eyes of patients with DM and detected MAs in 60.6% of the eyes using the retinal slab and 59.8% in the SCP slab, with no significant differences between them. No MAs were evaluated in the deep slab because of the poor details. This study provides similar results in relation to IRMAs [70].

Carnevali and colleagues did not find MAs in their DM1 patients or other anatomical changes. Their population was young (mean age  $22 \pm 2$  years) and had a short disease duration ( $11 \pm 4$  years) [71]. They only found rarefaction of the perifoveal capillary network in the SCP in 28% of their series. Park and colleagues evaluated the microvascular changes in the foveal and parafoveal areas in 64 patients with NDR and a mean age of  $61.0 \pm 9.34$  years. They identified MAs in only 9.38% of the cases. They found no association between changes in VD occurring in the different plexuses, disease duration, best corrected visual acuity (BCVA), FAZs, or analytical parameters (HbA1c, serum creatinine or e-GRF) [72].

In 2019, Thompson et al., found MAs in 60% of their patients, a small sample of DM2 with good glycaemic control and without DR signs [73].

### 3.1.2. Nonperfusion Areas

Loss of vascular perfusion is an indication of ischaemia. OCTA can evaluate both macular and peripheral retinas using WF strategies, including WF-OCTA. Macular ischaemia is related to VA in DM patients. NPAs were evaluated using automated quantification of the VD or the total area of vessel nonperfusion and with the FAZ diameter and changes.

FA shows NPA between the large retinal vessel. OCTA detected NPAs not only in the SCP, but also in the ICP and DCP (Figure 3C–F). OCTA clearly visualised the border between sparse capillary areas and dense capillary areas, with a sensitivity of 98% and specificity of 82%. Therefore, OCTA is a better procedure to detect capillary density than conventional FA [18,19,74]. This capillary density reduction is associated with remodelling and enlargement of the FAZ even before MAs, which are currently believed to be the first clinical sign of DR [75]. De Carlo et al. [30] reported changes in the FAZ (increased FAZ area and the presence of FAZ remodelling) and capillary nonperfusion in patients with DM with no signs of DR.

Loss of perfusion has been described in all plexuses, including the ICP [76]. Onishi et al. suggested a significant increase in NPAs in all three plexuses in the NPDR group compared with controls. Zhang et al., also identified a significant increase in superficial NPAs in DM patients without DR compared with controls [74,76]. The authors emphasise the importance of OCTA segmentation schemes that consider the ICP separately from the SCP and DCP. Simonett et al. [35], studying patients with DM1 and without DR or with mild NPDR, reported a decreased parafoveal VD (similar to parafoveal capillary nonperfusion) only in the DCP, with no changes in the FAZ area in either the SCP or DCP. Dimitrova et al. [31] documented a decreased parafoveal VD in the SCP and DCP and an increased FAZ area in the SCP in patients with DM (mostly in DM2) and no DR compared with control subjects. Choi et al. [77] documented retinal microvascular abnormalities (including capillary dropout, dilated capillary loops, tortuous capillary branches, patches of reduced capillary perfusion, irregular FAZ contours, and/or FAZ enlargement) in all 3 plexuses in 18 of the 51 eyes with DM and no clinical signs of DR (with no specification of DM type). Moreover, these authors reported focal or diffuse CC flow impairment in almost half of the evaluated patients without DR.

DM patients showed a progressive diminution of the capillary density with the severity of the ocular manifestations [28]. Severe NPDRs showed an increase in NPAs [78], enlarged spaces between the large and small vessels in the SCP and DCP with an increased and irregular FAZ. IRMAs and NVCs were more frequently associated with NPAs [79]. Vujosevic et al. indicated that both SCP and DCP are prematurely altered in patients with DM1 and without clinical signs of DR, whereas in patients with DM2, the DCP is the first affected plexus [48].

Although there are different results, NPAs and capillary dilation have been described as more prominent in the SCP, and MA is common in the DCP. Studies have revealed that the severity of vascular changes in the SCP is closely related to abnormalities in the SCP [78].

Nesper et al., described the percentage area of the retina and CC related to NPA. NPA was significantly correlated with disease stage when considering retinal vascular changes, but no significant correlation was found for CC [75,80].

Yasukura et al. studied differences between macular and extramacular NPAs related to arterial distribution [81]. They did not find differences in extramacular NPAs between severe NPDR and PDR. Eyes with PDR had significantly greater NPAs in the macular area than those with severe NPDR. They suggested that the extramacular region between two arteriolar branches is the most vulnerable to DM capillary loss [81].

OCTA demonstrated impaired perfusion within cotton-wool spots [21]. Extramacular cotton-wool spots (or white spots) are mostly associated with NPAs encompassing all retinal layers, in contrast to macular cotton-wool spots that are more associated with NPAs in the superficial layer only [80].

WF-OCTA demonstrates preferential location of NPAs along the main retinal arteries in all stages of DR. Tan et al., using  $12 \times 12$  WF-OCTA, found an increase in capillary dropout in the peripheral annulus that increases with the severity of DR. They suggested that the capillary dropout density in the peripheral subfield is the best parameter to discriminate between mild NPDR and DM patients without DR [82]. Diabetic microangiopathy is a midperipheral disease and firstly affects the temporal quadrants. The midperiphery has a smaller vascular supply (vascular plexuses merged from three to two plexuses), and the nasal quadrants are supplied by the radial peripapillary capillary plexus [83]. Ishibazawa et al. studied NPAs with OCT images and found that NPAs were more frequently adjacent to arterial vessels. They hypothesised that diabetic microangiopathy started near the arterial side, with no regard to the level of DR severity, and then progressed towards the venous side [84].

In addition, more pronounced vascular involvement in the DCP has been described, regardless of the stage of DR, which may be explained by the difference in the perfusion pressure between the SCP and the DCP [85].

Thus, the advantage of OCTA lies in its ability to detect both peripheral retinal non-perfusion and eventual peripheral active NV, which remains difficult to visualise clinically.

### 3.1.3. Ischaemia

DM patients exhibit a reduction in capillary density. Diabetic macular ischaemia (DMI) is associated with an enlargement and disruption of the FAZ and with retinal capillary dropout in noncontiguous areas of the macula, providing important clinical and prognostic information regarding disease severity and predicting DR progression [52,86–88]. Similar to FA, OCTA is capable of grading and quantifying DMI through several OCTA parameters, such as the perifoveal intercapillary area, total avascular area, or extrafoveal avascular area [89]. OCTA is better at detecting capillary density than conventional FA [18,19]. One of the key advantages of OCTA over FA is the ability to noninvasively detect DMI [90]. OCTA could even identify DMI in eyes with relatively few symptoms. The FAZ area in both the SCP and DCP increased with DR severity, and the FAZ area (at SCP) correlated with retinal sensitivity at baseline [91]. However, it remains unclear whether eyes with DMI detected by OCTA have higher risk of progressive visual loss the OCTA findings continue

to deteriorate over time. Loss of perfusion has been described in all plexuses. Authors agree that grading DMI in the three plexuses (SCP, ICP, and DCP) had a higher sensitivity and specificity for determining DR stage and comparing DR versus healthy controls [59] than full retinal angiograms [92]. Changes in the ICP are important to consider [76].

Significant deterioration in OCTA parameters over time in DR patients has been described. Kim et al. [57] recently reported that microvascular impairment is progressive even in early stages of DR. They observed SCP VD loss in 40 eyes with no DR or mild NPDR over a period of two years. However, DCP VD was not studied in this report [57]. Tsai et al. [91] observed a significant deterioration in the DCP parafoveal VD and SCP FAZ area in patients with various severities of DR at baseline over a one-year follow-up period. A larger DCP FAZ area at baseline was associated with a significant worsening of BCVA over one year. Similar to previous studies, Xie et al. [43] and Ragkousis et al. [56] observed a decrease in parafoveal vascular density as the disease progressed. In this sense, in addition to the density of the DCP, other parameters, such as the VD of the extrafoveal avascular area and the vessel length fraction of the DCP, appear to decrease with the severity of the disease [36]. Specifically, the vessel diameter index at the SCP and the VD in the DCP showed the best correlations with the severity of DR [36]. This finding not only provided evidence that OCTA parameters are able to predict visual outcomes in DR, but also suggests the importance of the detection and monitoring of DCP parameters in ischaemic conditions such as DR, as previously described.

Previous cross-sectional studies have correlated central visual loss in diabetic eyes with the degree of parafoveal capillary loss [50,51]. Such relationships are more prominent with alterations in the DCP than in the SCP [93,94]. Changes in the DCP have also been found to correlate better with DR severity than changes in the SCP [76]. These observations are supported by histologic studies that show higher vulnerability of the deep foveal plexus to endothelial injury [95]. Furthermore, there have been many reports highlighting DCP ischaemia, which is an important finding in DR. Scarinci et al. [96] suggested that nonperfusion of the DCP is associated with photoreceptor disruption in DMI. The flow density of CC in patients with severe DR seems to be associated with the severity of the disease because the flow decreases as the disease worsens [97]. Lee et al. [98] showed that a poor response to anti-VEGF agents in DME is associated with DCP damage but not SCP damage. An increase in DCP destruction with DR progression was also reported [99]. Early DCP vascular alterations were found, especially in DMI, which were evident even before the diagnosis of clinically detectable DR [71,100]. Moreover, VD in the fovea, parafovea, and peripapillary area and the flow area in the choroid was also reduced in DM2 patients without signs of DR [101,102]. The FAZ area and VD change more rapidly as DR progresses in the DCP than in the SCP during the progression of DR [47].

Tsai et al. [91] also demonstrated the predictive value of structural OCTA parameters in relation to visual outcomes beyond current established systemic risk factors. Larger baseline FAZ areas in the DPC were associated with worsening visual outcomes, and larger decreases in SCP VD were associated with worsening retinal sensitivity over one year. These associations support the use of OCTA in the early detection and monitoring of DMI. Additionally, it has been demonstrated that OCTA parameters such as larger FAZ areas and lower VD in DCP at baseline increase the likelihood of DR progression within two years [55].

Cao et al. found that OCTA can be a useful way to identify preclinical lesions in DM2 based on capillary perfusion. They found a decreased vessel density in the SCP, DCP, and CC in DM2 patients before having any DR signs, without changes in the FAZ area [103]. When analysing capillary perfusion in SCP, DCP, and CC in the 3 × 3 mm and 6 × 6 mm protocols, diabetic patients had significantly lower perfusion than the control group. Normal subjects had higher capillary perfusion rates than patients diagnosed with mild nonproliferative DR (NPDR) [104,105].

The identification of DCP by OCTA plays an important role in DMI. Minnella et al. studied eyes with DMI and demonstrated significantly increased perifoveal “no flow” areas

in both the SCP and DCP compared with controls, and Scarinci et al. found that these areas of DCP nonperfusion corresponded precisely with areas of outer retinal disruption on structural OCT imaging [96,106].

Furthermore, vascular complexity and morphology are evaluated by combining VD, fractal dimension, and vessel diameter and allow to define the state of DR. VD, defined as the ratio of blood vessel area to the total measured area, decreases in both SCP and DCP in patients with DR and in diabetic patients without DR [78,107].

Taewoong et al. [47] showed a deterioration in the FAZ area and VD in the SCP and DCP as DR progressed in both DM1 and DM2, similar to previous reports [23,108]. This deterioration was more prominent in DCP than in SCP, regardless of the diabetic type. However, in DM1, the deterioration of VD was delayed until the DR reached a severe NPDR stage, whereas there was a gradual decline in VD in DM2. This finding may be caused by differences in the pathophysiology of the two types of diabetes and may explain the different clinical manifestations [47].

Compared with eyes with mild and moderate NPDR, eyes with severe NPDR and PDR demonstrated a significant decrease in VD [86,109]. The superficial capillary network supplies the ganglion cell complex and inner nuclear layer; thus, a decreased superficial capillary network and loss of the ganglion cell complex have been detected [110].

Authors such as Wang et al. [111] and Agemy et al. [86] showed statistically significant reductions in VD in diabetic patients compared with controls using different approaches to calculate vascular density as a trend towards reducing vascular density with worsening severity of diabetic disease. Thus, the analysis of vessel density is associated with the degree of disease and risk of DR progression and may be a useful potential predictor of proliferative DR.

On the other hand, FD represents vascular complexity and microvascular morphology related to macular ischaemia in both SCP and DCP. Zahid et al. studied this entity and observed, DR patients showed a decrease in vascular density and increased fractal dimension with a greater average vascular calibre secondary to hypoxic conditions [7,53]. Ting et al. studied the capillary density index and FD in DM2 patients and reported a decrease in both SCP and DCP capillary density with DR progression and an increase in FD in both plexuses [108]. Moreover, receiver operating characteristic (ROC) curve analysis defined skeletonised FD, vessel length density, and vessel diameter index as the most effective parameters to detect glycaemic changes in DM2 patients [105].

FA images use the ETDRS protocols to grade DMI as follows: absent (no FAZ disruption), questionable (FAZ not smooth/oval, but no clear pathology), mild (<half FAZ circumference destroyed), moderate (>half FAZ circumference destroyed), severe (FAZ outline destroyed), or ungradable [10].

Several studies have compared OCT to the FA grading of DMI. Bradley et al., studied the reproducibility of the OCTA-based grading. SCP OCTA images were graded using the ETDRS protocols [88] and compared with FA images, at the DCP, this grading was absent (no disruption of FAZ), questionable (FAZ not smooth/oval, but no clear pathology), mild/moderate (FAZ disrupted in  $\leq 2$  quadrants), severe (FAZ disrupted in  $\geq 3$  quadrants), or ungradable (poor image quality, artefact). CC was graded as ischaemia present (loss of speckled hyper-reflectance or dark defects), ischaemia absent, or ungradable, and obtained substantial intergrader agreement in terms of the DMI grade acquired for the SCP, DCP, and CC [86].

### 3.1.4. Intraretinal Microvascular Abnormalities

OCTA can detect IRMA as intraretinal looping vessels of capillary origin with a larger calibre than the surrounding vessels with a flow that does not cross the internal limiting membrane (ILM), and they are usually located in areas with little or no perfusion [21,112] (Figure 3D,E). In contrast, NVE passes the ILM and protrudes into the vitreous cavity [85]. Matsunaga et al. described an increase in the calibre of the loops compared them to surrounding capillaries [21], and they described one case whose origin was a vessel with a

large diameter [21]. Their characteristics make it difficult to detect them in CFP [69]. Schaal and colleagues found that OCTA had a higher detection rate than CFP. They analysed two cohorts of diabetic eyes in a retrospective cross-sectional observational study, one using SS-OCTA grading and the other comparing OCTA and CFP. In patients with ETDRS severity levels over 43, OCTA was able to detect a significantly higher number of IRMAs (85% of the sample) than CFP (detected in only 35%). The inter-device agreement was only fair, with  $k = 0.2$ . They suggested that the presence of adjacent areas of capillary dropout helps to identify IRMA detection with OCTA compared with CFP. These researchers also compared three different slabs with  $12 \times 12$  WF-OCTA to detect DR findings. IRMAs were more frequently detected on the retinal slab but with no differences from the SCP slab [70]. Compared with FA, according to Arya et al. [113], OCTA achieved 99% specificity and 92% sensitivity. It might even be more accurate pictures, as it has no dye leakage that appears with FA and its ability to segment layers [112].

Furthermore, Cui et al. published a study [114] showing that ultra-widefield OCTA (UW-OCTA) was superior in the number of IRMAs detected per ultra-widefield CFP (UW-CFP) ( $p < 0.001$ ) and had almost 100% agreement ( $k = 0.916$ ) with ultra-widefield FA (UW-FA).

Regarding their distribution, Tian et al. [70] found no significant differences between the retinal and SCP slabs, detecting none in the SCP slab using the  $12 \times 12$  mm swept source OCTA (SS-OCTA) protocol.

The utility of OCTA in the follow-up of DR patients with IRMA before and after different therapies has also been evaluated. Sorour et al. [115] used it to study the structural changes in 45 IRMAs after anti-VEGF treatment compared with patients with similar DR who did not receive treatment. At the baseline visit, they characterised different morphologies (dilated trunk, loop, pigtail, sea-fan-shaped, and net-shaped) with higher complexity and more advanced pathology. However, they found no relationship between them, the number of injections and their response to treatment. The quantity of IRMA detected with OCTA has also been related to the severity of DM according to Kaoual et al. [116].

Shimouchi et al. [117] conducted a retrospective study in 46 eyes of 29 patients proposing a classification to standardise the changes after panretinal photocoagulation (PRP). They established five groups: unchanged, tuft regression, reperfusion, mixed, and worsening [118]. Those IRMAs that regressed were adjacent to areas of restored perfusion after PRP [117]. Russell et al. [119] also focused on changes after PRP in a prospective study of 20 patients. They found how four IRMAs detected in two different patients by FA, OCTA, and B-scan progressed to NV. The description of IRMAs as precursors of NV, although controversial, has been proposed and described in other investigations [120–122].

### 3.1.5. Neovascularization

Retinal NV is one of the key signs of PDR responsible for vision loss. Thus, early detection could improve visual prognosis [123]. Fundus eye exam, OCT, and FA have been used to identify NV [121]. FA has always been the gold standard to analyse NV. However, early leakage in FA prevents the exact assessment of NV areas, which can already be seen with OCTA [19,30,124]. OCTA imaging has become a useful tool for NV diagnosis [121]. OCTA can identify NV arising at the optic nerve (NVD) or in other retinal places (NVE). OCTA was also able to estimate NV activity (Figure 3F).

OCTA detects changes prior to the appearance of neovascularization and the presence of NV and assesses its progression, either in active or fibrotic NV. Onishi et al. discussed how the vascular changes “precursors of neovascularization” observed in the superficial plexus (dilatation, telangiectasia with high flows) can lead to a “steal phenomenon” increasing ischaemic phenomena in deeper plexuses [76].

Different authors have classified active NV by evaluating either the morphology of the NV and its origin [121,125] or blood flow and density maps [126]. One of the first descriptions of NV was given by Ishibazawa et al., characterising two different patterns both at the optic nerve and in other retinal places: one included exuberant vascular proliferation

with small and irregular new vessels, and the other was described as pruned NVs that did not show leakage at the FA [125]. Elbendary et al. categorised active NVD according to their morphology on OCT, OCTA, and B-scan [126]. Blood flow data and density maps were the main features used to determine NV activity. They defined three different patterns in disk NV depending on the blood flow observed in OCT (vascular, fibrovascular, or fibrous component), and two in NV elsewhere, branching vascular tufts that turned into pruned vessels after treatment, or a flow area associated with a smaller lesion, similar to those that Hwang described similar to MA [127] or to type 1 NVE described by Pan [121]. In 2018, Pan and colleagues studied NVD origins and found that it could originate either from the retinal artery or vein or from the choroid. They provided the most comprehensive classification of NVE types: type 1, the most frequent type, which arises from veins of the superficial plexus, and after reaching the posterior hyaloid, it branches forming a tree-like shape; type 2 is born from capillaries of deep vascular layers and presents as an octopus-like structure at the ILM; type 3 originates from veins located between the inner nuclear layer (INL) and GCL and creates sea-fan-like IRMAs [121]. These NVE types arise from capillary nonperfusion areas or close to them [121]. This venous origin contravenes previous studies where arteries were considered the origin of NVEs using FA [128].

In diabetic patients, OCTA is an effective tool to recognise poorly perfused or ischaemic areas at the margins of which NV is thought to arise both at the level of the optic disc, which has been most studied to date and has been related to a larger area of nonperfused retina, and other locations, despite being more frequent according to some studies [125]. Moreover, although the presence of NV is linked with diabetic retinopathy per se, several demographic factors, such as male sex and black ethnicity, are related to larger areas of NV [129].

OCTA imaging has shown clear advantages over traditional systems for NV. Nevertheless, recent studies have proven that WF-OCTA detects more NV areas than conventional OCTA [129]. In this sense, it is important to define the best protocol to detect most vascular alterations in retinal areas. Most of these lesions are located at the posterior pole or mid-periphery of the retina, and  $12 \times 12^\circ$  scans centred at the fovea and optic nerve and  $15 \times 9$  scans are the most useful scans to localise NVE [129]. Although no differences were found between these scans, the  $15 \times 9$  scan showed a greater number of artefacts [129]. Specifically, the detection rate of NV with  $15 \times 9$  scans was 34.6%, compared with the detection rate of 17.6% using a  $6 \times 6$  scan [129].

Thus, WF-OCTA has been proposed to be the only test necessary for the diagnosis and follow-up of NV because, taking FA as a reference, it has been demonstrated that fovea-centred WF-OCTA is able to reveal between 99.4% and 99.7% of NV [125]. Hirano and colleagues, using WF-OCTA with vitreoretinal interface segmentation, were able to detect NV in 84% of cases after manual segmentation. Automated segmentation with their devices had a 16% false-positive rate that diminished due to segmentation errors but was able to find nine NVs undetected with FA because of their small size [130]. Papayannis et al., using three new vitreo-retinal segmentation protocols with a Triton device, found a sensitivity and specificity in detecting NVD and NVE of 100% and 96.6%, respectively [124]. They used these new protocols to assess the activity of the NV.

On the other hand, Ishibazawa et al. observed and quantified the vascular changes (vascular density, ischaemia in the different plexuses) in NV and possible changes in the disc but did not confirm a correlated structural alteration [21,55,71]. Other changes in patients with NV were FAZ enlargement in both the SCP and DCP and/or nonperfusion areas [127].

### 3.1.6. Diabetic Macular Oedema

DME is the main cause of vision loss in patients with DR. Macular cysts are visualised on OCTA as hyporeflexive areas devoid of capillaries or flow signals with smooth borders [60,131]. They are located in the deep layers of the neurosensory retina [131]. Some concerns exist about the reliability of OCTA to visualise DCP in DME. The absence of

capillaries in the cysts of both plexuses may be secondary to the displacement of capillaries at the periphery of the cysts or to the preferential development of cysts in nonperfusion areas [19,132]. There are other possible factors related to the vascular changes in DME, such as the fluid attenuating the decorrelation signal from surrounding capillaries, the cyst exerting mechanical pressure on the vessel, or the capillaries being incompetent, leading to DME [23]. De Carlo et al., in 17 eyes, described the differences between cysts, with an oblong shape and smooth borders, devoid of flow and capillary nonperfusion with irregular borders and greyer hue [133].

Eyes with DR and DME are associated with reduced VD in OCTA compared with those with DR without DME [55,57]. They also present lower VD in the SCP and decreased perfusion of the DCP, revealing a more significant effect of oedema on macular perfusion at the level of the DCP and greater macular ischaemia at the deep retinal layers [55,132]. Kim and colleagues found different data depending on the DR grade. Diabetic patients with mild NPDR, with and without DME, showed that those with DME (8/32) had a lower VD, skeletal density, and fractal dimension in both superficial and deep retinal layers (60% of the inner retina vs. 40% of the outer retina) with a higher vessel density index in the deep retina layers [23]. Severe NPDR with DME (13/16) showed only a greater VD index in the deep retina layer, and patients with PDR with and without DME (24/36) showed no differences in the studied parameters [23]. Ting et al. also found a diminution in capillary density index in DM2 patients with DME in both the SCP (0.344 vs. 0.347) and DCP (0.349 vs. 0.357), but these differences did not reach statistical significance [108]. Mane and colleagues, studying 24 eyes with chronic diabetic cystoid macular oedema, described that the cysts were surrounded by capillary dropout areas in 71% and 96% of the cases in the SCP and DCP, respectively, with a diminished VD [134]. Sun et al. studied OCTA biomarkers for the progression of DR or development of DME. Patients with lower VD in the SCP were at higher risk of developing DME [55]. In DME, there is an imbalance between the liquid entering and exiting the retina. The leakage could proceed from the SCP, but the Müller cells and the DCP may be involved in removal. The DCP is the main venous outflow system, and its damage could generate DME [135].

Samara et al. [51] determined a significant enlargement of the FAZ area in diabetic eyes with DME at both the SCP and DCP, compared with the control group, and at the SRL when compared with diabetic eyes without DME. As previous studies, such as that of Balaratnasingam et al. [49], have observed, a significant correlation between FAZ area and VA in diabetic eyes with macular oedema existed with decreased VA in the larger FAZ area at both the superficial and deep retinal plexus [132]. Di et al. also described a larger FAZ in patients with DME than in DM patients without DME [33].

Additionally, VD at the SRL could be a predictive tool for VA in diabetic eyes with DME; a significant negative correlation is observed between VD at the SRL and LogMAR VA [132].

Spaces are surrounded by capillary nonperfusion, which shows no evidence of reperfusion after the resolution of DME [19], suggesting that DME might preferentially develop in areas of ischaemia. Mane and colleagues also described that after DME resolution, capillary density remained almost the same without reperfusion [134]. The same findings were reported by Ghasemi Falavarjani et al., in 13 DME patients after a single intravitreal injection, with no changes in capillary density or FAZ area [136]. Lee and colleagues described the response to anti-VEGF treatment. DM patients who did not respond to anti-VEGF therapy were those with damage to the integrity of the DCP but not the SCP, including lower flow density, larger FAZ, and a higher number of MAs [98]. They discussed the mechanism between the decrease in flow density in the DCP and the resistance to anti-VEGF treatment.

MAs in the DCP are thought to contribute to DME pathogenesis, with correlations between macular volume and MA density of the DCP [68]. They may also contribute to therapy, finding that the greater the MA proportion and the larger the FAZ area in the DCP, the worse the response to anti-VEGF therapy [137].

Some studies, such as Sun et al. [55], postulate that OCTA metrics provide independent risk information on microvasculature and could improve predictive discrimination for both DR progression and DME development compared with traditional, established risk. In their 2-year follow-up study, although they found changes in the DCP VD and FAZ, DME development was related to the VD of the SCP. However, OCTA metrics of the DCP were related to DR progression. They pointed out some limitations in their study but highlighted the role of OCTA metrics.

Further studies are needed to elucidate whether DME vascular changes are secondary to oedema and other OCTA risk biomarkers for DME.

### 3.1.7. OCTA, DR and Deep Learning

There are significant differences between current multimodal devices and image processing methods, and reference ranges have not been established. Thus, some authors use artificial intelligence (AI), including deep learning (DL), to evaluate OCTA images; this is a machine learning technique which learns representations of data based on computational models with more efficient and precise results, and has already been applied to other ocular conditions [138]. In fact, the combination of AI models using OCT, OCTA and multimodal images appears to be more precise to detect changes in diabetic patients than the OCT AI model [139].

Guo et al., used DL to detect the NPA [140] using a multi-scale feature extraction capability to segment them from OCTA  $6 \times 6 \text{ m}^2$  images, with great specificity and sensitivity and excellent performance (F1-score > 80%). This model was valid for different DR severities or image qualities (dice coefficient > 0.87) and was able to detect signal reduction artefacts [141].

Different DL-models assess OCTA image quality assessment [142], object segmentation [143], and quantification [144], with high accuracies. Ryu et al. developed a convolutional neural network (CNN) model classification algorithm with a sensitivity of 86–97%, a specificity of 94–99%, and an accuracy of 91–98% to diagnose DR through OCTA [145]. Le et al.'s DL classifier differentiated among healthy, no DR, and DR eyes with 83.76% sensitivity, 90.82% specificity, and an 87.27% accuracy [146] and Heisler et al. achieved an accuracy of between 90% and 92% [147]. Other DL techniques have shown an AUC of 0.91 to differentiate diabetic patients without DR from those with DR and an AUC of 0.8 to diagnose DR from non-diabetic patients [139]. This AUC was increased up to 92.33% in the DL model of Alam et al. to distinguish controls from DR [148].

Nazir et al.'s DL study was able to identify different severities of the DR based on local tetragonal OCTA patterns [149]. Hwang et al., suggested that the automated quantification of non-perfusion areas using projection-resolved OCTA is able to distinguish levels of DR [87]. Nagasawa and colleagues used a combination of UW fundus ophthalmoscopy and OCTA to stage DR [150]. They obtained a DL algorithm with sensitivities of 78.6% and 80.4% and specificities of 69.8% and 96.8% to distinguish NDR and DR and NPDR from PDR, respectively. These high percentages were, in part, related to Optos accuracy.

Xiong et al. compared commercial software measuring extrafoveal vessel density (EVD) with a DL-based macular extrafoveal avascular area (EAA) on  $6 \times 6 \text{ mm}$  OCTA and demonstrated a better DR severity diagnostic accuracy; the results seem to be less conditioned by the signal strength and shadow artefacts [151]. Moreover, AI enabled the obtaining of OCTA images with less noise in order to analyse different vascular parameters more correctly, such as vessel density or fractal dimension [152]. Alam et al. also analysed several vascular parameters, and the algorithm that combined all of them reached 94.45% sensitivity, 92.29% specificity, and 92.96% accuracy in identifying mild NPDR with respect to the controls [38]. Among them, the vessel density obtained the best sensitivity to detect DR (with an accuracy of 93.89%) [38]. Otherwise, Detectron2, a new DL model, accurately measured the FAZ in diabetic eyes in a similar way to manual measurements [18].

Classifications of different stages of DR with OCTA DL models have obtained values of AUC of 0.865. Nevertheless, the combination of both OCT and OCTA images, and

clinical and demographic data, reached the best AUC (0.96) [148]. The use of this new technique provides the possibility of early detection and may help in DR progression assessments with great accuracy and reliability, evaluating large amounts of data in a short time and reducing human labour, playing a key role in OCTA image analysis of this developing pathology. Multi-ethnic individuals with millions of samples are required to train DL-OCTA devices.

#### 4. Summary and Conclusions

OCTA can provide a large number of findings about the retinal capillary layers and CC in DM patients even without signs of DR. OCTA offers advantages over FA, because it is a non-invasive and faster assessment that can be used as a routine exploration. A variety of metrics can be obtained, including FAZ, acircularity index, axis ratio, VD, NV, and other vascular parameters, such as fractal dimension, vessel tortuosity, or skeleton density, that can be considered markers of the disease and progression. Due to variability between subjects, OCTA results differ from one study to another.

We performed a systematic review of the studies published in this field. We checked for other papers missing after the review process, but some information could have been missed.

Development and improvements in OCTA devices, such as the protocols, the studied field, acquisition speed, and automatically performed measurements including FAZ measurements and irregularity, density, and flow index, and other quantitative features including blood vessel calibre, tortuosity, vessel branching coefficient, and angle, etc., are important clinical benefits in the diagnosis and control of both preclinical and clinical DR. It will offer great advantages in detecting vascular changes, NPA, or NV, not only at the macula, but also at the periphery with WF-OCTA, which could change the diagnosis and disease management.

Several studies have detected potential OCTA biomarkers for DR development or for treatment response. OCTA with multimodal images and systemic biomarkers may guide follow-up and treatment options as well as vascular changes after treatment response. More studies are needed to address the importance of all these factors.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/biomedicines10010088/s1>, File S1: Morphology of the retinal and choroidal blood vessels.

**Author Contributions:** A.B.-M. and I.P. selected the papers. A.B.-M., H.A.-A., E.O.-H., M.D.D.-B. and I.P. analysed and interpreted the selected data regarding the ophthalmic disease. A.B.-M., H.A.-A., M.D.D.-B., E.O.-H. and I.P. were major contributors in writing the manuscript. A.S.-C., A.F. and N.C. made substantial contributions to the drafting and revision of the work. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** Spanish Ministry of Universities (FPU18/02964) and the Health Research Fund Instituto de Salud Carlos III (Fondo de Investigación Sanitaria, Spanish Ministry of Health) PI20/00740.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Acknowledgments:** This research was funded by the Instituto de Salud Carlos III Ocular Pathology National project PI20/00740, the General Council of Aragon (Diputación General de Aragón) Group B08\_20R and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) funds: "Una manera de hacer Europa".

**Conflicts of Interest:** All authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organisation or entity with any financial interest or non-financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

## References

1. Saeedi, P.; Petersohn, I.; Salpea, P.; Malanda, B.; Karuranga, S.; Unwin, N.; Colagiuri, S.; Guariguata, L.; Motala, A.A.; Ogurtsova, K.; et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2019**, *157*, 107843. [CrossRef] [PubMed]
2. Shaw, J.E.; Sicree, R.A.; Zimmet, P.Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2010**, *87*, 4–14. [CrossRef]
3. Sabanayagam, C.; Banu, R.; Chee, M.L.; Lee, R.; Wang, Y.X.; Tan, G.; Jonas, J.B.; Lamoureux, E.L.; Cheng, C.-Y.; Klein, B.E.K.; et al. Incidence and progression of diabetic retinopathy: A systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **2019**, *7*, 140–149. [CrossRef]
4. Harding, J.L.; Pavkov, M.E.; Magliano, D.J.; Shaw, J.E.; Gregg, E.W. Global trends in diabetes complications: A review of current evidence. *Diabetologia* **2019**, *62*, 3–16. [CrossRef]
5. Williams, R.; Airey, M.; Baxter, H.; Forrester, J.; Kennedy-Martin, T.; Girach, A. Epidemiology of diabetic retinopathy and macular oedema: A systematic review. *Eye* **2004**, *18*, 963–983. [CrossRef] [PubMed]
6. Fong, D.S.; Aiello, L.P.; Ferris, F.L.; Klein, R. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* **2004**, *27*, 2540–2553. [CrossRef]
7. Safi, H.; Safi, S.; Hafezi-Moghadam, A.; Ahmadi, H. Early detection of diabetic retinopathy. *Surv. Ophthalmol.* **2018**, *63*, 601–608. [CrossRef]
8. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy: ETDRS report number 12. *Ophthalmology* **1991**, *98*, 823–833. [CrossRef]
9. Wilkinson, C.; Ferris, F.; Klein, R.; Lee, P.; Agardh, C.D.; Davis, M.; Dills, D.; Kampik, A.; Pararajasegaram, R.; Verdaguier, J.T. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* **2003**, *110*, 1677–1682. [CrossRef]
10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Classification of diabetic retinopathy from fluorescein angiograms: ETDRS report number 11. *Ophthalmology* **1991**, *98*, 807–822. [CrossRef]
11. Kwan, A.S.L.; Barry, C.; McAllister, I.L.; Constable, I. Fluorescein angiography and adverse drug reactions revisited: The Lions Eye experience. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* **2006**, *34*, 33–38. [CrossRef]
12. Hogan, M.J.; Alvarado, J.A.; Wedell, J. Retina. In *Histology of the Human Eye*; Hogan, M.J., Alvarado, J.A., Wedell, J.E., Eds.; Saunders: Philadelphia, PA, USA, 1971; pp. 508–519.
13. Provis, J.M. Development of the primate retinal vasculature. *Prog. Retin. Eye Res.* **2001**, *20*, 799–821. [CrossRef]
14. Snodderly, D.M.; Weinhaus, R.S.; Choi, J.C. Neural-vascular relationships in central retina of macaque monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Neurosci.* **1992**, *12*, 1169–1193. [CrossRef] [PubMed]
15. Hayreh, S. Physiological anatomy of the retinal vasculature. In *Immunology, Inflammation and Diseases of the Eye*; Dartt, D., D'Amore, P., Niederkorn, J., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2010; pp. 207–212.
16. Campbell, J.P.; Zhang, M.; Hwang, T.; Bailey, S.T.; Wilson, D.J.; Jia, Y.; Huang, D. Detailed Vascular Anatomy of the Human Retina by Projection-Resolved Optical Coherence Tomography Angiography. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–11. [CrossRef] [PubMed]
17. Cuenca, N.; Ortuño-Lizarán, I.; Sánchez-Sáez, X.; Kutsyr, O.; Albertos-Arranz, H.; Fernández-Sánchez, L.; Gil, N.M.; Noailles, A.; López-Garrido, J.A.; López-Gálvez, M.; et al. Interpretation of OCT and OCTA images from a histological approach: Clinical and experimental implications. *Prog. Retin. Eye Res.* **2020**, *77*, 100828. [CrossRef] [PubMed]
18. Ishibazawa, A.; Nagaoka, T.; Takahashi, A.; Omae, T.; Tani, T.; Sogawa, K.; Yokota, H.; Yoshida, A. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: A prospective pilot study. *Am. J. Ophthalmol.* **2015**, *160*, 35–44.e1. [CrossRef]
19. Couturier, A.; Mané, V.; Bonnin, S.; Erginay, A.; Massin, P.; Gaudric, A.; Tadayoni, R. Capillary plexus anomalies in diabetic retinopathy on optical coherence tomography angiography. *Retina* **2015**, *35*, 2384–2391. [CrossRef]
20. Nghiem-Buffet, S.; Ayrault, A.; Delahaye-Mazza, C.; Grenet, T.; Quentel, G.; Fajnkuchen, F.; Cohen, S.Y. OCT-Angiography. *Neovascularization, Edema, Schema and Degeneration*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2017; pp. 14–15.
21. Matsunaga, D.R.; Yi, J.J.; De Koo, L.O.; Ameri, H.; Puliafito, C.A.; Kashani, A.H. Optical Coherence Tomography Angiography of Diabetic Retinopathy in Human Subjects. *Ophthalmic. Surg. Lasers Imaging. Retin.* **2015**, *46*, 796–805. [CrossRef]
22. Bandello, F.; Corbelli, E.; Carnevali, A.; Pierro, L.; Querques, G. Optical Coherence Tomography Angiography of Diabetic Retinopathy. *Dev. Ophthalmol.* **2016**, *56*, 107–112.
23. Kim, A.Y.; Chu, Z.; Shahidzadeh, A.; Wang, R.K.; Puliafito, C.A.; Kashani, A.H. Quantifying Microvascular Density and Morphology in Diabetic Retinopathy Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography Angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, 362–370. [CrossRef] [PubMed]
24. Li, X.; Xie, J.; Zhang, L.; Cui, Y.; Zhang, G.; Chen, X.; Wang, J.; Zhang, A.; Huang, T.; Meng, Q. Identifying microvascular and neural parameters related to the severity of diabetic retinopathy using optical coherence tomography angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2020**, *61*, 39. [CrossRef] [PubMed]
25. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* **2021**, *372*, n71. [CrossRef]
26. Conrath, J.; Giorgi, R.; Raccach, D.; Ridings, B. Foveal avascular zone in diabetic retinopathy: Quantitative vs qualitative assessment. *Eye* **2005**, *19*, 322–326. [CrossRef]
27. Bresnick, G.H.; Condit, R.; Syrjala, S.; Palta, M.; Groo, A.; Korth, K. Abnormalities of the foveal avascular zone in diabetic retinopathy. *Arch. Ophthalmol.* **1984**, *102*, 1286–1293. [CrossRef]

28. Soares, M.; Neves, C.; Marques, I.; Pires, I.; Schwartz, C.; Costa, M.Á.; Santos, T.; Durbin, M.; Cunha-Vaz, J. Comparison of diabetic retinopathy classification using fluorescein angiography and optical coherence tomography angiography. *Br. J. Ophthalmol.* **2017**, *101*, 62–68. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. You, Q.S.; Wang, J.; Guo, Y.; Pi, S.; Flaxel, C.J.; Bailey, S.T.; Huang, D.; Jia, Y.; Hwang, T.S. Optical Coherence Tomography Angiography Avascular Area Association With 1-Year Treatment Requirement and Disease Progression in Diabetic Retinopathy. *Am. J. Ophthalmol.* **2020**, *217*, 268–277. [[CrossRef](#)]
30. De Carlo, T.E.; Chin, A.T.; Filho, M.A.B.; Adhi, M.; Branchini, L.; Salz, D.A.; Baumal, C.R.; Crawford, C.; Reichel, E.; Witkin, A.J.; et al. Detection of microvascular changes in eyes of patients with diabetes but not clinical diabetic retinopathy using optical coherence tomography angiography. *Retina* **2015**, *35*, 2364–2370. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Dimitrova, G.; Chihara, E.; Takahashi, H.; Amano, H.; Okazaki, K. Quantitative retinal optical coherence tomography angiography in patients with diabetes without diabetic retinopathy. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2017**, *58*, 190–196. [[CrossRef](#)]
32. Takase, N.; Nozaki, M.; Kato, A.; Ozeki, H.; Yoshida, M.; Ogura, Y. Enlargement of foveal avascular zone in diabetic eyes evaluated by en face optical coherence tomography angiography. *Retina* **2015**, *35*, 2377–2383. [[CrossRef](#)]
33. Di, G.; Weibong, Y.; Xiao, Z.; Zhikun, Y.; Xuan, Z.; Yi, Q.; Fangtian, D. A morphological study of the foveal avascular zone in patients with diabetes mellitus using optical coherence tomography angiography. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **2016**, *254*, 873–879. [[CrossRef](#)]
34. Ciloglu, E.; Unal, F.; Sukgen, E.A.; Koçluk, Y. Evaluation of Foveal Avascular Zone and Capillary Plexuses in Diabetic Patients by Optical Coherence Tomography Angiography. *Korean J. Ophthalmol.* **2019**, *33*, 359–365. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Simonett, J.M.; Scarinci, F.; Picconi, F.; Giorno, P.; De Geronimo, D.; Di Renzo, A.; Varano, M.; Frontoni, S.; Parravano, M. Early microvascular retinal changes in optical coherence tomography angiography in patients with type 1 diabetes mellitus. *Acta Ophthalmol.* **2017**, *95*, e751–e755. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Wang, X.; Han, Y.; Sun, G.; Yang, F.; Liu, W.; Luo, J.; Cao, X.; Yin, P.; Myers, F.L.; Zhou, L. Detection of the Microvascular Changes of Diabetic Retinopathy Progression Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Transl. Vis. Sci. Technol.* **2021**, *10*, 31. [[CrossRef](#)]
37. Krawitz, B.D.; Phillips, E.; Bavier, R.D.; Mo, S.; Carroll, J.; Rosen, R.B.; Chui, T.Y.P. Parafoveal nonperfusion analysis in diabetic retinopathy using optical coherence tomography angiography. *Transl. Vis. Sci. Technol.* **2018**, *7*, 4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Alam, M.; Zhang, Y.; Lim, J.L.; Chan, R.V.P.; Yang, M.; Yao, X. Quantitative optical coherence tomography angiography features for objective classification and staging of diabetic retinopathy. *Retina* **2020**, *40*, 322–332. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Lu, Y.; Simonett, J.M.; Wang, J.; Zhang, M.; Hwang, T.; Hagag, A.; Huang, D.; Li, D.; Jia, Y. Evaluation of Automatically Quantified Foveal Avascular Zone Metrics for Diagnosis of Diabetic Retinopathy Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2018**, *59*, 2212–2221. [[CrossRef](#)]
40. Rabiolo, A.; Cicinelli, M.V.; Corbelli, E.; Baldin, G.; Carnevali, A.; Lattanzio, R.; Querques, L.; Bandello, F.; Querques, G. Correlation Analysis between Foveal Avascular Zone and Peripheral Ischemic Index in Diabetic Retinopathy: A Pilot Study. *Ophthalmol. Retin.* **2018**, *2*, 46–52. [[CrossRef](#)]
41. Xu, X.; Chen, C.; Ding, W.; Yang, P.; Lu, H.; Xu, F.; Lei, J. Automated quantification of superficial retinal capillaries and large vessels for diabetic retinopathy on optical coherence tomographic angiography. *J. Biophotonics* **2019**, *12*, e201900103. [[CrossRef](#)]
42. Wang, F.; Saraf, S.S.; Zhang, Q.; Wang, R.K.; Rezaei, K.A. Ultra-Widefield Protocol Enhances Automated Classification of Diabetic Retinopathy Severity with OCT Angiography. *Ophthalmol. Retin.* **2020**, *4*, 415–424. [[CrossRef](#)]
43. Xie, N.; Tan, Y.; Liu, S.; Xie, Y.; Shuai, S.; Wang, W.; Huang, W. Macular vessel density in diabetes and diabetic retinopathy with swept-source optical coherence tomography angiography. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **2020**, *258*, 2671–2679. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Rosen, R.B.; Romo, J.A.; Krawitz, B.D.; Mo, S.; Fawzi, A.; Linderman, R.; Carroll, J.; Pinhas, A.; Chui, T.Y. Earliest Evidence of Preclinical Diabetic Retinopathy Revealed Using Optical Coherence Tomography Angiography Perfused Capillary Density. *Am. J. Ophthalmol.* **2019**, *203*, 103–115. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Agra, C.L.D.M.; Lira, R.P.C.; Pinheiro, F.G.; Sá, L.H.S.E.; Bravo Filho, V.T.F. Optical coherence tomography angiography: Microvascular alterations in diabetic eyes without diabetic retinopathy. *Arq. Bras. Oftalmol.* **2021**, *84*, 149–157. [[CrossRef](#)]
46. Oliverio, G.W.; Ceravolo, I.; Bhatti, A.; Trombetta, C.J. Foveal avascular zone analysis by optical coherence tomography angiography in patients with type 1 and 2 diabetes and without clinical signs of diabetic retinopathy. *Int. Ophthalmol.* **2021**, *41*, 649–658. [[CrossRef](#)]
47. Um, T.; Seo, E.J.; Kim, Y.J.; Yoon, Y.H. Optical coherence tomography angiography findings of type 1 diabetic patients with diabetic retinopathy, in comparison with type 2 patients. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **2020**, *258*, 281–288. [[CrossRef](#)]
48. Vujosevic, S.; Muraca, A.; Alkabes, M.; Villani, E.; Cavarzeran, F.; Rossetti, L.; De Cilla, S. Early microvascular and neural changes in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus without clinical signs of diabetic retinopathy. *Retina* **2019**, *39*, 435–445. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Balaratnasingam, C.; Inoue, M.; Ahn, S.; McCann, J.; Dhrami-Gavazi, E.; Yannuzzi, L.A.; Freund, K.B. Visual Acuity Is Correlated with the Area of the Foveal Avascular Zone in Diabetic Retinopathy and Retinal Vein Occlusion. *Ophthalmology* **2016**, *123*, 2352–2367. [[CrossRef](#)]
50. DaCosta, J.; Bhatia, D.; Talks, J. The use of optical coherence tomography angiography and optical coherence tomography to predict visual acuity in diabetic retinopathy. *Eye* **2020**, *34*, 942–947. [[CrossRef](#)]

51. Samara, W.A.; Shahlaee, A.; Adam, M.; Khan, M.A.; Chiang, A.; Maguire, J.L.; Hsu, J.; Ho, A.C. Quantification of Diabetic Macular Ischemia Using Optical Coherence Tomography Angiography and Its Relationship with Visual Acuity. *Ophthalmology* **2017**, *124*, 235–244. [\[CrossRef\]](#)
52. Krawitz, B.D.; Mo, S.; Geyman, L.S.; Agemy, S.A.; Scripsema, N.K.; Garcia, P.M.; Chui, T.Y.; Rosen, R.B. Acircularity index and axis ratio of the foveal avascular zone in diabetic eyes and healthy controls measured by optical coherence tomography angiography. *Vison Res.* **2017**, *139*, 177–186. [\[CrossRef\]](#)
53. Zahid, S.; Dolz-Marco, R.; Freund, K.B.; Balaratnasingam, C.; Dansingani, K.; Gilani, F.; Mehta, N.; Young, E.; Klift, M.R.; Chae, B.; et al. Fractal dimensional analysis of optical coherence tomography angiography in eyes with diabetic retinopathy. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, 4940–4947. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
54. Tang, F.Y.; Ng, D.S.; Lam, A.; Luk, F.; Wong, R.; Chan, C.; Mohamed, S.; Fong, A.; Lok, J.; Tso, T.; et al. Determinants of Quantitative Optical Coherence Tomography Angiography Metrics in Patients with Diabetes. *Sci Rep.* **2017**, *7*, 2575. [\[CrossRef\]](#)
55. Sun, Z.; Tang, F.; Wong, R.; Lok, J.; Szeto, S.K.H.; Chan, J.C.K.; Chan, C.K.M.; Tham, C.C.; Ng, D.S.; Cheung, C.Y. OCT Angiography Metrics Predict Progression of Diabetic Retinopathy and Development of Diabetic Macular Edema: A Prospective Study. *Ophthalmology* **2019**, *126*, 1675–1684. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
56. Raghousis, A.; Kozobolis, V.; Kabanarou, S.; Bontzos, G.; Mangouritsas, G.; Heliopoulos, I.; Chatziralli, I. Vessel Density around Foveal Avascular Zone as a Potential Imaging Biomarker for Detecting Preclinical Diabetic Retinopathy: An Optical Coherence Tomography Angiography Study. *Semin. Ophthalmol.* **2020**, *35*, 316–323. [\[CrossRef\]](#)
57. Kim, K.; Kim, E.S.; Kim, D.G.; Yu, S.-Y. Progressive retinal neurodegeneration and microvascular change in diabetic retinopathy: Longitudinal study using OCT angiography. *Acta Diabetol.* **2019**, *56*, 1275–1282. [\[CrossRef\]](#)
58. Kim, K.; Kim, E.S.; Yu, S.-Y. Optical coherence tomography angiography analysis of foveal microvascular changes and inner retinal layer thinning in patients with diabetes. *Br. J. Ophthalmol.* **2018**, *102*, 1226–1231. [\[CrossRef\]](#)
59. Park, J.J.; Soetikno, B.T.; Fawzi, A.A. Characterization of the middle capillary plexus using optical coherence tomography angiography in healthy and diabetic eyes. *Retina* **2016**, *36*, 2039–2050. [\[CrossRef\]](#)
60. Salz, D.A.; De Carlo, T.E.; Adhi, M.; Moul, E.M.; Choi, W.; Bauman, C.R.; Witkin, A.J.; Duker, J.S.; Fujimoto, J.G.; Waheed, N.K. Select Features of Diabetic Retinopathy on Swept-Source Optical Coherence Tomographic Angiography Compared With Fluorescein Angiography and Normal Eyes. *JAMA Ophthalmol.* **2016**, *134*, 644–650. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
61. Statten, M.; Haas, A.-M.; Ahmed, D.; Stolba, U.; Graf, A.; Krepler, K.; Ansari-Shahrezaei, S. Detection rate of diabetic macular microaneurysms comparing dye-based angiography and optical coherence tomography angiography. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 16274. [\[CrossRef\]](#)
62. Parrulli, S.; Corvi, F.; Cozzi, M.; Monteduro, D.; Zicarelli, F.; Staurengi, G. Microaneurysms visualisation using five different optical coherence tomography angiography devices compared to fluorescein angiography. *Br. J. Ophthalmol.* **2021**, *105*, 526–530. [\[CrossRef\]](#)
63. Hamada, M.; Ohkoshi, K.; Inagaki, K.; Ebihara, N.; Murakami, A. Visualization of microaneurysms using optical coherence tomography angiography: Comparison of OCTA en face, OCT B-scan, OCT en face, FA, and IA images. *Jpn. J. Ophthalmol.* **2018**, *62*, 168–175. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
64. Parravano, M.; De Geronimo, D.; Scarinci, F.; Querques, L.; Virgili, G.; Simonetti, J.M.; Varano, M.; Bandello, F.; Querques, G. Diabetic Microaneurysms Internal Reflectivity on Spectral-Domain Optical Coherence Tomography and Optical Coherence Tomography Angiography Detection. *Am. J. Ophthalmol.* **2017**, *179*, 90–96. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
65. Byeon, S.H.; Chu, Y.K.; Hong, Y.T.; Kim, M.; Kang, H.M.; Kwon, O.W. New insights into the pathoanatomy of diabetic macular edema: Angiographic patterns and optical coherence tomography. *Retina* **2012**, *32*, 1087–1099. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
66. Parravano, M.; De Geronimo, D.; Scarinci, F.; Virgili, G.; Querques, L.; Varano, M.; Bandello, F.; Querques, G. Progression of Diabetic Microaneurysms According to the Internal Reflectivity on Structural Optical Coherence Tomography and Visibility on Optical Coherence Tomography Angiography. *Am. J. Ophthalmol.* **2019**, *198*, 8–16. [\[CrossRef\]](#)
67. Stitt, A.W.; Gardiner, T.A.; Archer, D.B. Histological and ultrastructural investigation of retinal microaneurysm development in diabetic patients. *Br. J. Ophthalmol.* **1995**, *79*, 362–367. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
68. Hasegawa, N.; Nozaki, M.; Takase, N.; Yoshida, M.; Ogura, Y. New insights into microaneurysms in the deep capillary plexus detected by optical coherence tomography angiography in diabetic macular edema. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, 348–355. [\[CrossRef\]](#)
69. Schaal, K.B.; Munk, M.R.; Wyssmueller, I.; Berger, L.E.; Zinkernagel, M.S.; Wolf, S. Vascular abnormalities in diabetic retinopathy assessed with swept-source optical coherence tomography angiography widefield imaging. *Retina* **2019**, *39*, 79–87. [\[CrossRef\]](#)
70. Tian, M.; Wolf, S.; Munk, M.R.; Schaal, K.B. Evaluation of different Swept-Source optical coherence tomography angiography (SS-OCTA) slabs for the detection of features of diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol.* **2020**, *98*, e416–e420. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
71. Carnevali, A.; Sacconi, R.; Corbelli, E.; Tomasso, L.; Querques, L.; Zerbini, G.; Scordia, V.; Bandello, F.; Querques, G. Optical coherence tomography angiography analysis of retinal vascular plexuses and choriocapillaris in patients with type 1 diabetes without diabetic retinopathy. *Acta Diabetol.* **2017**, *54*, 695–702. [\[CrossRef\]](#)
72. Park, Y.G.; Kim, M.; Roh, Y.J. Evaluation of Foveal and Parafoveal Microvascular Changes Using Optical Coherence Tomography Angiography in Type 2 Diabetes Patients without Clinical Diabetic Retinopathy in South Korea. *J. Diabetes Res.* **2020**, *2020*, 6210865. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

73. Thompson, L.A.; Durrani, A.K.; Patel, S. Optical coherence tomography angiography characteristics in diabetic patients without clinical diabetic retinopathy. *Eye* **2019**, *33*, 648–652. [[CrossRef](#)]
74. Zhang, A.; Zhang, Q.; Chen, C.-L.; Wang, R.K. Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: A review and comparison. *J. Biomed. Opt.* **2015**, *20*, 100901. [[CrossRef](#)]
75. Coscas, G.; Lupidi, M.; Coscas, F.; Chhablani, J.; Cagini, C. Optical Coherence Tomography Angiography in Healthy Subjects and Diabetic Patients. *Ophthalmologica* **2018**, *239*, 61–73. [[CrossRef](#)]
76. Onishi, A.C.; Nesper, P.L.; Roberts, P.K.; Moharram, G.A.; Chai, H.; Liu, L.; Jampol, L.M.; Fawzi, A.A. Importance of considering the middle capillary plexus on OCT angiography in diabetic retinopathy. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2018**, *59*, 2167–2176. [[CrossRef](#)]
77. Choi, W.; Waheed, N.K.; Moul, E.M.; Adhi, M.; Lee, B.; De Carlo, T.; Jayaraman, V.; Bauman, C.R.; Duker, J.S.; Fujimoto, J.G. Ultrahigh speed swept source optical coherence tomography angiography of retinal and choriocapillaris alterations in diabetic patients with and without retinopathy. *Retina* **2017**, *37*, 11–21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. You, Q.S.; Freeman, W.R.; Weinreb, R.N.; Zangwill, L.; Manalastas, P.L.C.; Saunders, L.J.; Nudleman, E. Reproducibility of vessel density measurements with optical coherence tomography angiography in eyes without retinopathy. *Retina* **2017**, *37*, 1475–1482. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
79. Vaz-Pereira, S.; Morais-Sarmiento, T.; Esteves Marques, R. Optical coherence tomography features of neovascularization in proliferative diabetic retinopathy: A systematic review. *Int. J. Retin. Vitre.* **2020**, *6*, 26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
80. Nesper, P.L.; Roberts, P.K.; Onishi, A.C.; Chai, H.; Liu, L.; Jampol, L.M.; Fawzi, A.A. Quantifying Microvascular Abnormalities With Increasing Severity of Diabetic Retinopathy Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2017**, *58*, 307–315. [[CrossRef](#)]
81. Yasukura, S.; Murakami, T.; Suzuma, K.; Yoshitake, T.; Nakanishi, H.; Fujimoto, M.; Oishi, M.; Tsujikawa, A. Diabetic Nonperfused Areas in Macular and Extramacular Regions on Wide-Field Optical Coherence Tomography Angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2018**, *59*, 5893–5903. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Tan, B.; Chua, J.; Lin, E.; Cheng, J.; Gan, A.; Yao, X.; Wong, D.W.K.; Sabanayagam, C.; Wong, D.; Chan, C.M.; et al. Quantitative Microvascular Analysis With Wide-Field Optical Coherence Tomography Angiography in Eyes With Diabetic Retinopathy. *JAMA Netw. Open* **2020**, *3*, e1919469. [[CrossRef](#)]
83. Silva, P.S.; Cruz, A.J.D.; Ledesma, M.G.; van Hemert, J.; Radwan, A.; Cavallerano, J.; Aiello, L.M.; Sun, J.K. Diabetic Retinopathy Severity and Peripheral Lesions Are Associated with Nonperfusion on Ultrawide Field Angiography. *Ophthalmology* **2015**, *122*, 2465–2472. [[CrossRef](#)]
84. Ishibazawa, A.; De Pretto, L.R.; Alibhai, A.Y.; Moul, E.M.; Arya, M.; Sorour, O.; Mehta, N.; Bauman, C.R.; Witkin, A.J.; Yoshida, A.; et al. Retinal Nonperfusion Relationship to Arteries or Veins Observed on Widefield Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2019**, *60*, 4310–4318. [[CrossRef](#)]
85. Amato, A.; Nadin, F.; Borghesan, F.; Cicinelli, M.V.; Chaziralli, L.; Sadiq, S.; Mirza, R.; Bandello, F. Widefield Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy. *J. Diabetes Res.* **2020**, *2020*, 8855709. [[CrossRef](#)]
86. Agemy, S.A.; Sripesma, N.K.; Shah, C.M.; Chui, T.; Garcia, P.M.; Lee, J.G.; Gentile, R.C.; Hsiao, Y.-S.; Zhou, Q.; Ko, T.; et al. Retinal vascular perfusion density mapping using optical coherence tomography angiography in normals and diabetic retinopathy patients. *Retina* **2015**, *35*, 2353–2363. [[CrossRef](#)]
87. Hwang, T.; Gao, S.; Liu, L.; Lauer, A.K.; Bailey, S.T.; Flaxel, C.J.; Wilson, D.J.; Huang, D.; Jia, Y. Automated Quantification of Capillary Nonperfusion Using Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy. *JAMA Ophthalmol.* **2016**, *134*, 367–373. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Bradley, P.D.; Sim, D.A.; Keane, P.A.; Cardoso, J.N.; Agrawal, R.; Tufail, A.; Egan, C.A. The Evaluation of Diabetic Macular Ischemia Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, 626–631. [[CrossRef](#)]
89. Nesper, P.L.; Soetikno, B.T.; Zhang, H.F.; Fawzi, A.A. OCT angiography and visible-light OCT in diabetic retinopathy. *Vision Res.* **2017**, *139*, 191–203. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Agrawal, R.; Xin, W.; Keane, P.A.; Chhablani, J.; Agarwal, A. Optical coherence tomography angiography: A non-invasive tool to image end-arterial system. *Expert. Rev. Med. Devices* **2016**, *13*, 519–521. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
91. Tsai, A.S.H.; Jordan-Yu, J.M.; Gan, A.T.L.; Teo, K.Y.C.; Tan, G.S.W.; Lee, S.Y.; Chong, V.; Cheung, C.M.G. Diabetic Macular Ischemia: Influence of Optical Coherence Tomography Angiography Parameters on Changes in Functional Outcomes Over One Year. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2021**, *62*, 9. [[CrossRef](#)]
92. Schottenhamml, J.; Moul, E.M.; Ploner, S.; Lee, B.; Novais, E.A.; Cole, E.; Dang, S.; Lu, C.D.; Husvagt, L.; Waheed, N.K.; et al. An automatic, intercapillary area-based algorithm for quantifying diabetes related capillary dropout using optical coherence tomography angiography. *Retina* **2016**, *36*, S93–S101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Dupas, B.; Minvielle, W.; Bonnin, S.; Couturier, A.; Erginay, A.; Massin, P.; Gaudric, A.; Tadayoni, R. Association Between Vessel Density and Visual Acuity in Patients With Diabetic Retinopathy and Poorly Controlled Type 1 Diabetes. *JAMA Ophthalmol.* **2018**, *136*, 721–728. [[CrossRef](#)]
94. Gill, A.; Cole, E.D.; Novais, E.A.; Louzada, R.N.; De Carlo, T.; Duker, J.S.; Waheed, N.K.; Bauman, C.R.; Witkin, A.J. Visualization of changes in the foveal avascular zone in both observed and treated diabetic macular edema using optical coherence tomography angiography. *Int. J. Retin. Vitre.* **2017**, *3*, 19. [[CrossRef](#)]

95. Moore, J.; Bagley, S.; Ireland, G.; McLeod, D.; Boulton, M.E. Three dimensional analysis of microaneurysms in the human diabetic retina. *J. Anat.* **1999**, *194*, 89–100. [[CrossRef](#)]
96. Scarinci, F.; Nesper, P.L.; Fawzi, A.A. Deep Retinal Capillary Nonperfusion Is Associated With Photoreceptor Disruption in Diabetic Macular Ischemia. *Am. J. Ophthalmol.* **2016**, *168*, 129–138. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
97. Yang, J.; Wang, E.; Zhao, X.; Xia, S.; Yuan, M.; Chen, H.; Zhang, X.; Chen, Y. Optical coherence tomography angiography analysis of the choriocapillary layer in treatment-naïve diabetic eyes. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **2019**, *257*, 1393–1399. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
98. Lee, J.; Moon, B.G.; Cho, A.R.; Yoon, Y.H. Optical Coherence Tomography Angiography of DME and Its Association with Anti-VEGF Treatment Response. *Ophthalmology* **2016**, *123*, 2368–2375. [[CrossRef](#)]
99. Rodrigues, T.M.; Marques, J.P.; Soares, M.; Simão, S.; Melo, P.; Martins, A.; Figueira, J.; Murta, J.; Silva, R. Macular OCT-angiography parameters to predict the clinical stage of nonproliferative diabetic retinopathy: An exploratory analysis. *Eye* **2019**, *33*, 1240–1247. [[CrossRef](#)]
100. Inanc, M.; Tekin, K.; Kiziltoprak, H.; Ozalkak, S.; Doguizi, S.; Aycan, Z. Changes in Retinal Microcirculation Precede the Clinical Onset of Diabetic Retinopathy in Children With Type 1 Diabetes Mellitus. *Am. J. Ophthalmol.* **2019**, *207*, 37–44. [[CrossRef](#)]
101. Zeng, Y.; Cao, D.; Yu, H.; Yang, D.; Zhuang, X.; Hu, Y.; Li, J.; Yang, J.; Wu, Q.; Liu, B.; et al. Early retinal neurovascular impairment in patients with diabetes without clinically detectable retinopathy. *Br. J. Ophthalmol.* **2019**, *103*, 1747–1752. [[PubMed](#)]
102. Li, L.; Almansoob, S.; Zhang, P.; Zhou, Y.-D.; Tan, Y.; Gao, L. Quantitative analysis of retinal and choroid capillary ischaemia using optical coherence tomography angiography in type 2 diabetes. *Acta Ophthalmol.* **2019**, *97*, 240–246. [[CrossRef](#)]
103. Cao, D.; Yang, D.; Huang, Z.; Zeng, Y.; Wang, J.; Hu, Y.; Zhang, L. Optical coherence tomography angiography discerns preclinical diabetic retinopathy in eyes of patients with type 2 diabetes without clinical diabetic retinopathy. *Acta Diabetol.* **2018**, *55*, 469–477. [[CrossRef](#)]
104. Markan, A.; Agarwal, A.; Arora, A.; Bazgain, K.; Rana, V.; Gupta, V. Novel imaging biomarkers in diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *Ther. Adv. Ophthalmol.* **2020**, *12*, 2515841420950513. [[CrossRef](#)]
105. Zhu, T.P.; Li, E.H.; Li, J.Y.; Dai, X.Z.; Na Zhang, H.; Bin Chen, B.; Ye, P.P.; Su, Z.A.; Ye, J. Comparison of projection-resolved optical coherence tomography angiography-based metrics for the early detection of retinal microvascular impairments in diabetes mellitus. *Retina* **2020**, *40*, 1783–1792. [[CrossRef](#)]
106. Minnella, A.M.; Savastano, M.C.; Federici, M.; Falsini, B.; Caporossi, A. Superficial and deep vascular structure of the retina in diabetic macular ischaemia: OCT angiography. *Acta Ophthalmol.* **2018**, *96*, e647–e648. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
107. Al-Sheikh, M.; Akil, H.; Pfau, M.; Sadda, S.R. Swept-Source OCT Angiography Imaging of the Foveal Avascular Zone and Macular Capillary Network Density in Diabetic Retinopathy. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, 3907–3913. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
108. Ting, D.S.W.; Tan, G.S.W.; Agrawal, R.; Yanagi, Y.; Sie, N.M.; Wong, C.W.; San Yeo, I.Y.; Lee, S.Y.; Cheung, C.M.G.; Wong, T.Y. Optical Coherence Tomographic Angiography in Type 2 Diabetes and Diabetic Retinopathy. *JAMA Ophthalmol.* **2017**, *135*, 306–312. [[CrossRef](#)]
109. Liu, G.; Xu, D.; Wang, F. New insights into diabetic retinopathy by OCT angiography. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2018**, *142*, 243–253. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. Bek, T. Transretinal histopathological changes in capillary-free areas of diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol.* **1994**, *72*, 409–415. [[CrossRef](#)]
111. Wang, Q.; Chan, S.; Yang, J.Y.; You, B.; Wang, Y.X.; Jonas, J.B.; Bin Wei, W. Vascular Density in Retina and Choriocapillaris as Measured by Optical Coherence Tomography Angiography. *Am. J. Ophthalmol.* **2016**, *168*, 95–109. [[CrossRef](#)]
112. Kaizu, Y.; Nakao, S.; Sekiryu, H.; Wada, I.; Yamaguchi, M.; Hisatomi, T.; Ikeda, Y.; Kishimoto, J.; Sonoda, K.-H. Retinal flow density by optical coherence tomography angiography is useful for detection of nonperfused areas in diabetic retinopathy. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **2018**, *256*, 2275–2282. [[CrossRef](#)]
113. Arya, M.; Sorour, O.; Chaudhri, J.; Alibhai, Y.; Waheed, N.K.; Duker, J.S.; Baumal, C.R. Distinguishing intraretinal microvascular abnormalities from retinal neovascularization using optical coherence tomography angiography. *Retina* **2020**, *40*, 1686–1695. [[CrossRef](#)]
114. Cui, Y.; Zhu, Y.; Wang, J.C.; Lu, Y.; Zeng, R.; Katz, R.; Vingopoulos, F.; Le, R.; Lains, I.; Wu, D.M.; et al. Comparison of widefield swept-source optical coherence tomography angiography with ultra-widefield colour fundus photography and fluorescein angiography for detection of lesions in diabetic retinopathy. *Br. J. Ophthalmol.* **2021**, *105*, 577–581. [[CrossRef](#)]
115. Sorour, O.; Mehta, N.; Baumal, C.R.; Ishibazawa, A.; Liu, K.; Konstantinou, E.K.; Martin, S.; Braun, P.; Alibhai, A.Y.; Arya, M.; et al. Morphological changes in intraretinal microvascular abnormalities after anti-VEGF therapy visualized on optical coherence tomography angiography. *Eye Vis.* **2020**, *7*, 29. [[CrossRef](#)]
116. Kaoual, H.; Zhioua Braham, I.; Boukari, M.; Zhioua, R. Evaluation of the effect of the severity of diabetic retinopathy on microvascular abnormalities and vascular density using optical coherence tomography angiography. *Acta Diabetol.* **2021**, *58*, 1683–1688. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
117. Shimouchi, A.; Ishibazawa, A.; Ishiko, S.; Omas, T.; Ro-Mase, T.; Yanagi, Y.; Yoshida, A. A Proposed Classification of Intraretinal Microvascular Abnormalities in Diabetic Retinopathy Following Panretinal Photocoagulation. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2020**, *61*, 34. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

118. Fossataro, F.; Rispoli, M.; Pece, A. OCTA in macular intraretinal microvascular abnormalities: Retinal vascular density remodeling after panretinal photocoagulation. *Eur. J. Ophthalmol.* **2021**, *31*, 11206721211059014. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
119. Russell, J.F.; Shi, Y.; Scott, N.L.; Gregori, G.; Rosenfeld, P.J. Longitudinal Angiographic Evidence That Intraretinal Microvascular Abnormalities Can Evolve into Neovascularization. *Ophthalmol. Retin.* **2020**, *4*, 1146–1150. [[CrossRef](#)]
120. Lee, C.S.; Lee, A.; Sim, D.A.; Keane, P.A.; Mehta, H.; Zarranz-Ventura, J.; Fruttiger, M.; Egan, C.; Tufail, A. Reevaluating the definition of intraretinal microvascular abnormalities and neovascularization elsewhere in diabetic retinopathy using optical coherence tomography and fluorescein angiography. *Am. J. Ophthalmol.* **2015**, *159*, 101–110.e1. [[CrossRef](#)]
121. Pan, J.; Chen, D.; Yang, X.; Zou, R.; Zhao, K.; Cheng, D.; Huang, S.; Zhou, T.; Yang, Y.; Chen, F. Characteristics of Neovascularization in Early Stages of Proliferative Diabetic Retinopathy by Optical Coherence Tomography Angiography. *Am. J. Ophthalmol.* **2018**, *192*, 146–156. [[CrossRef](#)]
122. DaCosta, J.; Bhatia, D.; Crothers, O.; Talks, J. Utilisation of optical coherence tomography and optical coherence tomography angiography to assess retinal neovascularisation in diabetic retinopathy. *Eye* **2021**, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
123. You, Q.S.; Guo, Y.; Wang, J.; Wei, X.; Camino, A.; Zang, P.; Flaxel, C.J.; Bailey, S.T.; Huang, D.; Jia, Y.; et al. Detection of clinically unsuspected retinal neovascularization with wide-field optical coherence tomography angiography. *Retina* **2020**, *40*, 891–897. [[CrossRef](#)]
124. Papayannis, A.; Tsamis, E.; Stringa, F.; Iacono, P.; Battaglia Parodi, M.; Stanga, P.E. Swept-source optical coherence tomography angiography vitreo-retinal segmentation in proliferative diabetic retinopathy. *Eur. J. Ophthalmol.* **2021**, *31*, 1925–1932. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
125. Ishibazawa, A.; Nagaoka, T.; Yokota, H.; Takahashi, A.; Omae, T.; Song, Y.; Takahashi, T.; Yoshida, A. Characteristics of retinal neovascularization in proliferative diabetic retinopathy imaged by optical coherence tomography angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, 6247–6255. [[CrossRef](#)]
126. Elbendary, A.M.; Abouelkheir, H.Y. Bimodal imaging of proliferative diabetic retinopathy vascular features using swept source optical coherence tomography angiography. *Int. J. Ophthalmol.* **2018**, *11*, 1528–1533. [[PubMed](#)]
127. Hwang, T.S.; Jia, Y.; Gao, S.S.; Bailey, S.T.; Lauer, A.K.; Flaxel, C.J.; Wilson, D.J.; Huang, D. Optical coherence tomography angiography features of diabetic retinopathy. *Retina* **2015**, *35*, 2371–2376. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
128. Muraoka, K.; Shimizu, K. Intraretinal neovascularization in diabetic retinopathy. *Ophthalmology* **1984**, *91*, 1440–1446. [[CrossRef](#)]
129. Zhu, Y.; Cui, Y.; Wang, J.C.; Lu, Y.; Zeng, R.; Katz, R.; Wu, D.M.; Elliott, D.; Vavvas, D.G.; Husain, D.; et al. Different Scan Protocols Affect the Detection Rates of Diabetic Retinopathy Lesions by Wide-Field Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography. *Am. J. Ophthalmol.* **2020**, *215*, 72–80. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
130. Hirano, T.; Hoshiyama, K.; Hirabayashi, K.; Wakabayashi, M.; Toriyama, Y.; Tokimitsu, M.; Murata, T. Vitreoretinal Interface Slab in OCT Angiography for Detecting Diabetic Retinal Neovascularization. *Ophthalmol. Retin.* **2020**, *4*, 588–594. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
131. Stanga, P.E.; Papayannis, A.; Tsamis, E.; Stringa, F.; Cole, T.; D'Souza, Y.; Jalil, A. New Findings in Diabetic Maculopathy and Proliferative Disease by Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography. *Dev. Ophthalmol.* **2016**, *56*, 113–121.
132. AttaAllah, H.R.; Mohamed, A.A.M.; Ali, M.A. Macular vessels density in diabetic retinopathy: Quantitative assessment using optical coherence tomography angiography. *Int. Ophthalmol.* **2019**, *39*, 1845–1859. [[CrossRef](#)]
133. De Carlo, T.E.; Chin, A.T.; Joseph, T.; Baumal, C.R.; Witkin, A.J.; Duker, J.S.; Waheed, N.K. Distinguishing Diabetic Macular Edema From Capillary Nonperfusion Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Ophthalmic. Surg. Lasers Imaging. Retina* **2016**, *47*, 108–114. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
134. Mané, V.; Dupas, B.; Gaudric, A.; Bonnin, S.; Pedinielli, A.; Bousquet, E.; Erginay, A.; Tadayoni, R.; Couturier, A. Correlation between cystoid spaces in chronic diabetic macular edema and capillary nonperfusion detected by optical coherence tomography angiography. *Retina* **2016**, *36*, S102–S110. [[CrossRef](#)]
135. Spaide, R.F. Retinal vascular cystoid edema: Review and New Theory. *Retina* **2016**, *36*, 1823–1842. [[CrossRef](#)]
136. Ghasemi Falavarjani, K.; Iafe, N.A.; Hubschman, J.P.; Tsui, I.; Sadda, S.R.; Sarraf, D. Optical coherence tomography angiography analysis of the foveal avascular zone and macular vessel density after anti-VEGF therapy in eyes with diabetic macular edema and retinal vein occlusion. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2017**, *58*, 30–34. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
137. Balaratnasingam, C.; An, D.; Sakurada, Y.; Lee, C.S.; Lee, A.Y.; McAllister, I.L.; Freund, K.B.; Sarunic, M.; Yu, D.-Y. Comparisons Between Histology and Optical Coherence Tomography Angiography of the Periarterial Capillary-Free Zone. *Am. J. Ophthalmol.* **2018**, *189*, 55–64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
138. Ting, D.S.W.; Pasquale, L.R.; Peng, L.; Campbell, J.P.; Lee, A.Y.; Raman, R.; Tan, G.S.W.; Schmetterer, L.; Keane, P.A.; Wong, T.Y. Artificial intelligence and deep learning in ophthalmology. *Br. J. Ophthalmol.* **2019**, *103*, 167–175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
139. Govindaswamy, N.; Ratra, D.; Dalan, D.; Doralli, S.; Tirumalai, A.A.; Nagarajan, R.; Mochi, T.; Shetty, N.; Roy, A.S. Vascular changes precede tomographic changes in diabetic eyes without retinopathy and improve artificial intelligence diagnostics. *J. Biophotonics* **2020**, *13*, e202000107. [[CrossRef](#)]
140. Guo, Y.; Camino, A.; Wang, J.; Huang, D.; Hwang, T.S.; Jia, Y. MEDnet, a neural network for automated detection of avascular area in OCT angiography. *Biomed. Opt. Express* **2018**, *9*, 5147. [[CrossRef](#)]
141. Guo, Y.; Hormel, T.T.; Xiong, H.; Wang, B.; Camino, A.; Wang, J.; Huang, D.; Hwang, T.S.; Jia, Y. Development and validation of a deep learning algorithm for distinguishing the nonperfusion area from signal reduction artifacts on OCT angiography. *Biomed. Opt. Express* **2019**, *10*, 3257. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

142. Laueremann, J.L.; Treder, M.; Alnawaiseh, M.; Clemens, C.R.; Eter, N.; Alten, F. Automated OCT angiography image quality assessment using a deep learning algorithm. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **2019**, *257*, 1641–1648. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
143. Prentašić, P.; Heisler, M.; Mammo, Z.; Lee, S.; Merkur, A.; Navajas, E.; Beg, M.F.; Šarunic, M.; Lončarić, S. Segmentation of the foveal microvasculature using deep learning networks. *J. Biomed. Opt.* **2016**, *21*, 075008. [[CrossRef](#)]
144. Guo, M.; Zhao, M.; Cheong, A.M.Y.; Dai, H.; Lam, A.K.C.; Zhou, Y. Automatic quantification of superficial foveal avascular zone in optical coherence tomography angiography implemented with deep learning. *Vis. Comput. Ind. Biomed. Art* **2019**, *2*, 1–9. [[CrossRef](#)]
145. Ryu, G.; Lee, K.; Park, D.; Park, S.H.; Sagong, M. A deep learning model for identifying diabetic retinopathy using optical coherence tomography angiography. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 1–9. [[CrossRef](#)]
146. Le, D.; Alam, M.; Yao, C.K.; Lim, J.I.; Hsieh, Y.-T.; Chan, R.V.P.; Toslak, D.; Yao, X. Transfer Learning for Automated OCTA Detection of Diabetic Retinopathy. *Transl. Vis. Sci. Technol.* **2020**, *9*, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
147. Heisler, M.; Karst, S.; Lo, J.; Mammo, Z.; Yu, T.; Warner, S.; Maberley, D.; Beg, M.F.; Navajas, E.V.; Sarunic, M.V. Ensemble Deep Learning for Diabetic Retinopathy Detection Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Transl. Vis. Sci. Technol.* **2020**, *9*, 1–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
148. Sandhu, H.S.; Elmogy, M.; Sharafeldien, A.; Elsharkawy, M.; El-Adawy, N.; Eltanboly, A.; Shalaby, A.; Keynton, R.; El-Baz, A. Automated Diagnosis of Diabetic Retinopathy Using Clinical Biomarkers, Optical Coherence Tomography, and Optical Coherence Tomography Angiography. *Am. J. Ophthalmol.* **2020**, *216*, 201–206. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
149. Nazir, T.; Irtaza, A.; Shabbir, Z.; Javed, A.; Akram, U.; Mahmood, M.T. Diabetic retinopathy detection through novel tetragonal local octa patterns and extreme learning machines. *Artif. Intell. Med.* **2019**, *99*, 101695. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
150. Nagasawa, T.; Tabuchi, H.; Masumoto, H.; Morita, S.; Niki, M.; Ohara, Z.; Yoshizumi, Y.; Mitamura, Y. Accuracy of Diabetic Retinopathy Staging with a Deep Convolutional Neural Network Using Ultra-Wide-Field Fundus Ophthalmoscopy and Optical Coherence Tomography Angiography. *J. Ophthalmol.* **2021**, *2021*, 1–10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
151. Xiong, H.; You, Q.S.; Guo, Y.; Wang, J.; Wang, B.; Gao, L.; Flaxel, C.J.; Bailey, S.T.; Hwang, T.S.; Jia, Y. Deep learning-based signal-independent assessment of macular avascular area on 6 × 6 mm optical coherence tomography angiogram in diabetic retinopathy: A comparison to instrument-embedded software. *Br. J. Ophthalmol.* **2021**. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
152. Kawai, K.; Uji, A.; Murakami, T.; Kadomoto, S.; Oritani, Y.; Dodo, Y.; Muraoka, Y.; Akagi, T.; Miyata, M.; Tsujikawa, A. Image evaluation of artificial intelligence supported optical coherence tomography imaging using OCT-A1 device in diabetic retinopathy. *Retina* **2021**, *41*, 1730–1738. [[CrossRef](#)]

## 5.4. ARTÍCULO 4: Changes in inner retina thickness and macular sensitivity in patients with type 2 diabetes with moderate diabetic retinopathy

Ana Boned-Murillo, Guisela Fernandez-Espinosa, Elvira Orduna-Hospital, Maria Dolores Diaz-Barreda, Ana I. Sanchez-Cano, María Sopeña-Pinilla, Sofia Bielsa-Alonso, Isabel Pinilla.

*Biomedicines*. 2023; 11(11):2972.

DOI: 10.3390/biomedicines11112972.

Factor de Impacto JCR 2022: 4,7

### Resumen

Objetivo: analizar el RT e IRL en pacientes con DM2 y correlacionar estos resultados con la sensibilidad de la retina mediante SS-OCT y microperimetría con un dispositivo MAIA.

Métodos: se estudiaron un total de 54 sujetos con DM2 con RD moderada sin signos de EMD y 73 individuos sanos. La edad media fue de 64,06±11,98 años para el grupo DM2 y de 60,79±8,62 años para el grupo control.

Resultados: los pacientes con DM2 presentaron menor AV ( $p < 0,001$ ) y un espesor retiniano más grueso ( $260,70 \pm 19,22 \mu\text{m}$  en el grupo control vs.  $271,90 \pm 37,61 \mu\text{m}$  en el grupo DM2,  $p = 0,01$ ). La CFNR fue significativamente menor en el área NE ( $50,38 \pm 8,20 \mu\text{m}$  vs.  $45,17 \pm 11,25 \mu\text{m}$ ,  $p = 0,005$ ) así como en áreas internas de GCL+ y áreas temporales, NE y SI del protocolo GCL++ de los pacientes con DM2.

Se detectó una correlación positiva entre el colesterol LDL-C y la CFNR y una correlación negativa entre los niveles de colesterol HDL-C y el espesor TI y central de CFNR. Las áreas C ( $p = 0,021$ ) e NI ( $p = 0,01$ ) de la CFNR se correlacionaron negativamente con la sensibilidad del MAIA, mientras que GCL++ se correlacionó positivamente en las áreas IE ( $p = 0,015$ ) y NE ( $p = 0,024$ ).

Conclusiones: la sensibilidad de la retina y el grosor de la CFNR macular disminuyen en pacientes con DM2 con RD moderada sin EMD, y su estudio permite un abordaje preciso de esta enfermedad con una evaluación personalizada basada en el curso o estadio de la RD. El adelgazamiento de GCL+ y GCL++ secundario a la pérdida de CG precede a la afectación del grosor de la CFNR.

### Abstract

Purpose: the increase in diabetic retinopathy (DR) prevalence demonstrates the need for the determination of biomarkers for assessing disease development to obtain an early diagnosis and stop its progression. We aimed to analyse total retinal (RT) and inner retinal layer (IRL) thicknesses in type 2 diabetes mellitus (DM2) patients and correlate these results with retinal sensitivity using swept-source OCT (SS-OCT) and microperimetry.

Methods: for this purpose, a total of 54 DM2 subjects with moderate diabetic retinopathy (DR) with no signs of diabetic macular oedema (DME) and 73 age-matched healthy individuals were assessed using SS-OCT to quantify retinal thickness in the nine macular areas of the ETDRS grid. Retinal sensitivity was measured via microperimetry with a Macular Integrity Assessment Device (MAIA).

Results: the mean ages were  $64.06 \pm 11.98$  years for the DM2 group and  $60.79 \pm 8.62$  years for the control group. DM2 patients presented lower visual acuity ( $p < 0.001$ ) and a thicker RT ( $260.70 \pm 19.22 \mu\text{m}$  in the control group vs.  $271.90 \pm 37.61 \mu\text{m}$  in the DM2 group,  $p = 0.01$ ). The retinal nerve fibre layer (RNFL) was significantly lower in the outer nasal area ( $50.38 \pm 8.20 \mu\text{m}$  vs.  $45.17 \pm 11.25 \mu\text{m}$ ,  $p = 0.005$ ) in ganglion cells and inner plexiform layers (GCL+) in DM2. A positive correlation between the LDL-C and RNFL and a negative correlation between HDL-C levels and the inner temporal and central RNFL thickness were detected. The central ( $p = 0.021$ ) and inner nasal ( $p = 0.01$ ) areas were negatively correlated between the RNFL and MAIA, while GCL++ was positively correlated with the outer inferior ( $p = 0.015$ ) and outer nasal areas ( $p = 0.024$ ).

Conclusion: retinal sensitivity and macular RNFL thickness decrease in DM2 patients with moderate DR with no DME, and this study enables an accurate approach to this disease with personalised assessment based on the DR course or stage. Thus, GCL+ and GCL++ thinning may support ganglion cell loss before the RNFL is affected.



## Article

# Changes in Inner Retina Thickness and Macular Sensitivity in Patients with Type 2 Diabetes with Moderate Diabetic Retinopathy

Ana Boned-Murillo <sup>1,2,3</sup>, Guisela Fernández-Espinosa <sup>1</sup>, Elvira Orduna-Hospital <sup>1,4</sup>,  
María Dolores Díaz-Barreda <sup>1,2,5</sup>, Ana Sánchez-Cano <sup>1,4</sup>, María Sopeña-Pinilla <sup>6</sup>,  
Sofía Bielsa-Alonso <sup>7</sup> and Isabel Pinilla <sup>1,2,7,\*</sup>

<sup>1</sup> Aragon Institute for Health Research (IIS Aragón), 50009 Zaragoza, Spain; anabomu@hotmail.com (A.B.-M.); guisela.fernandez3@gmail.com (G.F.-E.); eordunahospital@unizar.es (E.O.-H.); lodiba@gmail.com (M.D.D.-B.); anaisa@unizar.es (A.S.-C.)

<sup>2</sup> Department of Ophthalmology, Lozano Blesa University Hospital, 50009 Zaragoza, Spain

<sup>3</sup> Department of Ophthalmology, Infanta Sofía University Hospital, 28703 Madrid, Spain

<sup>4</sup> Department of Applied Physics, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain

<sup>5</sup> Department of Ophthalmology, Virgen de la Luz Hospital, 16002 Cuenca, Spain

<sup>6</sup> Department of Ophthalmology, Miguel-Servet University Hospital, 50009 Zaragoza, Spain; maria.sopena1997@gmail.com

<sup>7</sup> Department of Surgery, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain; sofabielsa@gmail.com

\* Correspondence: ipinilla@unizar.es; Tel: +34-696-80-82-95



**Citation:** Boned-Murillo, A.; Fernández-Espinosa, G.; Orduna-Hospital, E.; Díaz-Barreda, M.D.; Sánchez-Cano, A.; Sopeña-Pinilla, M.; Bielsa-Alonso, S.; Pinilla, I. Changes in Inner Retina Thickness and Macular Sensitivity in Patients with Type 2 Diabetes with Moderate Diabetic Retinopathy. *Biomedicines* **2023**, *11*, 2972. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11112972>

Academic Editor: Victor Cheng and Irujo María Vingolo

Received: 9 September 2023

Revised: 27 October 2023

Accepted: 2 November 2023

Published: 4 November 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract** The increase in diabetic retinopathy (DR) prevalence demonstrates the need for the determination of biomarkers for assessing disease development to obtain an early diagnosis and stop its progression. We aimed to analyse total retinal (RT) and inner retinal layer (IRL) thicknesses in type 2 diabetes mellitus (DM2) patients and correlate these results with retinal sensitivity using swept-source OCT (SS-OCT) and microperimetry. For this purpose, a total of 54 DM2 subjects with moderate diabetic retinopathy (DR) with no signs of diabetic macular oedema (DME) and 73 age-matched healthy individuals were assessed using SS-OCT to quantify retinal thickness in the nine macular areas of the ETDRS grid. Retinal sensitivity was measured via microperimetry with a Macular Integrity Assessment Device (MAIA). The mean ages were  $64.06 \pm 11.98$  years for the DM2 group and  $60.79 \pm 8.62$  years for the control group. DM2 patients presented lower visual acuity ( $p < 0.001$ ) and a thicker RT ( $260.70 \pm 19.22 \mu\text{m}$  in the control group vs.  $271.90 \pm 37.61 \mu\text{m}$  in the DM2 group,  $p = 0.01$ ). The retinal nerve fibre layer (RNFL) was significantly lower in the outer nasal area ( $50.38 \pm 8.20 \mu\text{m}$  vs.  $45.17 \pm 11.25 \mu\text{m}$ ,  $p = 0.005$ ) in ganglion cells and inner plexiform layers (GCL+) in DM2. A positive correlation between the LDL-C and RNFL and a negative correlation between HDL-C levels and the inner temporal and central RNFL thickness were detected. The central ( $p = 0.021$ ) and inner nasal ( $p = 0.01$ ) areas were negatively correlated between the RNFL and MAIA, while GCL++ was positively correlated with the outer inferior ( $p = 0.015$ ) and outer nasal areas ( $p = 0.024$ ). Retinal sensitivity and macular RNFL thickness decrease in DM2 patients with moderate DR with no DME, and this study enables an accurate approach to this disease with personalised assessment based on the DR course or stage. Thus, GCL+ and GCL++ thinning may support ganglion cell loss before the RNFL is affected.

**Keywords:** diabetic retinopathy; microperimetry; neurodegeneration; swept-source OCT; type 2 diabetes mellitus

## 1. Introduction

The prevalence of diabetic retinopathy (DR) is growing worldwide, and it is estimated to increase to 51% by 2045 [1]. It is reported to be the main cause of blindness in the active population of developed countries, especially related to diabetic macular oedema (DME) or severe visual deficits secondary to proliferative DR [2]. Thus, it is critical to investigate

and identify biomarkers to assess disease development. This would therefore improve its management and stop its progression, reducing its morbidity and mortality.

DR is a microvasculopathy that induces changes in the inner retina, affects ischaemia, and increases blood-retina barrier permeability. Both vascular changes and diabetic neurodegeneration (DN) occur early in the disease, first affecting the retinal ganglion cell bodies and their dendrites, which can be detected as diffuse thinning of the ganglion cell layer (GCL) and inner plexiform layer (IPL) [3]. Axons may undergo apoptosis, triggering thinning of the retinal nerve fibre layer (RNFL). The ganglion cell complex (GCC), formed by the GCL, IPL, and RNFL, may also show a reduction in thickness [3,4]. These variations have been described as inner retinal layer (IRL) thickness changes in the absence of any DR modifications prior to the appearance of diabetic vascular signs detectable on fundus examination by an ophthalmologist [2].

The structural changes in DR can be quantitatively analysed with new imaging techniques, mainly high-speed non-invasive optical coherence tomography (OCT), allowing the evaluation of the thickness and volume of the different retinal layers and the choroid [5–7]. This method is more objective and accurate than ophthalmoscopy for identifying early structural alterations in the diabetic retina. DN and RNFL loss in turn cause functional modifications in several diagnostic tests that can be detected prior to the appearance of the first manifestations of DR, including electroretinogram [8], contrast sensitivity, dark adaptation, and microperimetry alterations [9–11]. The latter is especially useful for evaluating macular functionality due to its high sensitivity and specificity.

The purpose of this study was to measure macular changes in the IRL thicknesses studied using swept-source OCT (SS-OCT) in type 2 diabetes mellitus (DM2) patients with moderate DR and without DME compared to those of healthy control individuals and to correlate them with retinal function evaluated via microperimetry to identify markers of retinal neurodegeneration prior to the appearance of DR.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Design

A total of 127 eyes were included in our study. Of these, 54 eyes were from DM2 patients, and 73 eyes were from healthy subjects. All eyes were evaluated at the Ophthalmology Department in the Lozano Blesa University Hospital in Zaragoza, Spain, from October 2021 to June 2022. All subjects underwent a complete ophthalmological exam in a single visit. The DM2 patients, which constituted Group 1, demonstrated a level 43 on the early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) classification [12], which corresponds to moderate DR, and were without DME. Group 2 consisted of healthy subjects with no previous history of ocular or systemic diseases. The study was approved by the local Ethics Committee (Clinical Research Ethics Committee of Aragon/CEICA PI19/252) and adhered to the tenets of the Helsinki Declaration. Each subject signed the informed consent form.

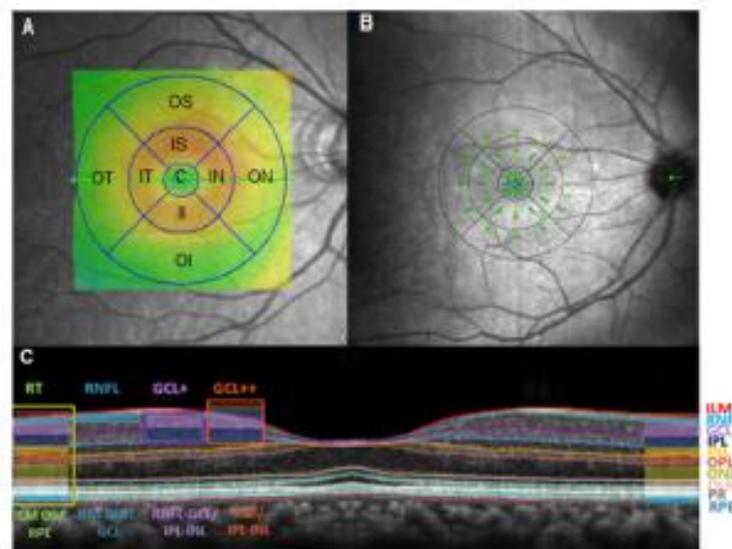
Exclusion criteria for both groups were amblyopia or best corrected visual acuity (BCVA) lower than 20/40 in the Snellen scale, spherical equivalent (SE) above  $\pm 5.50$  diopters (D) or 3.00 D of astigmatism, any changes in pupillary reflex or ocular motility, intraocular pressure (IOP) over 20 mmHg or findings that suggested glaucoma, other macular diseases with macular impairment that lead to scotomas that affect vision, history of ocular surgery, corneal degeneration or lens opacity, the spectrum of vision loss related to dry eye disease, or the impossibility of collecting a good quality OCT profile. The electronic medical histories of the participants were deeply reviewed, looking for personal systemic pathologies. Patients with uncontrolled arterial hypertension, diagnosis of any metabolic syndrome, different form of DM, other systemic pathologies, or diagnosis or signs of neurologic or neurodegenerative disorders (multiple sclerosis, Alzheimer's and Parkinson's disease, bipolar disorder, etc.) were also excluded as patients with hormone replacement therapies.

## 2.2. Study Protocol

All subjects underwent a complete ophthalmological exam in a single visit. For statistical purposes, BCVA was recorded with the 100% contrast ETDRS test as measured with the logarithm of the minimum angle of resolution (LogMAR). Axial length (AL) was calculated using an Aladdin KR-1 W Series optical biometry system (Topcon Corporation, Tokyo, Japan) as the average of 5 measurements and expressed in mm. IOP was measured via Goldmann tonometry. The eye fundus was examined using Clarus widefield retinography (Clarus 700<sup>®</sup>, Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Germany) images.

Endocrinological data were collected from DM2 patients; this data included the number of years since diagnosis, glycaemic control measured with glycosylated haemoglobin (HbA1c), lipid profile, renal function parameters, and medication.

OCT and widefield retinography were used to exclude subclinical and clinical retinal neovascularization and DME. All OCT images were acquired by the same investigator (ABM) using DRI-Triton SS-OCT (deep range imaging) (Topcon Corporation, Tokyo, Japan). The software version was IMAGENet 6 Version 1.22.1.14101<sup>®</sup>. Images whose quality scale (0 to 100) was lower than 60 were excluded. The different retinal layer and retinal thickness (RT) values were expressed in micrometres ( $\mu\text{m}$ ) in the different sectors of the ETDRS grid with the 3D Macula protocol (Figure 1). The central (C) area is a circle of 1 mm in diameter, surrounded by the parafoveal or inner ring, which is 3 mm in diameter. This area was divided into 4 quadrants: inner superior (IS), inner temporal (IT), inner nasal (IN), and inner inferior (II). The outer or perifoveal circle had a diameter of 6 mm and was divided into 4 quadrants: outer superior (OS), outer temporal (OT), outer nasal (ON), and outer inferior (OI).



**Figure 1.** (A) Grid of macular sectors for the DRI-Triton Swept-Source OCT (SS-OCT) for the 9 areas of the ETDRS grid in a right eye (OS, outer superior; OT, outer temporal; OI, outer inferior; ON, outer nasal; IS, inner superior; IT, inner temporal; II, inner inferior; IN, inner nasal; and C, central). (B) Mean retinal sensitivity in dB measured with the MAIA microperimeter and correlated with 9 areas of the ETDRS grid. (C) DRI-Triton (SS)-OCT profile showing the protocols used in the study: total retina (from the internal limiting membrane (ILM) to the boundary between the retinal pigment epithelium (RPE) and the photoreceptor layer (OS/RPE limit)), GCL+ protocol (from the internal boundary of the ganglion cell layer (GCL; line RNFL/GCL) up to the external limit of the IPL (the IPL/INL line)), and GCL++ protocol (from ILM to the IPL/INL line (GCC)).

To evaluate retinal sensitivity, third generation microperimetry (the Macular Integrity Assessment Device (MAIA); Topcon Corporation, Tokyo, Japan) was used for a complete evaluation with a 4–2 complete threshold strategy. To compare the MAIA and OCT thickness results, the sensitivity points generated with the microperimetry were divided into sectors. For an emmetropic eye, the MAIA 1° is equivalent to a circle with a diameter of 0.6 mm, the MAIA 3° is equivalent to a circle with a diameter of 1.8 mm, and the MAIA 5° is equivalent to a circle with a diameter of 3 mm. In the central ETDRS ring, we included the centre point and the 1° sensitivity points (0.6 mm diameter). In the 3 mm ETDRS ring, the 3° and 5° sensitivity points were located (diameters of 1.8 and 3 mm, respectively) in the 3 mm circle of the ETDRS grid [9]. Therefore, the average of the retinal sensitivity thresholds calculated for the 1° MAIA corresponds to the central ETDRS circle, and the thresholds of the 3° and 5° circles correspond to the ETDRS inner or parafoveal ring (mean of 6 sensitivity points/ quadrant; Figure 1). The fixation was inspected manually.

The data were collected and exported to an Excel database (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

### 2.3. Statistical Analysis

The values of the variables of interest for each patient were collected in an Excel database ver. 2016 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA). For the statistical analysis, the Statistical Package for the Social Sciences software (SPSS version 20.0, SPSS Inc., IBM Corporation, Armonk, NY, USA) was used. First, a descriptive cross-sectional analysis of the sample with demographic variables and clinical characteristics was performed. Data normality was analysed with the Kolmogorov-Smirnov test. The parameters did not have a normal distribution, so differences between groups were analysed with the Mann-Whitney U test for independent samples, and the Spearman's rank correlation coefficient test was conducted for bivariate analysis to correlate the variables of interest. A value of  $p < 0.05$  indicated statistical significance for all the analyses.

The sample size was calculated based on a preliminary study carried out by our group using the Epidat software (version 4.2.0.0). All calculations were performed using a two-sided test with an  $\alpha$  risk of 5% (95% confidence level) and a  $\beta$  risk of 20% (80% power). A standard deviation of retinal thickness of 30  $\mu\text{m}$  was estimated, wanting to detect differences of at least 16  $\mu\text{m}$ , and setting a ratio between independent sample sizes of 1.5, a minimum sample size of 71 and 47 subjects per group was determined.

## 3. Results

### 3.1. Demographics

A descriptive cross-sectional analysis of the sample determined that the mean age of the DM2 group was  $64.06 \pm 11.98$  years (42–86 years) and that of the control group was  $60.79 \pm 8.62$  years (42–83 years), with no differences between groups ( $p = 0.082$ ). Regarding sex distribution, 20.4% and 39.7% were females and 79.6% and 60.3% were males in the DM2 and control groups, respectively. The mean time since DM2 diagnosis was  $2.50 \pm 2.88$  years (0–11 years). The patients had adequate metabolic control of their disease, with a mean HbA1c of  $7.58 \pm 1.29\%$ . Table 1 presents glycaemic, lipid, and renal function values.

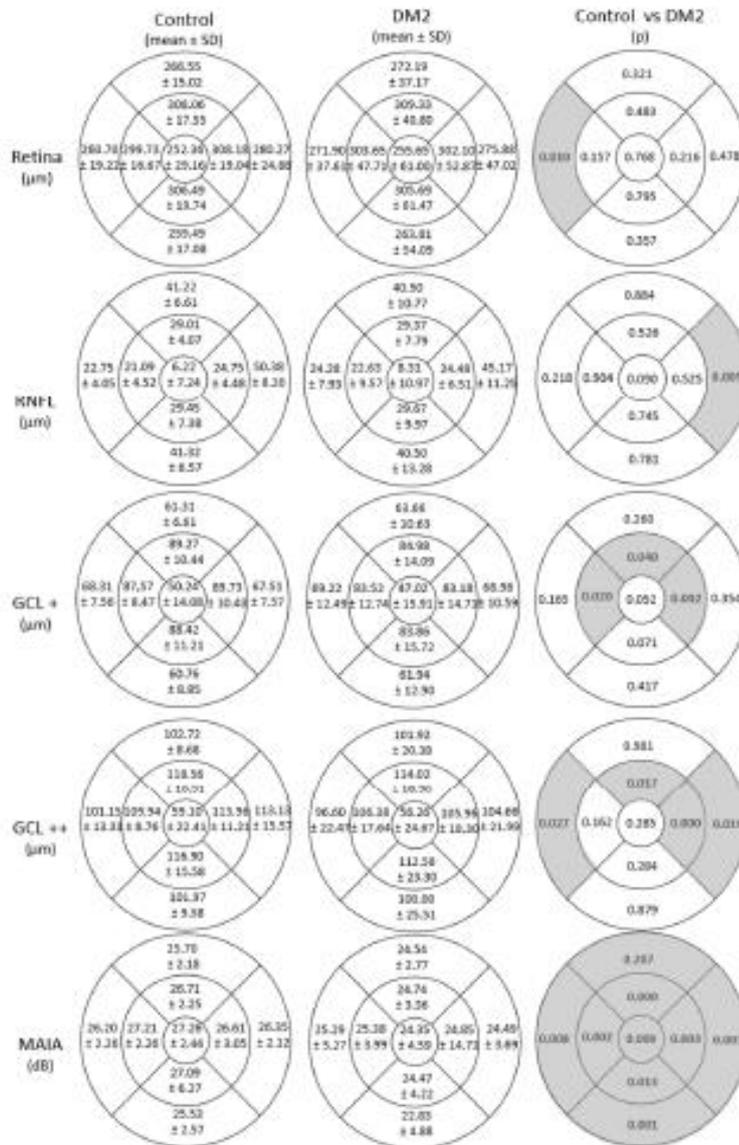
**Table 1.** Mean, standard deviation (SD), and statistical significance (*p* value) of demographics; best corrected visual acuity (BCVA) in the LogMAR scale; spherical equivalent (SE) in diopters (D); axial length (AL) in mm; and intraocular pressure (IOP) in mmHg between the control and type 2 diabetes mellitus (DM2) groups as well as the metabolic characteristics of DM2 patients related to the duration and metabolic control of the disease. Abbreviations: HbA1c, glycosylated haemoglobin; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; TG, triglyceride; GF, glomerular filtration; and SD, standard deviation. HbA1c values are expressed in a percentage; cholesterol, TG, and creatine values are expressed in mg/dL; and GF is expressed in mL/min. Differences that reached statistical significance (*p* < 0.05) are shown in bold.

	Control Group		DM2 Group		<i>p</i>
	Mean	SD	Mean	SD	
Age (years)	60.79	8.62	64.06	11.98	0.082
Sex (female-male %)	39.7-60.3		20.4-79.6		
Time from diagnosis (years)			2.50	2.88	
HbA1c (%)			7.58	1.29	
BCVA (LogMAR)	0.04	0.05	0.12	0.17	<b>&lt;0.001</b>
SE (D)	0.03	1.58	0.37	1.70	0.110
AL (mm)	23.73	1.46	23.23	0.84	0.080
IOP (mmHg)	15.30	2.89	14.76	2.49	0.676
Disease progression time (years)			2.50	2.88	
HbA1c (%)			7.58	1.29	
Cholesterol (mg/dL)			148.04	33.18	
HDL (mg/dL)			47.83	15.21	
LDL (mg/dL)			71.47	23.09	
TG (mg/dL)			122.24	51.71	
GF (mL/min)			73.57	20.52	
Creatine (mg/dL)			1.05	0.49	

BCVA reached significantly lower levels in the DM2 group (*p* = 0.001). No differences were found between groups in AL (*p* = 0.075), SE (*p* = 0.110), or IOP (*p* = 0.676). The values are presented in Table 1.

### 3.2. OCT: Total Retina and IRL Thickness Assessment

Analysis of retinal thickness with SS-OCT revealed statistically thicker RT in the OT area in the DM2 group than in the healthy group ( $260.70 \pm 19.22 \mu\text{m}$  in the healthy group vs.  $271.90 \pm 37.61 \mu\text{m}$  in the DM2 group, with *p* = 0.010). Additionally, the analysis of different protocols revealed a significant decrease in the RNFL, specifically in the ON area. Thickness thinning was also observed in the IS, IT, and IN quadrant of the GCL+ protocol (GCL+IPL); and in the temporal quadrants as in ON and IS of the GCL++ protocol (ILM-IPL/INL (GCC), which corresponds to the GCL+ plus the RNFL thickness) in the DM2 group, as shown in Figure 2.



**Figure 2.** Mean ± standard deviation (SD) of total retina, retinal nerve fibre layer (RNFL), GCL+ protocol (GC-IPL) and GCL++ protocol (ILM-IPL/INL (GCC)) thicknesses measured using DRI-Triton SS-OCT and mean retinal sensitivity in dB measured with the MAIA microperimeter in patients with type 2 diabetes mellitus (DM2) and in healthy control subjects and their comparison (p value) in the 9 areas of the early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) grid (OS, outer superior; OT, outer temporal; OI, outer inferior; ON, outer nasal; IS, inner superior; IT, inner temporal; II, inner inferior; IN, inner nasal; and C, central), where temporal quadrants are represented on the left and nasal quadrants are represented on the right. Statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) are marked in bold with a grey background.

### 3.3. MAIA Retinal Sensitivity Assessment

According to MAIA microperimetry, the retinal sensitivities were significantly higher in the control group than in the DM2 group, and there were differences in macular integrity ( $77.82 \pm 28.04$  vs.  $64.84 \pm 30.02$ ;  $p = 0.005$ ) and total mean threshold ( $24.45 \pm 3.63$  vs.  $26.69 \pm 2.26$ ;  $p < 0.001$ ), as shown in Table 2.

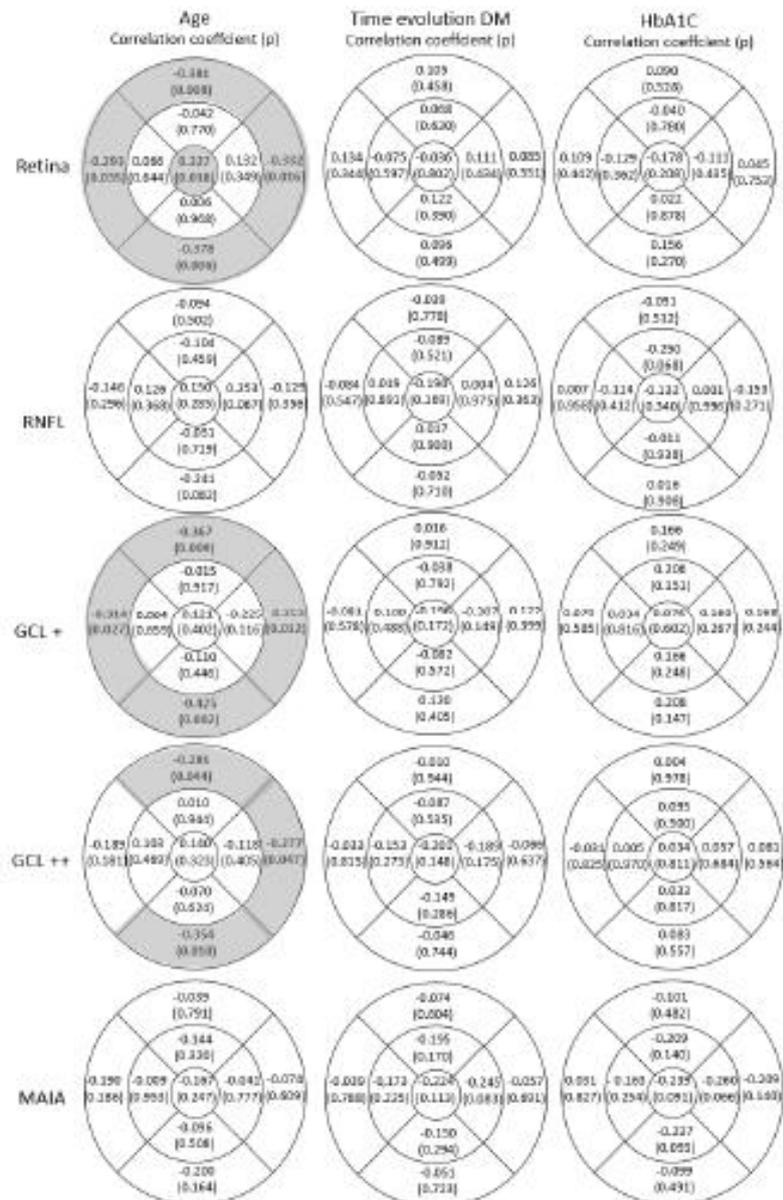
**Table 2.** Mean  $\pm$  standard deviation (SD) of the sensitivity of the variables was measured with MAIA microperimetry in diabetes mellitus (DM2) patients and in healthy control subjects and was compared (BCEA, bivariate contour ellipse area). Statistically significant values ( $p < 0.05$ ) are shown in bold.

	Retinal Sensitivity (dB)		
	Control	DM	Control vs. DM
	Media $\pm$ SD	Media $\pm$ SD	<i>p</i>
Macular integrity	$64.84 \pm 30.02$	$77.82 \pm 28.04$	<b>0.005</b>
Average threshold	$26.69 \pm 2.26$	$24.45 \pm 3.63$	<b>&lt;0.0001</b>
Fixation stability P1	$88.25 \pm 13.03$	$77.96 \pm 26.02$	0.162
Fixation stability P2	$96.78 \pm 4.71$	$89.26 \pm 17.31$	<b>0.016</b>
BCEA 63 area	$1.82 \pm 1.93$	$4.33 \pm 6.65$	0.121
BCEA 63 angle	$2.39 \pm 62.12$	$9.20 \pm 50.55$	0.637
BCEA 95 area	$45.35 \pm 5.79$	$12.84 \pm 20.03$	0.142
BCEA 95 angle	$2.39 \pm 6.11$	$4.64 \pm 50.25$	0.956
Fixation losses (%)	$4.20 \pm 10.71$	$7.34 \pm 17.99$	0.432

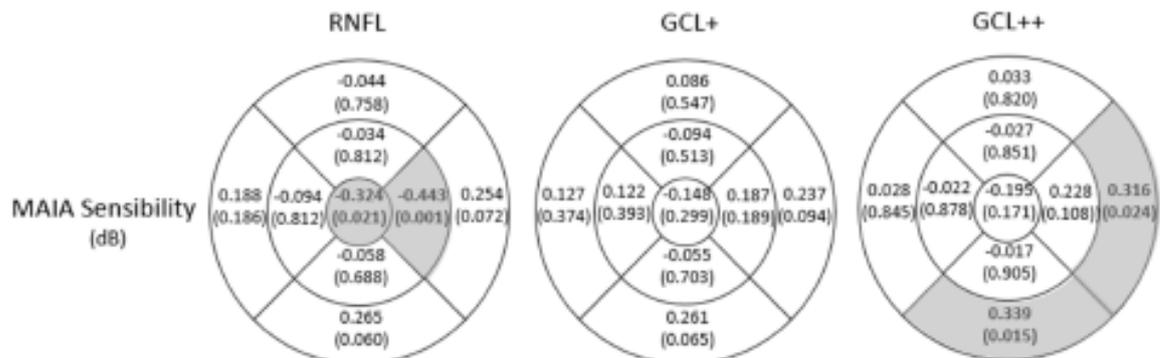
### 3.4. Structural and Functional Correlations

Correlations between OCT findings (RT and RNFL thickness) and other parameters, including age, years of DM evolution, and glycaemic control, were studied using Spearman's rank correlation coefficient test. Significant negative correlations were found between age and the outer ETDRS ring areas of RT, GCL+, and GCL++ ( $p < 0.05$ ). Additionally, the central ring for total RT and age were significantly positively correlated ( $cc = 0.327$ ;  $p = 0.018$ ), as shown in Figure 3. No significant correlations were observed between RNFL thickness and MAIA sensitivity and age, disease evolution, or HbA1c levels, as indicated in Figure 3.

Structural and functional correlations were demonstrated in the DM2 group. MAIA sensitivities and RNFL thickness were negatively correlated ( $r = -0.324$ ,  $p = 0.021$ , and  $r = -0.443$ ,  $p = 0.001$ , in the C and IN areas, respectively). In addition, positive and significant correlations between MAIA sensitivities and GCL++ thickness were detected ( $r = 0.339$ ,  $p = 0.015$ , and  $r = 0.316$ ,  $p = 0.024$ , in the OI and ON areas, respectively). No significant correlation was found between MAIA sensitivities and GCL+ thickness in any of the analysed sectors, as shown in Figure 4.



**Figure 3.** Correlation coefficients and statistical significance ( $p$  value) of retinal, retinal nerve fibre layer (RNFL), GCL+ (GC-IPL), GCL++ protocol (ILM-IPL/INL [GCC]) thickness, and mean retinal sensitivity in dB measured with the MAIA microperimeter represented in the nine areas of the early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) grid (OS, outer superior; OT, outer temporal; OI, outer inferior; ON, outer nasal; IS, inner superior; IT, inner temporal; II, inner inferior; IN, inner nasal; and C, central) and where temporal quadrants are represented on the left and nasal quadrants are represented on the right, with age, time of DM evolution, and glycosylated haemoglobin (HbA1c) levels (%) in DM2 patients. The values that reached statistical significance ( $p < 0.05$ ) are shown in bold with a grey background.



**Figure 4.** Correlation coefficients and statistical significance ( $p$  value) between MAIA retinal sensitivity and retinal nerve fibre layer (RNFL), GCL+ (GC-IPL), and GCL++ protocol (ILM-IPL/INL [GCC]) in DM2 patients in the nine areas of the early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) grid (OS, outer superior; OT, outer temporal; OI, outer inferior; ON, outer nasal; IS, inner superior; IT, inner temporal; IL, inner inferior; IN, inner nasal; and C, central), where temporal quadrants are represented left and nasal quadrants are represented right. The values that reached statistical significance ( $p < 0.05$ ) are shown in bold with a grey background.

### 3.5. RNFL and GCL Thickness Correlations

The correlations between RNFL and GCL thicknesses and the metabolic characteristics of DM2 patients were evaluated. There were different significant correlations, as shown in Supplementary Tables S1–S3.

## 4. Discussion

Our results suggested structural and functional changes in patients with moderate DR without DME. Even though early changes in preclinical DR remain elusive, numerous studies have demonstrated early neurodegeneration prior to DR manifestations, with an impairment of the neurovascular unit—including neurons, glia, and vasculature [13]—and structural and functional changes—including RNFL thinning, prior to the appearance of other DR signs, which may be considered a marker of this disease [14]. Neurodegeneration will progress as soon as vascular lesions appear with a higher impairment of retinal neurons. Our goal is to achieve early detection of this neuronal damage with simple, non-invasive techniques and descriptive markers.

The inner retina is highly susceptible to metabolic stress because of its high metabolic demand and relatively lower blood perfusion. Chronic hyperglycaemia is thought to affect retinal ganglion cells, altering their function and leading to their impairment and death, with consequent GC-IPL and RNFL thickness loss [15]. Retinal neural cell apoptosis could be related to neurofilament accumulation in the RNFL, secondary to changes in retrograde axonal transport, a rise in extracellular glutamate levels due to the impairment of Müller cells, toxicity to neurons, an increase in neurotoxic factors [16], and reactive changes in microglia [8]. Moreover, the production of erythropoietin and inflammatory mediators associated with increased levels of vascular endothelial growth factor may cause vascular damage and impair the ability to regulate local blood flow [16,17].

We found total RT thinning at the parafoveal ring, with a reduction in both GCL and IPL thickness, which has been demonstrated by previous studies [15,16]. This suggests that ganglion cells are one of the most susceptible to neurodegenerative and vascular effects in DM patients. In the same manner that has already been demonstrated in several neurodegenerative diseases, such as glaucoma, multiple sclerosis, Parkinson's disease, and Alzheimer's disease, neurodegeneration was demonstrated via macular RNFL thinning [18]. Specifically, we found significant differences in the ON quadrant compared to

healthy control subjects. These findings were similar to those of other researchers, such as Carpineto et al. [19] and Jia et al. [20]. There are few previous studies evaluating macular RNFL thinning that focus on the peripapillary RNFL (pRNFL) thickness, and the results and the affected quadrants of these studies varied [19–23]. These discrepancies may be explained by differences in age, glycaemic status, DR severity, DM duration, and comorbidities among the studied populations, in addition to using different imaging modalities and programmes to measure pRNFL.

The study of GCL and RT thickness revealed a decrease with age in the perifoveal ETDRS areas. Although GCL+ and GCL++ presented a significant negative correlation in the outer ring (OS, OT, OI, and ON), there was no significant correlation between the RNFL and age, which may support ganglion cell loss before the RNFL is affected. Previous researchers, such as Rasheed et al., described an association between DR and diabetic neuropathy. In this study, patients with neuropathy showed significant thinning in the GC-IPL earlier than in the pRNFL. Similarly, Srinivasan et al. suggested that ganglion cell loss is a predictor of diabetic peripheral neuropathy [22].

We could not confirm RNFL thickness deterioration with DR progression, diabetes progression time, or glycaemic variability. Contrary to our results, other researchers, such as Shi et al. [24] and Dashmana et al. [23], demonstrated that thinning of the RNFL in the superior quadrant was significantly correlated with diabetes duration, suggesting that the thinning of this sector could be the primary structural change in DR. Carpineto et al. [19] described that both the average ( $r = -0.236$ ,  $p = 0.033$ ) and inferior quadrants ( $r = -0.216$ ,  $p = 0.049$ ) of RNFL thickness were negatively correlated with HbA1c levels.

We also analysed systemic risk factors (including serum lipid levels, blood pressure, and glucose levels) to determine their involvement in diabetic retinal changes. We excluded patients with poor control of their arterial blood pressure or a diagnosis of metabolic syndrome to avoid confounding factors. Our results revealed a significant positive correlation between LDL-C and RNFL ( $r = 0.285$ ,  $p = 0.037$ ). Cholesterol is an important component of myelin and regulates membrane fluidity and signalling proteins. An increase in total cholesterol (TC) and LDL has been related to adverse effects on the RNFL [25]. Additionally, significant negative correlations between HDL-C levels and RNFL thickness ( $r = -0.362$ ,  $p = 0.007$ , and  $r = -0.292$ ,  $p = 0.032$ , in the IT and C global sectors, respectively) and C global GCL+ and GCL++ ( $r = -0.379$ ,  $p = 0.007$ , and  $r = -0.383$ ,  $p = 0.005$ , respectively) were found by other researchers, such as Shi et al. ( $r = -0.223$ ,  $p = 0.042$ ) [24]. HDL cholesterol has been associated with a thinning of the RNFL in multiple sclerosis ( $r = -0.15$ ,  $p = 0.008$ ). This has been postulated to be related to blood–brain barrier breakdown and the extravasation of immune cells through the vascular endothelium in other neurodegenerative diseases [26]. The involvement of the HDL pathway in visual dysfunction has been determined in age-related macular degeneration and supports the plausibility of the associations we have identified [27].

We also found that triglyceride (TG) levels were positively correlated with GCL+ thickness in the OS, II, and IS areas ( $r = 0.296$ ,  $p = 0.037$ ;  $r = 0.307$ ,  $p = 0.030$ ; and  $r = 0.296$ ,  $p = 0.037$ , respectively), which to our knowledge has not been determined previously in the literature. Similarly, previous studies have described a positive correlation between TG levels and INL thickness in DM1 subjects ( $r = 0.48$ ,  $p = 0.011$ ) [28]. This may differ from the results of Shi et al., which revealed a negative correlation between RNFL thickness in the inferior quadrant and TG levels ( $r = -0.232$ ,  $p = 0.035$ ) [24]. These findings may promote future lines of work that seek to determine the role of serum lipids in retinal neurodegeneration prevention.

Contrary to our expectations, creatinine levels were positively correlated with the central area of the RNFL and the GCL+ and GCL++ thicknesses ( $r = 0.452$ ,  $p = 0.001$ ;  $r = 0.475$ ,  $p < 0.001$ ; and  $r = 0.448$ ,  $r = 0.001$ , respectively) and negatively associated with filtrate rate (FR) deterioration ( $r = -0.465$ ,  $p < 0.001$ ;  $p = -0.371$ ,  $p = 0.08$ ; and  $r = 0.383$ ,  $p = 0.008$ , respectively). Previous studies have described retinal thinning as a biomarker of renal impairment in patients with diabetes ( $p = 0.009$ ) [29]. Srivastav et al. found positive

correlations between RNFL thinning and increases in serum urea and creatinine levels in patients with different DR stages [30].

Regarding the relationship between structural and functional findings, we correlated macular ETDRS grid areas with the corresponding microperimetry points. We did not contemplate GC displacement from their receptive, as evidence is not strong enough due to great variability between subjects [31,32]. Although decreased retinal sensitivity could be reflected by the significantly worse BCVA, the correlations support our results. We observed negative correlations between the RNFL in the IN and in the C areas and retinal sensitivity measured with the MAIA, which were not present when evaluating the GCL+. These findings are similar to those of Orduna et al. [11]. Clinical diabetes may critically affect patients' vision, even producing permanent visual acuity loss. The diagnosis and follow-up of these patients require adequate functional tests, and microperimetry obtains an exact fundus-related quantification of retinal sensitivity [10]. There is substantial evidence of reduced microperimetric sensitivity in patients with diabetes either with or without DR compared to healthy subjects without diabetes, as evaluated using different microperimetry equipment, including Optos OCT/SLO/microperimeter [33], MP1/Nidek Technologies [23], MP-3/Nidek [34], or, as in our study, the Macular Integrity Assessment Device (MAIA). Contrary to our results, no significant correlation between retinal sensitivity and retinal thickness was found by previous researchers, such as Chai et al. [14] or Rohrschneider et al. [9].

However, we have to consider the limitations of microperimetry, which include sources of variability such as fatigue and learning. Differences between right and left eye parameters related to fatigue have been described. This is because the duration of the test exceeds 5 min, and in convention, the right eye is analysed first [35]. This could be reduced by testing only the study eye or if we perform it before the rest of the tests. Regarding microperimetry learning tests, it is not clear if performing a theme is recommended, as the duration of learning effects is unknown [35].

## 5. Conclusions

In conclusion, our results suggest that the structure (total retinal, GC-IPL, and RNFL thicknesses) and function (retinal sensitivity) of the retina in patients with moderate diabetes display some changes. We demonstrated a correlation between the RNFL and retinal sensitivity measured with the MAIA, and the findings were not present when evaluating the GCL+. The diagnosis of GCL and RNFL thinning in DM2 patients without DR prior to the appearance of other DR signs would enable an accurate approach to this growing disease, with personalised assessment based on the DR course or stage. Future studies require a larger sample size, which should include patients in different stages of the disease and both DM1 and DM2 patients. Systemic risk factors are expected to be involved in retinal neurodegeneration in DM2 patients. However, the role of these factors remains largely unknown, and future lines of work should be promoted to determine it.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/biomedicines11112972/s1>, Table S1: Correlations between clinical variables (HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; TG, triglycerides; FR, filtrate rate; BCVA, best-corrected visual acuity; SE, spherical equivalent; AL, axial length; IOP, intraocular pressure) in DM2 patients and RNFL thickness by OCT in the nine areas of the early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) grid (OS, Outer Superior; OT, Outer Temporal; OI, Outer Inferior; ON, Outer Nasal; IS, Inner Superior; IT, Inner Temporal; II, Inner Inferior; IN: Inner Nasal; C, Central; and where temporal quadrants are represented left and nasal quadrants are represented right); Table S2: Correlations between clinical variables (HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; TG, triglycerides; FR, filtrate rate; BCVA, best-corrected visual acuity; SE, spherical equivalent; AL, axial length; IOP, intraocular pressure) in DM2 patients and GCL+ (GC-IPL) thickness by OCT in the nine areas of the early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) grid (OS, Outer Superior; OT, Outer Temporal; OI, Outer Inferior; ON, Outer Nasal; IS, Inner Superior; IT, Inner Temporal; II, Inner Inferior; IN: Inner Nasal; C, Central; and where temporal quadrants are represented

left and nasal quadrants are represented right); Table S3: Correlations between clinical variables (HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; TG, triglycerides; FR, filtrate rate; BCVA, best-corrected visual acuity; SE, spherical equivalent; AL, axial length; IOP, intraocular pressure) in DM2 patients and GCL ++ (ILM-IPL/INL [GCC]) thickness by OCT in the nine areas of the early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) grid (OS, Outer Superior; OT, Outer Temporal; OI, Outer Inferior; ON, Outer Nasal; IS, Inner Superior; IT, Inner Temporal; II, Inner Inferior; IN: Inner Nasal; C, Central; and where temporal quadrants are represented left and nasal quadrants are represented right).

**Author Contributions:** G.F.-E., A.S.-C. and M.D.D.-B. analysed and interpreted the patient data regarding ophthalmic disease. A.B.-M., S.B.-A., M.S.-P. and M.D.D.-B. performed the ocular examination of the eye. A.B.-M., I.P. and E.O.-H. were major contributors in writing the manuscript. I.P. have a substantial contribution in the draft and revision of the work. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by the DGA group B08\_20R: Investigación en Retina y Sistema Visual and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) funds: “Una manera de hacer Europa”, Instituto de Salud Carlos III (PI20/00740-FEDER).

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee for Clinical Research of Aragon (CEICA PIII9/252).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** A.B.-M. is the guarantor of this work and, as such, had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

**Conflicts of Interest:** All authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organisation or entity with any financial interests or nonfinancial interests in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

## References

- Williams, R.; Karuranga, S.; Malanda, B.; Saeedi, P.; Basit, A.; Besançon, S.; Bonner, C.; Esteghamati, A.; Ogurtsova, K.; Zhang, P.; et al. Global and regional estimates and projections of diabetes-related health expenditure: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2020**, *162*, 108072. [CrossRef] [PubMed]
- Williams, R.; Airey, M.; Baxter, H.; Forrester, J.; Kennedy-Martin, T.; Girach, A. Epidemiology of diabetic retinopathy and macular oedema: A systematic review. *Eye* **2004**, *18*, 963–983. [CrossRef]
- Sohn, E.H.; Van Dijk, H.W.; Jiao, C.; Kok, P.H.B.; Jeong, W.; Demirkaya, N.; Garmager, A.; Wit, E.; Kucukercilioğlu, M.; Van Velthoven, M.E.J.; et al. Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2016**, *113*, E2655–E2664. [CrossRef] [PubMed]
- Chhablani, J.; Sharma, A.; Goud, A.; Peguda, H.K.; Rao, H.L.; Begum, V.U.; Barteselli, G. Neurodegeneration in Type 2 Diabetes: Evidence From Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2015**, *56*, 6333–6338. [CrossRef] [PubMed]
- Spaide, R.E.; Fujimoto, J.G.; Waheed, N.K.; Sadda, S.R.; Staurenghi, G. Optical coherence tomography angiography. *Prog. Retin. Eye Res.* **2018**, *64*, 1–55. [CrossRef]
- Fernández-Espinosa, G.; Boned-Murillo, A.; Orduna-Hospital, E.; Diaz-Barreda, M.D.; Sánchez-Cano, A.; Bielsa-Alonso, S.; Acha, J.; Pinilla, I. Retinal Vascularization Abnormalities Studied by Optical Coherence Tomography Angiography (OCTA) in Type 2 Diabetic Patients with Moderate Diabetic Retinopathy. *Diagnostics* **2022**, *12*, 379. [CrossRef]
- Fernández-Espinosa, G.; Orduna-Hospital, E.; Boned-Murillo, A.; Diaz-Barreda, M.D.; Sanchez-Cano, A.; Sopena-Pinilla, M.; Pinilla, I. Choroidal and Retinal Thicknesses in Type 2 Diabetes Mellitus with Moderate Diabetic Retinopathy Measured by Swept Source OCT. *Biomedicines* **2022**, *10*, 2314. [CrossRef]
- McAnany, J.J.; Persidina, O.S.; Park, J.C. Clinical electroretinography in diabetic retinopathy: A review. *Surv. Ophthalmol.* **2022**, *67*, 712–722. [CrossRef]
- Rohrschneider, K.; Bültmann, S.; Springer, C. Use of fundus perimetry (microperimetry) to quantify macular sensitivity. *Prog. Retin. Eye Res.* **2008**, *27*, 536–548. [CrossRef]
- Midena, E.; Vujosevic, S. Microperimetry in diabetic retinopathy. *Saudi J. Ophthalmol.* **2011**, *25*, 131. [CrossRef]
- Orduna-Hospital, E.; Otero-Rodríguez, J.; Perdices, L.; Sánchez-Cano, A.; Boned-Murillo, A.; Acha, J.; Pinilla, I. Microperimetry and Optical Coherence Tomography Changes in Type-1 Diabetes Mellitus without Retinopathy. *Diagnostics* **2021**, *11*, 136. [CrossRef] [PubMed]

12. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* **1991**, *98*, 823–833.
13. Simó, R.; Stitt, A.W.; Gardner, T.W. Neurodegeneration in diabetic retinopathy: Does it really matter? *Diabetologia* **2018**, *61*, 1902. [\[CrossRef\]](#)
14. Chai, Q.; Yao, Y.; Guo, C.; Lu, H.; Ma, J. Structural and functional retinal changes in patients with type 2 diabetes without diabetic retinopathy. *Ann. Med.* **2022**, *54*, 1816. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Chen, X.; Nie, C.; Gong, Y.; Zhang, Y.; Jin, X.; Wei, S.; Zhang, M. Peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer Changes in Preclinical Diabetic Retinopathy: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0125919. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Stem, M.S.; Gardner, T.W. Neurodegeneration in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy: Molecular Mechanisms and Therapeutic Implications. *Curr. Med. Chem.* **2013**, *20*, 3241. [\[CrossRef\]](#)
17. Barber, A.J.; Lieth, E.; Khir, S.A.; Antonetti, D.A.; Buchanan, A.G.; Gardner, T.W. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J. Clin. Invest.* **1998**, *102*, 783. [\[CrossRef\]](#)
18. Antonetti, D.A.; Klein, R.; Gardner, T.W. Diabetic Retinopathy. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *366*, 1227–1239. [\[CrossRef\]](#)
19. Carpineto, P.; Toto, L.; Aloia, R.; Ciciarelli, V.; Borrelli, E.; Vitacolonna, E.; Di Nicola, M.; Di Antonio, L.; Mastropasqua, R. Neuroretinal alterations in the early stages of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eye* **2016**, *30*, 673. [\[CrossRef\]](#)
20. Jia, X.; Zhong, Z.; Bao, T.; Wang, S.; Jiang, T.; Zhang, Y.; Li, Q.; Zhu, X. Evaluation of Early Retinal Nerve Injury in Type 2 Diabetes Patients Without Diabetic Retinopathy. *Front. Endocrinol.* **2020**, *11*, 475672. [\[CrossRef\]](#)
21. Mehboob, M.A.; Amin, Z.A.; Ul Islam, Q. Comparison of retinal nerve fiber layer thickness between normal population and patients with diabetes mellitus using optical coherence tomography. *Pak. J. Med. Sci.* **2019**, *35*, 29. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Srinivasan, S.; Pritchard, N.; Sampson, G.P.; Edwards, K.; Vagenas, D.; Russell, A.W.; Malik, R.A.; Efron, N. Diagnostic capability of retinal thickness measures in diabetic peripheral neuropathy. *J. Optom.* **2017**, *10*, 215. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Dhasmana, R.; Sah, S.; Gupta, N. Study of Retinal Nerve Fibre Layer Thickness in Patients with Diabetes Mellitus Using Fourier Domain Optical Coherence Tomography. *J. Clin. Diagn. Res.* **2016**, *10*, NC05. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Shi, R.; Guo, Z.; Wang, F.; Li, R.; Zhao, L.; Lin, R. Alterations in retinal nerve fiber layer thickness in early stages of diabetic retinopathy and potential risk factors. *Curr. Eye Res.* **2017**, *43*, 244–253. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Weinstock-Guttman, B.; Zivadinov, R.; Mahfooz, N.; Carl, E.; Drake, A.; Schneider, J.; Teter, B.; Hussein, S.; Mehta, B.; Weiskopf, M.; et al. Serum lipid profiles are associated with disability and MRI outcomes in multiple sclerosis. *J. Neuroinflamm.* **2011**, *8*, 127. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Kardys, A.; Weinstock-Guttman, B.; Dillon, M.; Masud, M.W.; Weinstock, N.; Mahfooz, N.; Lang, J.K.; Weinstock, A.; Lincoff, N.; Zivadinov, R.; et al. Cholesterol affects retinal nerve fiber layer thickness in patients with multiple sclerosis with optic neuritis. *Eur. J. Neurol.* **2013**, *20*, 1264–1271. [\[CrossRef\]](#)
27. Ebrahimi, K.B.; Handa, J.T. Lipids, Lipoproteins, and Age-Related Macular Degeneration. *J. Lipids* **2011**, *2011*, 802059. [\[CrossRef\]](#)
28. Picconi, F.; Parravano, M.; Ylli, D.; Pasqualetti, P.; Coluzzi, S.; Giordani, I.; Malandrucchio, L.; Lauro, D.; Scarinci, F.; Giorno, P.; et al. Retinal neurodegeneration in patients with type 1 diabetes mellitus: The role of glycaemic variability. *Acta Diabetol.* **2017**, *54*, 489. [\[CrossRef\]](#)
29. Liu, S.; Wang, W.; Tan, Y.; He, M.; Wang, L.; Li, Y.; Huang, W. Correlation between Renal Function and Peripapillary Choroidal Thickness in Treatment-Naïve Diabetic Eyes Using Swept-Source Optical Coherence Tomography. *Curr. Eye Res.* **2020**, *45*, 1526–1533. [\[CrossRef\]](#)
30. Srivastav, K.; Saxena, S.; Mahdi, A.A.; Kruzliak, P.; Khanna, V.K. Increased serum urea and creatinine levels correlate with decreased retinal nerve fibre layer thickness in diabetic retinopathy. *Biomarkers* **2015**, *20*, 470–473. [\[CrossRef\]](#)
31. Turpin, A.; Chen, S.; Sepulveda, J.A.; McKendrick, A.M. Customizing Structure-Function Displacements in the Macula for Individual Differences. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2015**, *56*, 5984–5989. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Drasdo, N.; Millican, C.L.; Katholi, C.R.; Curcio, C.A. The Length of Henle Fibers in the Human Retina and a Model of Ganglion Receptive Field Density in the Visual Field. *Vision Res.* **2007**, *47*, 2901. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Park, J.C.; Chen, Y.F.; Liu, M.; Liu, K.; McAnany, J.J. Structural and functional abnormalities in early-stage diabetic retinopathy. *Curr. Eye Res.* **2020**, *45*, 975. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Alonso-Plasencia, M.; Abreu-González, R.; Gómez-Culebras, M.A. Structure-Function Correlation Using OCT Angiography And Microperimetry In Diabetic Retinopathy. *Clin. Ophthalmol.* **2019**, *13*, 2181. [\[CrossRef\]](#)
35. Taylor, L.J.; Josan, A.S.; Jolly, J.K.; Maclaren, R.F. Microperimetry as an Outcome Measure in RPGR-associated Retinitis Pigmentosa Clinical Trials. *Transl. Vis. Sci. Technol.* **2023**, *12*, 4. [\[CrossRef\]](#)

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



# DISCUSIÓN GLOBAL



## 6. DISCUSIÓN GLOBAL

Los resultados de las publicaciones que componen esta tesis aportan información relevante a cerca de la ND que tiene lugar a nivel retiniano en tiempos precoces de la diabetes, en pacientes sin signos de RD, al igual que en enfermos con RD moderada, pero sin afectación macular por EMD. La hipótesis de la RD como un mecanismo exclusivamente microvascular ha quedado desterrada dada la gran relevancia demostrada por la ND retiniana, de modo que la ADA ha modificado su definición de la RD considerándola una complicación neurovascular altamente específica, que aparece tanto en DM1 como DM2, relacionada con el tiempo de duración de la DM así como con el control glucémico (23). Coexisten por tanto dos procesos, uno neuropático y uno vascular, sin conocerse bien cuál es el vínculo entre ellos (84). En nuestros trabajos nos hemos centrado en la valoración funcional de esta ND utilizando la microperimetría, y su relación con las alteraciones anatómicas valoradas por OCT y en las alteraciones vasculares valoradas mediante la OCTA.

Las alteraciones gliales, neuronales y la disfunción microvascular son interdependientes y esenciales en el desarrollo de la RD (84). Hay autores que consideran que la ND retiniana es una manifestación más de la neuropatía diabética, aunque parece evidente que se trata de la coexistencia de ambos procesos (19,84). Aunque la ND retiniana en la diabetes se ha descrito ampliamente en la literatura, existen pocos trabajos que hayan logrado correlacionar las modificaciones a nivel del espesor retiniano de la retina interna con cambios precoces a nivel funcional analizados mediante microperimetría. Nuestro grupo lo ha estudiado tanto en pacientes DM1 sin RD como en pacientes DM2 con RD moderada, sin que existiera EMD, lo que supondría que la afectación funcional macular debería ser leve y, sin embargo, hemos visto una alteración clara en la sensibilidad macular que nos sugiere también la coexistencia de la ND. La apoptosis celular, de preferencia de las CG y las células amacrinas con gliosis reactiva por activación de las células gliales, sobre todo células de Müller, así como las anomalías de las UNV, pueden modificar los espesores de la retina interna y alterar la función de la retina (84,94–96).

Actualmente, cada vez se considera más necesario el hallazgo de biomarcadores de ND precoz previos a la aparición de cualquier signo vascular de RD y que justificarían estos cambios precoces a nivel funcional, así como las pérdidas visuales que se producen en pacientes diabéticos en los que no objetivamos hallazgos vasculares por las pruebas de imagen convencionales. El objetivo sería conseguir una detección precoz de este daño neuronal con

técnicas sencillas, no invasivas y basadas en la determinación de marcadores descriptivos. Dichos biomarcadores harían posible la incorporación de nuevas medidas terapéuticas preventivas con el fin de detener o enlentecer esta pérdida neuronal. Además, deberían implementarse antes de la instauración de los signos vasculares, ya que, en el momento actual, las opciones terapéuticas se instauran una vez se detectan cambios vasculares, con fármacos que modifiquen los cambios de la permeabilidad vascular retiniana y reduzcan la inflamación. En nuestro trabajo nos hemos centrado en la búsqueda de biomarcadores con imagen multimodal y función retiniana, aunque la investigación en este campo no está sólo centrada en biomarcadores de imagen sino que también son objeto de estudio biomarcadores séricos incluyendo la concentración elevada de ICAM-1 y de la molécula de adhesión celular vascular (VCAMf-1) (97,98) como marcador de daño endotelial, marcadores de inflamación y daño endotelial asociados a la vía del TNF, preferentemente el receptor 1 del TNF (TNFR-I) (99–101) y otros marcadores de inflamación cardiovascular o niveles elevados de endotelina-1 (102–104), MMP-9 (105,106) o TGF- $\beta$  entre otros (107,108). También se investiga sobre marcadores de estrés oxidativo a nivel sérico, como factor predictivo tanto de desarrollo como de progresión de la RD (109). La detección de marcadores de la enfermedad como factores predictivos puede ayudar a definir que pacientes pueden ser susceptibles de una terapia determinada, dentro del concepto de las terapias personalizadas (110).

## 6.1. Sobre la metodología del estudio

La muestra de los estudios descriptivos se seleccionó a partir de pacientes derivados desde Consultas Externas o los Centros Médicos de Especialidades de Oftalmología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa y del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza. Se decidió seleccionar pacientes con DM1 sin RD pero con una evolución de la enfermedad prolongada que justificara la posible existencia de cambios neuronales, y DM2 de cualquier tiempo de evolución, siempre y cuando hubieran sido diagnosticados al menos un año antes, pero presentaran ya signos de RD moderada, ambos previos a la afectación de pruebas de función visual, como sería el caso de la valoración de la AV, considerando que, de este modo, la muestra sería representativa de nuestra población diabética.

Un posible sesgo de pertenencia o membresía puede derivar de la selección del grupo control, que se compuso por voluntarios sanos pertenecientes al personal del hospital, amigos y familiares de los investigadores.

En todos los estudios, antes de comenzar se comprobó que no hubiera diferencias entre los grupos a estudio; no se encontraron diferencias significativas en variables tales como el sexo y la edad (respecto a esta última,  $p=0,361$ ,  $p=0,38$ , y  $p=0,082$ , respectivamente) y otras variables que confirmaban la no heterogeneidad de la muestra (a excepción de los valores de la PIO en el segundo artículo y la MAVC en el último). La PIO se limitó a valores inferiores a 20 mm Hg al ser este el límite a partir del cual aumenta del riesgo de pérdida de CG en contexto de glaucoma, factor confusor, en caso de no tenerse en cuenta, en la valoración de los resultados ya que podría ser causa de una pérdida de CG y de CFNR.

No hemos estudiado otros datos funcionales como la AV con distintos contrastes o el test de sensibilidad al contraste, que nos podía haber indicado otras alteraciones en la funcionalidad de la retina.

El análisis de parámetros analíticos, como la HbA1c, el perfil lipídico y el FR, se tomó como reflejo del control general de la enfermedad.

## 6.2. Sobre el espesor retiniano

La retina interna es muy susceptible al estrés metabólico debido a su alta demanda metabólica y su perfusión sanguínea relativamente menor en comparación con la retina externa, cuya vascularización depende de la coroides. Las CG son una de las neuronas más susceptibles a los efectos neurodegenerativos y vasculares en los pacientes con DM. Se cree que la hiperglucemia crónica afecta a las CG de la retina, alterando su función y provocando una degeneración y apoptosis progresiva con la consiguiente pérdida de espesor de CCG-CPI (secundario a la alteración de los cuerpos de las CG de la retina y sus dendritas) y CFNR (por apoptosis de los axones) (5,45) antes incluso de la aparición de hallazgos microvasculares por oftalmoscopia.

Gracias a los avances en resolución y tiempo de adquisición de las nuevas técnicas de imagen, especialmente la OCT, y su capacidad de segmentar las capas de la retina de forma fiable y reproducible, podemos identificar la pérdida selectiva de determinados tipos celulares, como es la alteración precoz de las CG, antes de que las lesiones vasculares sean evidentes (19). Así, de la misma manera que ya se ha demostrado en varias enfermedades neurodegenerativas como el glaucoma, la Esclerosis Múltiple, la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer, la ND queda patente por el adelgazamiento macular del espesor de la CFNR (111–118).

En el caso de la DM, investigadores como Ng y cols. (119), Scarinci y cols. (120), y Gundogan y cols. (121) consideraron que la medición del espesor de la CCG aporta más datos que la valoración de la CFNR para cuantificar esta pérdida de CG, porque los cuerpos de las CG tienen un diámetro entre 10 y 20 veces mayor que el de sus axones que forman la CFNR y tienen diferentes necesidades metabólicas, que podría producir resultados diferentes a pesar del mismo daño. Estudios longitudinales han cuantificado la pérdida de CG a un ritmo de aproximadamente 0,29  $\mu\text{m}$  de espesor por año, datos similares a los observados en el glaucoma (5).

En este sentido, nuestros resultados revelan un adelgazamiento a nivel del GCL+ (incluyendo CCG+CPI) en el grupo DM2 con RD moderada sin EMD, a nivel de todos los cuadrantes parafoveales, a favor de la coexistencia de una ND precoz y que concuerda con trabajos previos como el publicado por Bandello y cols. (122). Autores como Chhablani y cols. (21) no encontraron diferencias significativas en el espesor medio de la CFNR macular entre un grupo control y 3 tipos de pacientes diabéticos (sin RD, con RDNP y con RDP), mientras que el complejo CCG-CPI fue significativamente más delgado en todos los pacientes con diabetes, incluidos

aquellos sin RD. Estos autores, además, encontraron un mayor adelgazamiento de la zona nasal del GCL+ similar a lo que ocurre en las enfermedades neurodegenerativas.

Cuando evaluamos el espesor de las capas incluidas en el protocolo GCL++ (el denominado GCC), el área IS mostró un adelgazamiento significativo en el grupo DM2 ( $p=0,037$ ) de forma que el grosor del GCC macular disminuye en pacientes con DM antes de aparecer una pérdida de la CFNR peripapilar (pCFNR). En este sentido, otro estudio realizado en DM2 sin RD detectó una reducción del GCC en la zona macular superior y que este disminuía en pacientes con DM antes de la pérdida de la CFNR peripapilar (123). Esta pérdida de espesor superior en pacientes DM se justifica con una mayor afectación de la retina superior en animales diabéticos, con un mayor número de MA en la retina superior (124). Otros estudios como el de Salvi y cols. (19) analizaron el GCC en pacientes con DM2 e individuos sanos y no encontraron diferencias entre los grupos. Existen trabajos que no se han centrado únicamente en la valoración de las IRL si no que han estudiado la afectación de la retina externa; autores como Tavares Ferreira y cols. detectaron una pérdida selectiva en la capa de los fotorreceptores en los pacientes DM comparada con el grupo de sujetos sanos (125).

Aunque los protocolos GCL+ y GCL++ presentaron una correlación negativa significativa con la edad, dicha correlación no fue estadísticamente significativa entre la CFNR y la edad, lo cual respaldaría la existencia de una pérdida de CG antes de que la CFNR se vea afectada. Investigadores anteriores, como Rasheed y cols., describieron una asociación entre la RD y la neuropatía diabética. En este estudio, los pacientes con neuropatía mostraron un adelgazamiento significativo en CCG-CPI antes que en la pCFNR (126). De manera similar, Srinivasan y cols. sugirieron que la pérdida de CG es un predictor de neuropatía periférica diabética (127).

No hemos podido confirmar el adelgazamiento del espesor de la CFNR con la progresión de la RD, el tiempo de progresión de la diabetes o la variabilidad glucémica. Al contrario, otros investigadores como Shi y cols. (20) y Dashmana y cols. (128), demostraron que el adelgazamiento del CFNR en el cuadrante superior se correlacionaba significativamente con los años de duración de la diabetes. Carpineto y cols. (22) describieron que tanto el espesor promedio de la CFNR ( $r=-0,236$ ,  $p=0,033$ ) como el espesor del cuadrante inferior ( $r=-0,216$ ,  $p=0,049$ ) se correlacionaban negativamente con los niveles de HbA1c.

Al analizar el espesor de RT en los pacientes con diabetes, no hemos encontrado disminución del espesor ni en los pacientes DM2 ni en los DM1. En los pacientes DM2 con RD moderada sin EMD, no encontramos diferencias entre los grupos DM2 y control. En nuestro grupo de

pacientes con DM1 nuestros resultados revelaron un aumento del grosor de RT en la mayoría de las áreas del ETDRS excepto TE en estos pacientes. Se trataba de un grupo de DM1 sin RD con un tiempo de evolución de la enfermedad larga (25,88 años de media). Dicho aumento del espesor retiniano a nivel macular puede ser debido a cambios a nivel de la BHR desencadenada por la enfermedad, con aumento de la permeabilidad vascular, extravasación de líquido a nivel extracelular e inflamación o también relacionado con una gliosis reactiva con aumento de las células de Müller y de los astrocitos e incluso una modificación en la altura de las células del EPR (44,129). El espesor de RT no es por tanto un parámetro eficaz por sí solo para la detección de cambios en la retina de pacientes diabéticos. Existe una variabilidad en los datos aportados por los distintos autores y diferencias en relación con el tiempo de evolución (130). Los cambios en RT pueden enmascarar la ND subyacente retiniana, no siendo suficientemente sensibles para la detección de cambios microestructurales a nivel de las IRL o compensando la pérdida de espesor localizado en capas internas con otros aumentos secundarios a la gliosis. Sin embargo, sí que presentaban una disminución de la sensibilidad retiniana en todos los cuadrantes, con una disminución de la integridad macular no significativa, pero con diferencias en el resto de los parámetros incluyendo la fijación. Estos datos apoyan nuestra valoración previa; incluso con anomalías funcionales claras, el espesor de RT no tiene por qué modificarse. Las anomalías funcionales en la sensibilidad macular sin cambios en el OCT estructural apoyan la teoría de la ND.

## 6.3. Sobre la sensibilidad retiniana a nivel macular y estudio anatomofuncional

Hoy en día, en la práctica clínica los oftalmólogos se basan principalmente en los valores de AV y espesor macular obtenidos mediante OCT para establecer la necesidad de tratar a los pacientes con EMD o ver la progresión de la enfermedad, sin considerar otras variables de la función retiniana. Sin embargo, los pacientes diabéticos con AV normal y fondo de ojo de aspecto sano pueden tener cambios a nivel funcional que alteren la sensibilidad y funcionalidad macular. Algunos pacientes con diabetes pueden presentar una visión deteriorada en condiciones de baja luminosidad y dificultades para reconocer el contorno de objetos en condiciones de bajo contraste incluso con buena AV y campos visuales no alterados, afectando a lo que se ha denominado la visión funcional, que describe el impacto de la vista en la calidad de vida desde el punto de vista del paciente (131,132).

En este sentido, la microperimetría es una herramienta útil para evaluar la sensibilidad retiniana con una elevada sensibilidad y especificidad, así como para evaluar el daño neuroretiniano temprano secundario a esta patología (17,18,133–136). La microperimetría ofrece varias ventajas frente a la perimetría estándar, que depende de una correcta y estable fijación foveal. Por una parte, la microperimetría permite correlacionar topográficamente la retina y sus anomalías con las alteraciones funcionales, determinar valores de fijación foveal o extrafoveal y delimitar escotomas, así como realizar exámenes de seguimiento para valorar los mismos puntos retinianos, independientemente de cualquier cambio en las características de fijación (131). Además, el examen de campo visual convencional es inadecuado para la evaluación funcional precisa de enfermedades maculares y la detección de escotomas pequeños, especialmente si la función foveal está comprometida y el paciente tiene una fijación extrafoveal inestable (137). En los últimos años, la microperimetría se ha utilizado en el diagnóstico y seguimiento de diferentes trastornos maculares como la DMAE (138–141), la maculopatía miópica (142,143), las distrofias maculares (142,143) y el EMD (144–146), y como terapia visual para fijaciones no foveales (147–151).

La implicación de pruebas funcionales como la microperimetría en el estudio de las enfermedades neurodegenerativas está en auge (113,118,152). La microperimetría se ha postulado como un biomarcador del riesgo de desarrollo de deterioro cognitivo y Alzheimer en pacientes con DM2. Ciudin y cols. han demostrado que la sensibilidad retiniana está disminuida en relación con la ND cerebral en pacientes con DM2 y enfermedad de Alzheimer, así como en aquellos con deterioro cognitivo leve en comparación con pacientes con cognición normal. Estos hallazgos además se han correlacionado con alteraciones a nivel de neuroimagen (con resonancia magnética nuclear y la tomografía de emisión de positrones con Fluorodesoxiglucosa -PET- FDG-) (153). Teniendo en consideración estas evidencias, uno de los criterios de inclusión de nuestros trabajos era que los enfermos no presentaran ningún grado de deterioro cognitivo que pudiera enmascarar el resultado real de la prueba.

La disminución de la sensibilidad retiniana a nivel macular en pacientes con diabetes con o sin RD, incluso con buenos valores de MAVC en comparación con sujetos sanos, ya ha sido ampliamente constatada en la literatura mediante la evidencia aportada por estudios realizados con los diversos aparatos de microperimetría, desde el Optos OCT/SLO (154), MP1/Nidek Technologies (128,134,155–158), MP-3/Nidek (5,159), hasta el que es objeto de esta tesis, el MAIA (155,160,161).

Nuestros trabajos confirmaron la presencia de esta disminución de la función macular mediante la medición de la sensibilidad retiniana con MAIA, así como su correlación con diferentes parámetros. En el estudio anatomofuncional observamos una correlación negativa entre la AV y la sensibilidad retiniana, ya que una buena AV depende de una correcta función neuronal de la retina. La sensibilidad macular se correlacionó con los niveles de HbA1c en pacientes con RD ya instaurada, pero sin afectación macular por EMD (162). Autores como Okada y cols. (66) o Nittala y cols. (157) ya describieron la relación entre la sensibilidad macular con la severidad de la enfermedad. Estos últimos informaron de una menor sensibilidad retiniana en pacientes con RD severa en comparación con aquellos con RD leve o moderada, y una pérdida de sensibilidad retiniana en los 2° centrales, y 10° (en el trabajo de Okada) y 20° (en el de Nittala), así como en los cuadrantes superior, inferior y nasal), en pacientes con DM sin RD. Un peor control de la enfermedad se relaciona con un peor pronóstico de la RD y aumenta el riesgo de desarrollar EMD, como informaron van Dijk y cols. (163) y Verma y cols. (155). Otros autores, sin embargo, no han encontrado una relación significativa entre esta pérdida de sensibilidad y la progresión de la enfermedad (18,164).

En personas sanas también está descrita una pérdida de sensibilidad retiniana con la edad, con una reducción media de 0,11 dB/año utilizando el microperímetro MP1 (157). Otros estudios han descrito el mismo fenómeno: la disminución de la sensibilidad fue mayor cuanto más temprana era la edad de aparición de la enfermedad y se relacionó con una mayor gravedad con una mayor progresión de la RD (17,146).

La correlación entre estructura-función, aunque se han estudiado ampliamente en otras patologías como el glaucoma (165,166), han sido poco exploradas en la diabetes. Hemos demostrado correlación entre los resultados a nivel de espesores de IRL y la sensibilidad retiniana a nivel macular en pacientes diabéticos con signos vasculares mínimos o incluso nulos, descrito previamente según nuestro conocimiento por Montesano y cols. (160).

Debemos aclarar que al correlacionar los espesores retinianos con la sensibilidad retiniana a nivel macular no contemplamos el desplazamiento de CG de su receptor, estando desplazado el soma de las neuronas cerca de la mácula central, ya que la evidencia no es lo suficientemente sólida debido a la gran variabilidad entre los sujetos (167,168). Mientras que algunos autores determinan que dicho desplazamiento sería de un total de 626  $\mu\text{m}$  y una longitud de fibras de Henle de 558  $\mu\text{m}$ , estas cifras difieren significativamente de datos disponibles anteriormente, que sugerían longitudes máximas de 280–400  $\mu\text{m}$  para las fibras de Henle (169,170). Las discrepancias pueden atribuirse a diferencias técnicas en la preparación del tejido y sus secciones que podría haber conllevado la omisión del centro foveal, y que se identificaría por la presencia de numerosos núcleos de conos en la capa nuclear externa y/o muchas secciones transversales cortas de las fibras de Henle.

Tanto los pacientes con DM1 sin RD como los pacientes con DM2 con RD moderada sin EMD mostraron una correlación entre la CFNR en las áreas IN y C y la sensibilidad retiniana medida con el MAIA, que no estuvieron presentes al evaluar el GCL+. Aunque algunos autores no han descrito correlación al estudiar la relación entre la sensibilidad retiniana y el espesor de las capas internas de la retina (CCG y CPI) entre pacientes sanos y con DM2 sin RD (18,171), nuestros resultados son congruentes con los presentes en la literatura actual por estudios como el de Verma y cols. (155), que comparó los resultados de 39 pacientes con DM y sin RD con voluntarios sanos de la misma edad demostrando una disminución de la sensibilidad macular a medida que disminuye el grosor central en SD-OCT. De forma similar, Senthil y cols. (161) encontraron una disminución moderadamente significativa de la sensibilidad macular en relación con el aumento del grosor retiniano central ( $p < 0,001$ ).

Se han observado cambios de la sensibilidad retiniana relacionados con la presencia de neuropatía diabética. Neriyanuri y cols. estudiaron 743 pacientes DM2 sin RD, un 24,9% de ellos con neuropatía (172). Los enfermos con neuropatía diabética fueron aquellos que presentaban un mayor número de alteraciones funcionales, incluyendo reducción en la sensibilidad retiniana valorada mediante microperimetría con el MP1, reducción de la sensibilidad al contraste, alteraciones en la visión de color y disminución de la AV. Concluyeron, por tanto, que había una asociación significativa entre la disfunción neuroretiniana y la presencia de neuropatía diabética en los enfermos DM sin RD. Otros estudios han correlacionado la AV con las alteraciones en la sensibilidad retiniana mediante microperimetría MAIA. Recientemente, Tsai y cols. determinaron mediante un análisis multivariable una pérdida promedio de 5 letras en la AV si la sensibilidad retiniana perdiera 0,78 dB (173). También estudiaron la asociación entre un empeoramiento de la sensibilidad retiniana y un aumento de la ZAF, menor DV en PCS y PCP así como la desorganización de las IRL (DRIL).

Nuestros resultados se suman a la creciente evidencia sobre los mecanismos patogénicos de la ND en la RD. Sin embargo, sería necesario realizar estudios longitudinales de series grandes para demostrar esta capacidad de las pruebas de función retiniana tras el diagnóstico de DM, para identificar a los pacientes con un alto riesgo de desarrollar RD. De confirmarse, habría un cambio de paradigma en la filosofía de cómo manejamos la RD hoy en día, con un abordaje centrado en el daño neuronal además del daño vascular y, por lo tanto, mejorarían las posibilidades de obtener mejores resultados visuales en estos pacientes. Asimismo, se podrían plantear estrategias terapéuticas basadas en la neuroprotección o en evitar la apoptosis de las CG (174–176).

## 6.4. Sobre los factores de riesgo sistémicos

Al estudiar los factores de riesgo sistémicos para determinar su participación en los cambios retinianos diabéticos, descubrimos una correlación positiva significativa entre LDL-C y la CFNR ( $r=0,285$ ,  $p=0,037$ ). Es conocido que el colesterol es un componente importante de la mielina, implicada en la regulación del transporte de membrana y las proteínas de señalización. Se ha relacionado un aumento del colesterol total y del LDL-C con efectos adversos sobre la CFNR (177). Por su parte, Shi y cols. ya describieron una correlación negativa entre los niveles de HDL-C y el espesor de la CFNR ( $r=-0,223$ ,  $p=0,042$  en el sector temporal) similar a la descrita en nuestro trabajo ( $r=-0,362$ ,  $p=0,007$ , y  $r=-0,292$ ,  $p=0,032$ , en los sectores globales TI y C, respectivamente) (20). Nosotros además lo correlacionamos con el área C global tanto de GCL+ como de GCL++ ( $r=-0,379$ ,  $p=0,007$  y  $r=-0,383$ ,  $p=0,005$ , respectivamente). El HDL-C se ha asociado con un adelgazamiento de la CFNR en la Esclerosis Múltiple ( $r=-0,15$ ,  $p=0,008$ ), y se ha postulado que este hallazgo está relacionado con la ruptura de la barrera hematoencefálica y la extravasación de células inmunes a través del endotelio vascular en otras enfermedades neurodegenerativas (178). La participación del HDL-C en la disfunción visual se ha determinado en la DMAE y respalda la plausibilidad de las asociaciones que hemos identificado (179).

También encontramos que los niveles de TG se correlacionaron positivamente con el espesor de GCL+ en las áreas OS, II e IS ( $r=0,296$ ,  $p=0,037$ ;  $r=0,307$ ,  $p=0,030$  y  $r=0,296$ ,  $p=0,037$ , respectivamente), lo cual no ha sido reportado previamente en la literatura de acuerdo con nuestro conocimiento. De manera similar, estudios previos han descrito una correlación positiva entre los niveles de TG y el grosor del CNI en sujetos con DM1 ( $r=0,48$ ,  $p=0,011$ ) (180). Esto puede diferir de los resultados de Shi y cols., que revelaron una correlación negativa entre el espesor de la CFNR en el cuadrante inferior y los niveles de TG ( $r=-0,232$ ,  $p=0,035$ ) (20). Estos hallazgos pueden impulsar futuras líneas de trabajo que busquen determinar el papel de los lípidos séricos en la prevención de la ND retiniana.

El adelgazamiento de la retina se ha descrito como un biomarcador de insuficiencia renal en pacientes con DM ( $p=0,009$ ) (181), aunque nuestros resultados no coinciden con lo esperable según lo descrito en la literatura (los niveles de creatinina se correlacionaron positivamente con el área central de la CFNR y los espesores GCL+ y GCL++ ( $r=0,452$ ,  $p=0,001$ ;  $r=0,475$ ,  $p<0,001$ ; y

$r=0,448$ ,  $r=0,001$ , respectivamente ) y asociado negativamente con el deterioro de la tasa de FG ( $r=-0,465$ ,  $p<0,001$ ;  $p=-0,371$ ,  $p=0,08$ ; y  $r=0,383$ ,  $p=0,008$ , respectivamente)). Srivastav y cols. encontraron correlaciones positivas entre el adelgazamiento de la CFNR y el aumento en los niveles séricos de urea y creatinina en pacientes con diferentes etapas de RD (182).

Todos estos hallazgos ayudan a clarificar los mecanismos implicados de forma precoz en los pacientes con diabetes y si se trata de un mecanismo de daño microvascular o neurodegenerativo. Los cambios de sensibilidad sin hallazgos anatómicos en la OCT estructural sugieren que la segunda hipótesis es la opción más plausible, como ya postularon otros estudios. Estas variaciones se han descrito como cambios en el grosor de la IRL en ausencia de signos vasculares de RD detectables en el examen del fondo de ojo realizado por un oftalmólogo. Por lo tanto, una exploración fundoscópica normal no excluye la presencia de alteraciones neurodegenerativas subclínicas o la presencia de alteraciones vasculares en la OCTA que no sean visibles por oftalmoscopia indirecta.

## 6.5. Sobre la OCTA

Dado el gran desafío diagnóstico que supone la RD por su alta prevalencia y la pesada carga asistencial, el desarrollo de nuevas técnicas de imagen como la OCTA tiene un papel fundamental.

Aunque algunas anomalías vasculares todavía presentan discrepancias o son infradiagnosticadas frente a la angiografía convencional (como ocurre con el diagnóstico de MA (183,184) o la detección de fugas vasculares), la OCTA es una herramienta rápida y no invasiva que permite determinar diferentes hallazgos diagnósticos de la enfermedad, permitiendo la evaluación automática de los plexos capilares individuales según el algoritmo de software actual, incluyendo los plexos capilares retinianos (PCS, PCI y PCP) y la CC, detectando características patológicas que en la AGF quedaban limitadas al PCS (5,185). Además, se pueden obtener una variedad de medidas, incluyendo las métricas de la ZAF, índice de acircularidad, relación de ejes, DV, cuantificación de los píxeles que ocupan los vasos (mapas de DV) y otros parámetros vasculares, como la DF, la tortuosidad de los vasos o la densidad del esqueleto, que pueden considerarse marcadores de la enfermedad y su progresión (186–188). Al ser una prueba rápida y no invasiva, sería adecuada para pacientes que requieren exámenes de seguimiento frecuentes como es el caso de los pacientes diabéticos (189,190).

Varios estudios han detectado biomarcadores en la OCTA como factores pronósticos para el desarrollo de RD o para la respuesta al tratamiento (191–196). La utilización de la OCTA con imagen multimodal junto al empleo de biomarcadores sistémicos podría guiar las opciones de seguimiento y tratamiento, así como los cambios vasculares después de la respuesta al tratamiento, aunque se necesitan más estudios para abordar la importancia de todos estos factores (188).

Los cambios en el tamaño de la ZAF son una de las medidas de progresión de la RD más comúnmente evaluadas (197–200). Por otro lado, la DV y la perfusión han comenzado a utilizarse en diversos estudios para evaluar la progresión de la enfermedad de la retina (201). Un estudio reciente plantea un modelo combinado de espesor de áreas de no perfusión capilar y el espesor de GCL+, que podría ser un biomarcador novedoso para predecir la gravedad de la RD con una elevada precisión (188). Existen diversos ensayos clínicos que tratan de determinar el papel de dichos parámetros en la enfermedad, incluido el tamaño de la ZAF, la DV y la perfusión de los vasos (202), como el de Karst y cols., con 33 controles, 51 pacientes sin RD, 41

con RD leve, 37 con RD moderada/severa y 30 con RDP, que demostró una afectación temprana de la perfusión capilar de la retina, incluso en pacientes sin signos de RD (203). Actualmente en fase de reclutamiento, el ensayo clínico NCT03922932 (<https://clinicaltrials.gov>) evaluará áreas de no perfusión en 50 controles, 60 diabéticos sin RD, 25 pacientes con EMD y 60 pacientes con RDNP leve, 60 con RDNP moderada y 60 con RDNP severa (204). Ting y cols. demostraron que los cambios cuantitativos (índice de densidad capilar y DF) en PCS y PCP ocurren en los diferentes niveles de RD y están asociados con factores de riesgo sistémicos (HbA1c, HTA, hiperlipidemia, tabaquismo e insuficiencia renal), aunque no se halló correlación con la AV(205).

También se ha estudiado la NV en pacientes con RDP, revelando tres tipos de neovascularización lo cual podría ser útil para conocer más acerca de la actividad neovascular y planificar tratamientos láser, anti-VEGF o tratamientos quirúrgicos dirigidos (vitrectomías) (206).

Sin embargo, debido a la variabilidad entre sujetos, los resultados de OCTA difieren de un estudio a otro. Del mismo modo, se precisa mayor desarrollo y mejoras en los dispositivos OCTA, de los protocolos, los artefactos, el campo estudiado, la velocidad de adquisición y las mediciones realizadas automáticamente, incluidas las mediciones ZAF y la irregularidad, densidad y el índice de flujo, y otras características cuantitativas que incluyen el calibre de los vasos sanguíneos, la tortuosidad, el coeficiente de ramificación de los vasos y ángulo, etc. (207). El desarrollo de la OCTA de campo amplio (WF-OCTA) ofrecerá grandes ventajas en la detección de cambios vasculares en cualquier localización, estudios de zonas de no perfusión o NV, no solo en la mácula, sino también en la periferia, lo que podría cambiar el diagnóstico y el manejo de la enfermedad (208–213).

Por todo ello, concluimos que las nuevas técnicas de imagen y el abordaje multimodal de la enfermedad mediante el estudio de los espesores de las diferentes capas retinianas utilizando el SS-OCT junto con microperimetría MAIA permitirían detectar hallazgos relacionados con la ND de la enfermedad en etapas tempranas, y podrían orientar hacia el establecimiento de biomarcadores que permitan el estudio de la evolución de la enfermedad, la presencia de isquemia, así como su progresión con un abordaje precoz de la enfermedad, mejorando el pronóstico de esta y evitando complicaciones irreversibles asociadas. Nuevas líneas de investigación podrían orientarse hacia el estudio de estrategias terapéuticas dirigida a este nivel en las etapas precoces de la enfermedad lo que podría suponer un cambio en el paradigma terapéutico de estos pacientes.

Hay autores que han relacionado las anomalías anatómicas encontradas en la OCTA en las regiones foveales y parafoveales con alteraciones en la estructura de la retina externa en

pacientes con DM. La falta de perfusión capilar a nivel del PCP en la OCTA se han asociado con la pérdida de fotorreceptores, resaltando la contribución del PCP a los requerimientos de oxígeno de los fotorreceptores, así como de la retina externa en la isquemia macular diabética (214,215). Se ha buscado si estas anomalías anatómicas se correlacionan con hallazgos funcionales. Unoki y cols. encontraron que la sensibilidad retiniana estudiada con el MP1 de Nidek presentaba una reducción marcada en aquellos ojos con zonas de falta de perfusión capilar secundaria a estadios más avanzados de la RD y asociados a la desorganización retiniana a nivel de la OCT (216). En su estudio usaron la AGF para valorar la perfusión. Contradictoriamente, encontraron que zonas retinianas adyacentes a las zonas de falta de perfusión capilar presentaban asimismo una reducción de sensibilidad. En una serie de 14 ojos de 12 DM2, con RDP en la mitad de los casos y RDNP severa en el resto, Scarinci y cols. describen una pérdida de sensibilidad estudiada con el MP1 de Nidek en las zonas en las que la OCTA mostraba una disminución de la DV del PCP (217). Los autores apuntan la necesidad de un buen estado del PCP y no sólo de la coroides, para proporcionar los requerimientos de oxígeno necesarios a los fotorreceptores en los pacientes con isquemia macular diabética. Estas alteraciones en la sensibilidad retiniana se han descrito en otros trabajos. Alonso-Plasencia y cols., comparando 25 ojos de pacientes DM2 sin EMD con 25 ojos sanos, encontraron una disminución de la DV en los sujetos con una correlación moderada con la sensibilidad retiniana del área temporal de la fóvea en la OCTA (159).

Existen estudios que han descrito una correlación entre la DV evaluada por OCTA y la sensibilidad retiniana evaluada por microperimetría en ojos con RD avanzada, pero no en ojos con grados más bajos de gravedad (218). Arima y cols. analizaron los resultados de 14 pacientes con RD y encontraron que la hiperpermeabilidad vascular puede inhibir la reducción de la sensibilidad retiniana en la retina diabética isquémica no edematosa (219). Mokrane y cols. relacionaron la disminución de la sensibilidad retiniana en áreas con la disminución de DV tanto en PCS como en PCP, a pesar de preservar las capas retinianas externas (220).

Midena y cols. hablan de la importancia de la imagen multimodal y su correlación con la sensibilidad retiniana (valorada por la microperimetría) para el avance en la comprensión de la fisiopatología del EMD (221). Destacan, como hizo previamente Vujosevic y cols. (29), como los parámetros funcionales de la microperimetría correlacionados con imágenes como la autofluorescencia, mejorarían la comprensión de la patogénesis de la diabetes y también a un mejor seguimiento de la respuesta a los tratamientos.

Hemos descrito alteraciones en la estructura y función de los pacientes DM sin cambios detectables a nivel del fondo de ojo. Chai y cols. describen una disminución de la sensibilidad retiniana en todos los sectores estudiados con el microperímetro MP3 de Nidek en pacientes DM2 sin RD (51 ojos de pacientes DM2 comparados con 49 ojos controles) (164). Estas anomalías funcionales no se acompañaban prácticamente de anomalías anatómicas, más que un adelgazamiento retiniano en el sector N perifoveal. Tampoco encontraron prácticamente correlación entre los valores de sensibilidad retiniana y los valores de DV y la densidad de perfusión en el PCS más que una correlación débil entre densidad de perfusión del cuadrante T perifoveal y la DV en el sector temporal parafoveal.

En otro estudio reciente, Tsai y cols. evaluaron 76 ojos de pacientes con diferentes grados de RD, encontrando una disminución de la sensibilidad retiniana medida mediante microperimetría MP3 de Nidek y de la VD, así como un aumento de la ZAF medida mediante OCTA a medida que progresa la gravedad de la enfermedad. La sensibilidad retiniana se correlacionó positivamente con la DV perifoveales en PCP e inversamente con el área de la ZAF en PCS (204).

En nuestros estudios nos faltaría correlacionar los hallazgos que hemos detectado en la sensibilidad retiniana macular con el MAIA con otras técnicas de valoración funcional como el ERGmf. El ERGmf ha postulado dos posibles fenotipos basados en las discrepancias entre pacientes sin anomalías aparentes del fondo de ojo pero con alteraciones de ERGmf y pacientes con deterioro microvascular temprano pero sin alteraciones de ERGmf del estudio EUROCONDOR, una discrepancia que determinaría un perfil de pacientes más propenso a desarrollar alteraciones microvasculares y otro a anomalías neurodegenerativas (16), con los cambios detectados en la OCTA, para una mejor comprensión de la fisiopatología de la enfermedad así como de las modificaciones y la correlación entre la estructura (valorada por imagen multimodal) y función (222,223).

También se ha descrito asociación entre las alteraciones a nivel de la OCTA y el deterioro cognitivo leve en paciente diabéticos. Aunque esto podría ser bastante inespecífico, al haberse detectado también cambios en el diámetro vascular, la DF y la tortuosidad de los vasos retinianos en contexto de otros trastornos, incluidas las enfermedades cardiovasculares (224) y las enfermedades cerebrovasculares (225).

# CONCLUSIONES



## 7. CONCLUSIONES

- 1) Los espesores retinianos totales y de las capas internas de la retina son mayores en pacientes con DM1 sin RD en la práctica totalidad de las áreas del ETDRS medidos mediante SS-OCT, y presentan una disminución generalizada de la sensibilidad en las 9 áreas de la rejilla en comparación con individuos sanos.
- 2) La sensibilidad retiniana en pacientes con DM1 sin RD se correlaciona de forma negativa con la edad en todas las áreas del ETDRS, así como con la AV en 5 de las 9 áreas.
- 3) El aumento de la edad y los años de evolución de la enfermedad en pacientes con DM1 sin signos de RD generan una disminución de la sensibilidad retiniana.
- 4) La sensibilidad retiniana se correlaciona de forma negativa con el espesor del complejo de células ganglionares en algún área en pacientes con DM1 sin RD.
- 5) El estudio de los protocolos maculares revela un adelgazamiento a nivel de la retina interna (de áreas parafoveales de GCL+ y en el área IS de GCL++) en pacientes con DM2 y RD moderada sin EMD, manteniendo un espesor macular similar al de individuos sanos.
- 6) La sensibilidad retiniana se redujo en todos los sectores del grupo DM2 con RD moderada sin EMD, con disminución del valor global central y del umbral medio total y aumento del valor de la integridad macular.
- 7) La sensibilidad retiniana se correlaciona de forma negativa con el espesor retiniano en áreas centrales en pacientes con DM2 con RD moderada sin EMD.
- 8) La edad, la AV y los niveles de HbA1c también presentan una correlación negativa con la sensibilidad de la retina.
- 9) Las alteraciones estructurales y funcionales en pacientes con RD moderada sin EMD en comparación con individuos sanos, sugieren la presencia de una ND retiniana central previa a la aparición del EMD.

- 10)** La OCTA proporciona información sobre una gran cantidad de hallazgos a nivel de las capas capilares retinianas y CC en pacientes con DM incluso sin signos de RD.
- 11)** La OCTA ofrece ventajas sobre la AGF, porque es una evaluación no invasiva y más rápida que puede usarse como exploración de rutina, tanto para el diagnóstico como control de la RD tanto preclínica como clínica, evaluando los plexos capilares retinianos y la CC, detectando cambios vasculares y áreas de no perfusión. Proporciona biomarcadores de desarrollo y respuesta al tratamiento.
- 12)** Los avances en la OCTA incluyendo la valoración periférica con WF-OCTA, la mejora de protocolos, la automatización de las mediciones, o la valoración de otras características cuantitativas pueden suponer cambios en la valoración de la enfermedad como biomarcadores de desarrollo de RD o de respuesta al tratamiento.
- 13)** Los espesores retinianos están disminuidos en la retina interna del paciente con DM2, incluso sin afectación clara de la CFNR.
- 14)** El grosor macular no puede ser considerado como el único parámetro para evaluar los cambios tempranos en la retina de pacientes con DM2, ya que no es lo suficientemente sensible para detectar cambios en la microestructura de las capas retinianas y un proceso neurodegenerativo asociado.
- 15)** El análisis de las capas de la retina y la microperimetría ofrecen una oportunidad para la detección precoz del daño neuronal secundario a esta patología, brindando la posibilidad de un diagnóstico más temprano, con un mejor abordaje y pronóstico.

# BIBLIOGRAFÍA



## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87(1):4–14.
2. Magliano DJ, Boyko EJ; IDF Diabetes Atlas 10th edition scientific committee. IDF DIABETES ATLAS [Internet]. 10th ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2021.
3. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019;157:107843.
4. Association AD. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2010;33(S1):S62–9.
5. Williams R, Airey M, Baxter H, Forrester J, Kennedy-Martin T, Girach A. Epidemiology of diabetic retinopathy and macular oedema: a systematic review. *Eye.* 2004;18(10):963–83.
6. Klein BEK. Overview of epidemiologic studies of diabetic retinopathy. *Ophthalmic Epidemiol.* 2007;14(4):179–83.
7. International Diabetes Federation. Atlas de la diabetes de la FID. *Diabetes Care.* 7ª ed. Brussels: International Diabetes Federation;2015.
8. Harding JL, Pavkov ME, Magliano DJ, Shaw JE, Gregg EW. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence. *Diabetologia.* 2019;62(1):3–16.
9. Fong DS, Aiello L, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, et al. Retinopathy in diabetes. *Diabetes Care.* 2004; 27(S1):S84-7
10. Lee R, Wong TY, Sabanayagam C. Epidemiology of diabetic retinopathy, diabetic macular edema and related vision loss. *Eye Vis.* 2015; 2:17.
11. Bourne RRA, Stevens GA, White RA, Smith JL, Flaxman SR, Price H, et al. Causes of vision loss worldwide, 1990-2010: A systematic analysis. *Lancet Glob Heal.* 2013;1(6):e339–49.
12. Agarwal P, Jindal A, Saini V, Jindal S. Advances in diabetic retinopathy. *Indian J Endocrinol Metab.* 2014;18(6):772.

13. Grigoryan EN. Self-Organization of the Retina during Eye Development, Retinal Regeneration In Vivo, and in Retinal 3D Organoids In Vitro. *Biomed.* 2022;10(6):1458.
14. Ryan SJ, Hinton DR SA. *Retina*. 1ª ed. USA: Marbán; 2009.
15. Paniagua Gómez-Álvarez R, Nistal Martín Serrano M, Sesma Egozcue MP, Álvarez-Uría Rico Villademoros M, Anadon Vazquez R, Fraile Laiz B, et al. *Citología e histología vegetal y animal: biología de las células y tejidos animales y vegetales*. España: McGraw-Hill; 1997.
16. McAnany JJ, Persidina OS, Park JC. Clinical electroretinography in diabetic retinopathy: a review. *Surv Ophthalmol.* 2022;67(3):712–22.
17. Midena E, Vujosevic S. Microperimetry in diabetic retinopathy. *Saudi J Ophthalmol Off J Saudi Ophthalmol Soc.* 2011;25(2):131–5.
18. Rohrschneider K, Bültmann S, Springer C. Use of fundus perimetry (microperimetry) to quantify macular sensitivity. *Prog Retin Eye Res.* 2008;27(5):536–48.
19. Salvi L, Plateroti P, Balducci S, Bollanti L, Conti FG, Vitale M, et al. Abnormalities of retinal ganglion cell complex at optical coherence tomography in patients with type 2 diabetes: a sign of diabetic polyneuropathy, not retinopathy. *J Diabetes Complications.* 2016;30(3):469–76.
20. Shi R, Guo Z, Wang F, Li R, Zhao L, Lin R. Alterations in retinal nerve fiber layer thickness in early stages of diabetic retinopathy and potential risk factors. *Curr Eye Res.* 2018;43(2):244–53.
21. Chhablani J, Sharma A, Goud A, Peguda HK, Rao HL, Begum VU, et al. Neurodegeneration in Type 2 Diabetes: Evidence From Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(11):6333–8.
22. Carpineto P, Toto L, Aloia R, Ciciarelli V, Borrelli E, Vitacolonna E, et al. Neuroretinal alterations in the early stages of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eye.* 2016;30(5):673–9.
23. Solomon SD, Chew E, Duh EJ, Sobrin L, Sun JK, VanderBeek BL, et al. Diabetic Retinopathy: A Position Statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 2017;40(3):412–8.
24. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Gardner TW. Neural apoptosis

- in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J Clin Invest.* 1998;102(4):783–91.
25. Oshitari T. Neurovascular Impairment and Therapeutic Strategies in Diabetic Retinopathy. *Int J Environ Res Public Heal.* 2021;19(1):439.
  26. Nathan DM, Group for the DR. The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study at 30 Years: Overview. *Diabetes Care.* 2014;37(1):9.
  27. Berner AK, Brouwers O, Pringle R, Klaassen I, Colhoun L, McVicar C, et al. Protection against methylglyoxal-derived AGEs by regulation of glyoxalase 1 prevents retinal neuroglial and vasodegenerative pathology. *Diabetologia.* 2012;55(3):845–54.
  28. Pfister F, Feng Y, Hagen F Vom, Hoffmann S, Molema G, Hillebrands JL, et al. Pericyte Migration A Novel Mechanism of Pericyte Loss in Experimental Diabetic Retinopathy. *Diabetes.* 2008;57(9):2495–502.
  29. Zhang YM, Bhavnani BR. Glutamate-induced apoptosis in neuronal cells is mediated via caspase-dependent and independent mechanisms involving calpain and caspase-3 proteases as well as apoptosis inducing factor (AIF) and this process is inhibited by equine estrogens. *BMC Neurosci.* 2006;7: 49.
  30. Ola MS, Nawaz MI, Khan HA, Alhomida AS. Neurodegeneration and Neuroprotection in Diabetic Retinopathy. *Int J Mol Sci.* 2013;14(2):2559–72.
  31. Chen X, Zhou H, Gong Y, Wei S, Zhang M. Early spatiotemporal characterization of microglial activation in the retinas of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2015;253(4):519–25.
  32. Fletcher E, Phipps J, Ward M, Puthusseray T, Wilkinson-Berka J. Neuronal and glial cell abnormality as predictors of progression of diabetic retinopathy. *Curr Pharm Des.* 2007;13(26):2699–712.
  33. Funatsu H, Noma H, Mimura T, Eguchi S, Hori S. Association of Vitreous Inflammatory Factors with Diabetic Macular Edema. *Ophthalmology.* 2009;116(1):73–9.
  34. Pillai G, Gupta A, Xavier T, Radhakrishnan N, Menon K, Rasheed R, et al. Effect of dexamethasone implant on intraocular cytokines in diabetic macular edema. *Indian J Ophthalmol.* 2023;71(2):363–8.

35. De Bock M, Culot M, Wang N, Bol M, Decrock E, De Vuyst E, et al. Oxidative Stress and the Neurovascular Unit. *Life*. 2021; 11(8):767.
36. Nakagawa T, Ono-Kishino M, Sugaru E, Yamanaka M, Taiji M, Noguchi H. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) regulates glucose and energy metabolism in diabetic mice. *Diabetes Metab Res Rev*. 2002;18(3):185–91.
37. Barhwal K, Hota SK, Prasad D, Singh SB, Ilavazhagan G. Hypoxia-induced deactivation of NGF-mediated ERK1/2 signaling in hippocampal cells: Neuroprotection by acetyl-L-carnitine. *J Neurosci Res*. 2008;86(12):2705–21.
38. Azadi S, Johnson LE, Paquet-Durand F, Perez MTR, Zhang Y, Ekström PAR, et al. CNTF + BDNF treatment and neuroprotective pathways in the rd1 mouse retina. *Brain Res*. 2007;1129(1):116–29.
39. Yoshida Y, Yamagishi SI, Matsui T, Jinnouchi Y, Fukami K, Imaizumi T, et al. Protective role of pigment epithelium-derived factor (PEDF) in early phase of experimental diabetic retinopathy. *Diabetes Metab Res Rev*. 2009;25(7):678–86.
40. Kiagiadaki F, Savvaki M, Thermos K. Activation of somatostatin receptor (sst 5) protects the rat retina from AMPA-induced neurotoxicity. *Neuropharmacology*. 2010;58(1):297–303.
41. Aizu Y, Katayama H, Takahama S, Hu J, Nakagawa H, Oyanagi K. Topical instillation of ciliary neurotrophic factor inhibits retinal degeneration in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuroreport*. 2003;14(16):989–90.
42. Satyanarayana A, Balakrishna N, Pitla S, Reddy PY, Mudili S, Lopamudra P, et al. Status of B-Vitamins and Homocysteine in Diabetic Retinopathy: Association with Vitamin-B12 Deficiency and Hyperhomocysteinemia. *PLoS One*. 2011;6(11):e26747.
43. Leung CKS, Weinreb RN, Li ZW, Liu S, Lindsey JD, Choi N, et al. Long-term in vivo imaging and measurement of dendritic shrinkage of retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(3):1539–47.
44. Pinilla I, Idoipe M, Perdices L, Sanchez-Cano A, Acha J, Lopez-Galvez MI, et al. Changes in total and inner retinal thicknesses in type 1 diabetes with no retinopathy after 8 years of follow-up. *Retina*. 2020;40(7):1379–86.
45. Bronson-Castain KW, Bearnse MA, Neuville J, Jonasdottir S, King-Hooper B, Barez S, et al. Early neural and vascular changes in the adolescent type 1 and type 2 diabetic retina.

- Retina. 2012;32(1):92–102.
46. Villarroel M, Ciudin A, Hernández C, Simó R. Neurodegeneration: An early event of diabetic retinopathy. *World J Diabetes*. 2010;1(2):57.
  47. Barber AJ, Antonetti DA, Gardner TW. Altered expression of retinal occludin and glial fibrillary acidic protein in experimental diabetes. The Penn State Retina Research Group. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000 Oct;41(11):3561-8.
  48. Lieth E, Gardner TW, Barber AJ, Antonetti DA. Retinal neurodegeneration: early pathology in diabetes. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2000;28(1):3–8.
  49. Song SJ, Wong TY. Current Concepts in Diabetic Retinopathy. *Diabetes Metab J*. 2014;38(6):416.
  50. Aiello LP, Group for the DR. Diabetic Retinopathy and Other Ocular Findings in the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study. *Diabetes Care*. 2014;37(1):17–23.
  51. Sun JK, Keenan HA, Cavallerano JD, Asztalos BF, Schaefer EJ, Sell DR, et al. Protection From Retinopathy and Other Complications in Patients With Type 1 Diabetes of Extreme Duration: The Joslin 50-Year Medalist Study. *Diabetes Care*. 2011;34(4):968–74.
  52. Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HAW. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008;359(15):1577–89.
  53. Klein R, Klein BEK. Blood pressure control and diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(4):365.
  54. He F, Xia X, Wu XF, Yu XQ, Huang FX. Diabetic retinopathy in predicting diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes and renal disease: a meta-analysis. *Diabetologia*. 2013;56(3):457–66.
  55. Chang YC, Wu WC. Dyslipidemia and Diabetic Retinopathy. *Rev Diabet Stud [Internet]*. 2013;10(2–3):121.
  56. Best RM, Chakravarthy U. Diabetic retinopathy in pregnancy. *Br J Ophthalmol*. 1997;81(3):249–51.
  57. Moss SE, Klein R, Klein BEK. Association of cigarette smoking with diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 1991;14(2):119–26.

58. Ozawa GY, Bearse MA, Adams AJ. Male-female differences in diabetic retinopathy? *Curr Eye Res.* 2015; 40(2):234–46.
59. BB KJ. *Oftalmología Clínica: Un Enfoque Sistemático.* 8ª ed. España: Elsevier; 2016.
60. Maciej Gawęcki. *Diabetic Retinopathy.* 1ª ed. Gdańsk: KMG Dragon's House; 2021.
61. Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology.* 2003;110(9):1677–82.
62. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology.* 1991 May;98(5 Suppl):823-33.
63. Panozzo G, Parolini B, Gusson E, Mercanti A, Pinackatt S, Bertoldo G, et al. Diabetic macular edema: an OCT-based classification. *Semin Ophthalmol.* 2004;19(1–2):13–20.
64. Guías, SERV de PC de la. Manejo de las complicaciones oculares de la diabetes. Retinopatía Diabética y Edema Macular. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2019;3(1):4–98.
65. María Victoria Gómez Resa BCG. Angiografía fluoresceínica en la retinopatía diabética. *Ann d'oftalmologia.* 2014;22(5):1-1200.
66. Okada K, Yamamoto S, Mizunoya S, Hoshino A, Arai M, Takatsuna Y. Correlation of retinal sensitivity measured with fundus-related microperimetry to visual acuity and retinal thickness in eyes with diabetic macular edema. *Eye.* 2006;20(7):805–9.
67. Spaide RF, Koizumi H, Pozonni MC, Pozonni MC. Enhanced Depth Imaging Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Am J Ophthalmol.* 2008;146(4):496–500.
68. Park HYL, Kim IT, Park CK. Early diabetic changes in the nerve fibre layer at the macula detected by spectral domain optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol.* 2011;95(9):1223–8.
69. Virgili G, Menchini F, Casazza G, Hogg R, Das RR, Wang X, Michelessi M. Optical coherence tomography (OCT) for detection of macular oedema in patients with diabetic retinopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;1:CD008081.
70. Sánchez-Tocino H, Alvarez-Vidal A, Maldonado MJ, Moreno-Montañés J, García-Layana A. Retinal thickness study with optical coherence tomography in patients with diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(5):1588-94.

71. Johnson PC. The myogenic response in the microcirculation and its interaction with other control systems. *J Hypertens Suppl.* 1989;7(4):33-9.
72. Cuenca N, Ortuño-Lizarán I, Sánchez-Sáez X, Kutsyr O, Albertos-Arranz H, Fernández-Sánchez L, Martínez-Gil N, Noailles A, López-Garrido JA, López-Gálvez M, Lax P, Maneu V, Pinilla I. Interpretation of OCT and OCTA images from a histological approach: Clinical and experimental implications. *Prog Retin Eye Res.* 2020;77:100828.
73. Bennett TJ, Quillen DA, Coronica R. Fundamentals of Fluorescein Angiography. *Insight.* 2016;41(1):5-11.
74. Beleña JM, Núñez M, Rodríguez M. Adverse reactions due to fluorescein during retinal angiography. *JSM Ophthalmol.* 2013;1:1004.
75. Borrelli E, Sarraf D, Freund KB, Sadda SR. OCT angiography and evaluation of the choroid and choroidal vascular disorders. *Prog Retin Eye Res.* 2018;67:30–55.
76. De Carlo TE, Chin AT, Bonini Filho MA, Adhi M, Branchini L, Salz DA, et al. Detection of microvascular changes in eyes of patients with diabetes but not clinical diabetic retinopathy using optical coherence tomography angiography. *Retina.* 2015 27;35(11):2364–70.
77. Zhao M, Zhang F, Chen Y, Dai H, Qu J, Dong C, et al. A 50% vs 30% dose of verteporfin (photodynamic therapy) for acute central serous chorioretinopathy: one-year results of a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol.* 2015;133(3):333–40.
78. Liu H, Bittencourt MG, Wang J, Sepah YJ, Ibrahim-Ahmed M, Rentiya Z, et al. Retinal sensitivity is a valuable complementary measurement to visual acuity--a microperimetry study in patients with maculopathies. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2015;253(12):2137–42.
79. Nilsson M, Wendt G von, Wanger P, Martin L. Early detection of macular changes in patients with diabetes using Rarebit Fovea Test and optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol.* 2007;91(12):1596.
80. Longhin E, Convento E, Pilotto E, Bonin G, Vujosevic S, Kotsafti O, et al. Static and dynamic retinal fixation stability in microperimetry. *Can J Ophthalmol.* 2013;48(5):375–80.
81. Sociedad Española de Oftalmología. Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología. Vol. 81, Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología. Sociedad Española de Oftalmología; 2006. 185–186 p.

82. Molina-Martín A, Pérez-Cambrodí RJ, Piñero DP. Current Clinical Application of Microperimetry: A Review. *Semin Ophthalmol*. 2018;33(5):620–8.
83. Morales MU, Saker S, Mehta RL, Rubinstein M, Amoaku WM. Preferred retinal locus profile during prolonged fixation attempts. *Can J Ophthalmol*. 2013;48(5):368–74.
84. Simó R, Stitt AW, Gardner TW. Neurodegeneration in diabetic retinopathy: does it really matter? *Diabetologia*. 2018;61(9):1902–12.
85. Li S-T, Wang X-N, Du X-H, Wu Q. Comparison of spectral-domain optical coherence tomography for intra-retinal layers thickness measurements between healthy and diabetic eyes among Chinese adults. *PLoS One*. 2017;12(5):0177515.
86. Li ST, Wang XN, Du XH, Wu Q. Comparison of spectral-domain optical coherence tomography for intra-retinal layers thickness measurements between healthy and diabetic eyes among Chinese adults. *PLoS One*. 2017;12(5):e0177515.
87. Mrejen S, Spaide RF. Optical coherence tomography: imaging of the choroid and beyond. *Surv Ophthalmol*. 2013;58(5):387–429.
88. Adhi M, Liu JJ, Qavi AH, Grulkowski I, Fujimoto JG, Duker JS. Enhanced Visualization of the Choroido-Scleral Interface Using Swept-Source OCT. *Ophthalmic Surgery, Lasers Imaging Retin*. 2013;44(6):S40–2.
89. Costa RA, Skaf M, Melo LAS, Calucci D, Cardillo JA, Castro JC, et al. Retinal assessment using optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res*. 2006;25(3):325–53.
90. Progression of retinopathy with intensive versus conventional treatment in the Diabetes Control and Complications Trial. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Ophthalmology*. 1995; 102(4):647–61.
91. Association AD. 10. Microvascular Complications and Foot Care. *Diabetes Care*. 2017;40(S1):S88–98.
92. Gross JG, Glassman AR, Jampol LM, Inusah S, Aiello LP, Antoszyk AN, et al. Panretinal Photocoagulation vs Intravitreal Ranibizumab for Proliferative Diabetic Retinopathy: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2015;314(20):2137–46.
93. Eter N, Singh RP, Abreu F, Asik K, Basu K, Baumal C, et al. YOSEMITE and RHINE: Phase 3 Randomized Clinical Trials of Faricimab for Diabetic Macular Edema: Study Design and Rationale. *Ophthalmol Sci*. 2021;2(1).

94. Kern TS, Barber AJ. Retinal ganglion cells in diabetes. *J Physiol.* 2008; 586(Pt 18):4401.
95. Garcia-Ramírez M, Hernández C, Villarroel M, Canals F, Alonso MA, Fortuny R, et al. Interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) is downregulated at early stages of diabetic retinopathy. *Diabetologia.* 2009;52(12):2633–41.
96. Bringmann A, Wiedemann P. Müller glial cells in retinal disease. *Ophthalmologica.* 2012;227(1):1–19.
97. Yao Y, Du J, Li R, Zhao L, Luo N, Zhai JY, et al. Association between ICAM-1 level and diabetic retinopathy: a review and meta-analysis. *Postgrad Med J.* 2019;95(1121):162–8.
98. Lessieur EM, Liu H, Saadane A, Du Y, Kiser J, Kern TS. ICAM-1 on the luminal surface of endothelial cells is induced to a greater extent in mouse retina than in other tissues in diabetes. *Diabetologia.* 2022;65(10):1734–44.
99. Sharma S, Purohit S, Sharma A, Hopkins D, Steed L, Bode B, Anderson SW, Caldwell R, She JX. Elevated Serum Levels of Soluble TNF Receptors and Adhesion Molecules Are Associated with Diabetic Retinopathy in Patients with Type-1 Diabetes. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:279393.
100. Purohit S, Sharma A, Zhi W, Bai S, Hopkins D, Steed L, Bode B, Anderson SW, Reed JC, Steed RD, She JX. Proteins of TNF- $\alpha$  and IL6 Pathways Are Elevated in Serum of Type-1 Diabetes Patients with Microalbuminuria. *Front Immunol.* 2018;9:154.
101. Costa GN, Vindeirinho J, Cavadas C, Ambrósio AF, Santos PF. Contribution of TNF receptor 1 to retinal neural cell death induced by elevated glucose. *Mol Cell Neurosci.* 2012;50(1):113–23.
102. Ergul A. Endothelin-1 and Diabetic Complications: Focus on the Vasculature. *Pharmacol Res.* 2011;63(6):477.
103. Sorrentino FS, Matteini S, Bonifazzi C, Sebastiani A, Parmeggiani F. Diabetic retinopathy and endothelin system: microangiopathy versus endothelial dysfunction. *Eye.* 2018;32(7):1157–63.
104. Kang HM, Hasanuzzaman M, Kim SW, Koh HJ, Lee SC. Elevated aqueous endothelin-1 concentrations in advanced diabetic retinopathy. *PLoS One.* 2022;17(5):e0268353.
105. Kowluru RA, Zhong Q, Santos JM. Matrix metalloproteinases in diabetic retinopathy: potential role of MMP-9. *Expert Opin Investig Drugs.* 2012;21(6):797.

106. Ünal A, Baykal O, Öztürk N. Comparison of matrix metalloproteinase 9 and 14 levels in vitreous samples in diabetic and non-diabetic patients: a case control study. *Int J Retin Vitr.* 2022;8(1).
107. Storti F, Pulley J, Kuner P, Abt M, Luhmann UFO. Circulating Biomarkers of Inflammation and Endothelial Activation in Diabetic Retinopathy. *Transl Vis Sci Technol.* 2021;10(12).
108. Sasongko MB, Wong TY, Jenkins AJ, Nguyen TT, Shaw JE, Wang JJ. Circulating markers of inflammation and endothelial function, and their relationship to diabetic retinopathy. *Diabet Med.* 2015;32(5):686–91.
109. Pan HZ, Zhang H, Chang D, Li H, Sui H. The change of oxidative stress products in diabetes mellitus and diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol.* 2008;92(4):548–51.
110. Micera A, Balzamino BO, Di Zazzo A, Dinice L, Bonini S, Coassin M. Biomarkers of Neurodegeneration and Precision Therapy in Retinal Disease. *Front Pharmacol.* 2021;11.
111. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med.* 2012;366(13):1227–39.
112. Marchesi N, Fahmideh F, Boschi F, Pascale A, Barbieri A. Ocular Neurodegenerative Diseases: Interconnection between Retina and Cortical Areas. *Cells.* 2021;10(9):2394.
113. Yuan A, Lee CS. Retinal Biomarkers for Alzheimer’s Disease: the Facts and the Future. *Asia-Pacific J Ophthalmol (Philadelphia, Pa).* 2022;11(2):140.
114. Teja KVR, Berendschot TT, Steinbusch H, Webers AC, Murthy RP, Mathuranath P. Cerebral and Retinal Neurovascular Changes: A Biomarker for Alzheimer’s Disease. *J Gerontol Geriatr Res.* 2017;6(4); 447.
115. Vujosevic S, Parra MM, Hartnett ME, O’Toole L, Nuzzi A, Limoli C, et al. Optical coherence tomography as retinal imaging biomarker of neuroinflammation/neurodegeneration in systemic disorders in adults and children. *Eye.* 2023;37(2):203.
116. Yap TE, Balendra SI, Almonte MT, Cordeiro MF. Retinal correlates of neurological disorders. *Ther Adv Chronic Dis.* 2019;10: 2040622319882205.
117. Chrysou A, Jansonius NM, van Laar T. Retinal layers in Parkinson’s disease: A meta-analysis of spectral-domain optical coherence tomography studies. *Park Relat Disord.* 2019; 64:40–9.
118. Ramirez AI, de Hoz R, Salobarra-Garcia E, Salazar JJ, Rojas B, Ajoy D, et al. The Role of

- Microglia in Retinal Neurodegeneration: Alzheimer's Disease, Parkinson, and Glaucoma. *Front Aging Neurosci.* 2017;9(7):214.
119. Ng DSK, Chiang PPC, Tan G, Cheung CMG, Cheng CY, Cheung CY, et al. Retinal ganglion cell neuronal damage in diabetes and diabetic retinopathy. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2016;44(4):243–50.
120. Scarinci F, Picconi F, Virgili G, Giorno P, Di Renzo A, Varano M, et al. Single Retinal Layer Evaluation in Patients with Type 1 Diabetes with No or Early Signs of Diabetic Retinopathy: The First Hint of Neurovascular Crosstalk Damage between Neurons and Capillaries? *Ophthalmologica.* 2017;237(4):223–31.
121. Gundogan FC, Akay F, Uzun S, Yolcu U, Çağlıtay E, Toyran S. Early Neurodegeneration of the Inner Retinal Layers in Type 1 Diabetes Mellitus. *Ophthalmologica.* 2016;235(3):125–32.
122. Bandello F, Tejerina AN, Vujosevic S, Varano M, Egan C, Sivaprasad S, et al. Retinal layer location of increased retinal thickness in eyes with subclinical and clinical macular edema in diabetes type 2. *Ophthalmic Res.* 2015;54(3):112–7.
123. Zhu TP, Ma J, Li YH, Zhang Z. Association between retinal neuronal degeneration and visual function impairment in type 2 diabetic patients without diabetic retinopathy. *Sci China Life Sci.* 2015;58(6):550–5.
124. Kern TS, Engerman RL. Vascular lesions in diabetes are distributed non-uniformly within the retina. *Exp Eye Res.* 1995;60(5):545–9.
125. Tavares Ferreira J, Proença R, Alves M, Dias-Santos A, Santos BO, Cunha JP, et al. Retina and Choroid of Diabetic Patients Without Observed Retinal Vascular Changes: A Longitudinal Study. *Am J Ophthalmol.* 2017;176:15–25.
126. Rasheed R, Pillai GS, Kumar H, Shajan AT, Radhakrishnan N, Ravindran GC. Relationship between diabetic retinopathy and diabetic peripheral neuropathy - Neurodegenerative and microvascular changes. *Indian J Ophthalmol.* 2021;69(11):3370–5.
127. Srinivasan S, Pritchard N, Sampson GP, Edwards K, Vagenas D, Russell AW, et al. Diagnostic capability of retinal thickness measures in diabetic peripheral neuropathy. *J Optom.* 2017;10(4):215–25.
128. Dhasmana R, Sah S, Gupta N. Study of Retinal Nerve Fibre Layer Thickness in Patients with Diabetes Mellitus Using Fourier Domain Optical Coherence Tomography. *J Clin Diagn*

- Res. 2016;10(7):NC05–9.
129. Sugimoto M, Sasoh M, Ido M, Wakitani Y, Takahashi C, Uji Y. Detection of Early Diabetic Change with Optical Coherence Tomography in Type 2 Diabetes Mellitus Patients without Retinopathy. *Ophthalmologica*. 2005;219(6):379–85.
  130. De Clerck EEB, Schouten JSAG, Berendschot TTJM, Kessels AGH, Nuijts RMMA, Beckers HJM, et al. New ophthalmologic imaging techniques for detection and monitoring of neurodegenerative changes in diabetes: a systematic review. *lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(8):653–63.
  131. Midena E. Microperimetría. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2006;81(4):185–6.
  132. Sharma S, Oliver-Fernandez A, Liu W, Buchholz P, Walt J. The impact of diabetic retinopathy on health-related quality of life. *Curr Opin Ophthalmol*. 2005;16(3):155–9.
  133. McAnany JJ, Park JC, Liu K, Liu M, Chen YF, Chau FY, et al. Contrast sensitivity is associated with outer-retina thickness in early-stage diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2020;98(2):e224–31.
  134. Gella L, Raman R, Kulothungan V, Pal SS, Ganesan S, Sharma T. Retinal sensitivity in subjects with type 2 diabetes mellitus: Sankara Nethralaya Diabetic Retinopathy Epidemiology and Molecular Genetics Study (SN-DREAMS II, Report No. 4). *Br J Ophthalmol*. 2016;100(6):808–13.
  135. Yang Y, Dunbar H. Clinical Perspectives and Trends: Microperimetry as a Trial Endpoint in Retinal Disease. *Ophthalmologica*. 2021; 244(5):418–50.
  136. Horie S, Giulia C, Esmaeilkhani H, Sadda SVR, Cheung CMG, Ham Y, et al. Microperimetry in Retinal Diseases. *Asia-Pacific J Ophthalmol (Philadelphia, Pa)*. 2023;12(2):211–27.
  137. Sunness JS, Applegate CA, Haselwood D, Rubin GS. Fixation patterns and reading rates in eyes with central scotomas from advanced atrophic age-related macular degeneration and Stargardt disease. *Ophthalmology*. 1996;103(9):1458–66.
  138. Reinsberg M, Hilgers RD, Lüdeke I, Nassar K, Grisanti S, Grisanti S, et al. Testing the clinical value of multifocal electroretinography and microperimetry and the effects of intravitreal therapy with ranibizumab on macular function in the course of wet age-related macular degeneration: a 1-year prospective study. *Clin Ophthalmol*. 2017;11:621–9.

139. Vujosevic S, Pucci P, Casciano M, Longhin E, Convento E, Bini S, et al. Long-term longitudinal modifications in mesopic microperimetry in early and intermediate age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017;255(2):301–9.
140. Welker SG, Pfau M, Heinemann M, Schmitz-Valckenberg S, Holz FG, Finger RP. Retest Reliability of Mesopic and Dark-Adapted Microperimetry in Patients With Intermediate Age-Related Macular Degeneration and Age-Matched Controls. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018; 59(4):AMD152–9.
141. Roh M, Laíns I, Shin HJ, Park DH, Mach S, Vavvas DG, et al. Microperimetry in age-related macular degeneration: association with macular morphology assessed by optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol*. 2019;103(12):1769–76.
142. Battaglia Parodi M, Castellino N, Iacono P, Chowers I, Empeplidis T, Goldstein M, et al. MICROPERIMETRY IN BEST VITELLIFORM MACULAR DYSTROPHY. *Retina*. 2018;38(4):841–8.
143. Chiang WY, Lee JJ, Chen YH, Chen CH, Chen YJ, Wu PC, et al. Fixation behavior in macular dystrophy assessed by microperimetry. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018;256(8):1403–10.
144. PM M, AAA M, AC R, H N, R B. Retinal findings in patients with COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10237):1610.
145. Vujosevic S, Torresin T, Berton M, Bini S, Convento E, Midena E. Diabetic Macular Edema With and Without Subfoveal Neuroretinal Detachment: Two Different Morphologic and Functional Entities. *Am J Ophthalmol*. 2017;181:149–55.
146. Vujosevic S, Midena E, Pilotto E, Radin PP, Chiesa L, Cavarzeran F. Diabetic Macular Edema: Correlation between Microperimetry and Optical Coherence Tomography Findings. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(7):3044–51.
147. Pyatova Y, Daibert-Nido M, Markowitz SN. Long term outcomes in dry age-related macular degeneration following low vision rehabilitation interventions. *Eur J Ophthalmol*. 2022;32(1):296–9.
148. Qian T, Xu X, Liu X, Yen M, Zhou H, Mao M, et al. Efficacy of MP-3 microperimeter biofeedback fixation training for low vision rehabilitation in patients with maculopathy. *BMC Ophthalmol*. 2022;22(1).
149. Matura Misawa MA, Markowitz SN, Daibert-Nido M. Innovative vision rehabilitation

- method for epiretinal membrane: Enhancing visual functions through Biofeedback Training. *Am J Ophthalmol case reports*. 2023;32.
150. Tarita-Nistor L, González EG, Mandelcorn MS, Lillakas L, Steinbach MJ. Fixation Stability, Fixation Location, and Visual Acuity after Successful Macular Hole Surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009 Jan 1;50(1):84–9.
  151. Estudillo JAR, Higuera MIL, Juárez SR, Vera M de LO, Santana YP, Suazo BC. Visual rehabilitation via microperimetry in patients with geographic atrophy: A pilot study. *Int J Retin Vitre*. 2017;3(1):1–8.
  152. Tsironi EE, Dastiridou A, Katsanos A, Dardiotis E, Veliki S, Patramani G, et al. Perimetric and retinal nerve fiber layer findings in patients with Parkinsons disease. *BMC Ophthalmol*. 2012; 12(1):1–7.
  153. Ciudin A, Simó-Servat O, Hernández C, Arcos G, Diego S, Sanabria Á, et al. Retinal Microperimetry: A New Tool for Identifying Patients With Type 2 Diabetes at Risk for Developing Alzheimer Disease. *Diabetes*. 2017;66(12):3098–104.
  154. Park JC, Chen YF, Liu M, Liu K, McAnany JJ. Structural and Functional Abnormalities in Early-stage Diabetic Retinopathy. *Curr Eye Res*. 2020;45(8):975–85.
  155. Verma A, Rani PK, Raman R, Pal SS, Laxmi G, Gupta M, et al. Is neuronal dysfunction an early sign of diabetic retinopathy? Microperimetry and spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) study in individuals with diabetes, but no diabetic retinopathy. *Eye*. 2009;23(9):1824–30.
  156. Verma A, Raman R, Vaitheeswaran K, Pal SS, Laxmi G, Gupta M, et al. Does neuronal damage precede vascular damage in subjects with type 2 diabetes mellitus and having no clinical diabetic retinopathy? *Ophthalmic Res*. 2012;47(4):202–7.
  157. Nittala MG, Gella L, Raman R, Sharma T. Measuring retinal sensitivity with the microperimeter in patients with diabetes. *Retina*. 2012;32(7):1302–9.
  158. De Benedetto U, Querques G, Lattanzio R, Borrelli E, Triolo G, Maestranzi G, et al. Macular dysfunction is common in both type 1 and type 2 diabetic patients without macular edema. *Retina*. 2014;34(11):2171–7.
  159. Alonso-Plasencia M, Abreu-González R, Gómez-Culebras MA. Structure-Function Correlation Using OCT Angiography And Microperimetry In Diabetic Retinopathy. *Clin Ophthalmol*. 2019;13:2181–8.

160. Montesano G, Gervasoni A, Ferri P, Allegrini D, Migliavacca L, De Cillà S, et al. Structure–function relationship in early diabetic retinopathy: a spatial correlation analysis with OCT and microperimetry. *Eye*. 2017;31(6):931–9.
161. Senthil R, Srikanth K, Jha K, Rajalakshmi A. Functional and structural changes in the macula in diabetic retinopathy – A correlative study. *TNOA J Ophthalmic Sci Res*. 2019;57(1):21.
162. Sharanjeet-Kaur, Ismail SA, Mutalib HA, Ngah NF. HbA1c and retinal sensitivity in diabetics using microperimetry. *J Optim*. 2019;12(3):174–9.
163. van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PHB, Garvin MK, Sonka M, Lee K, et al. Decreased retinal ganglion cell layer thickness in patients with type 1 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(7):3660–5.
164. Chai Q, Yao Y, Guo C, Lu H, Ma J. Structural and functional retinal changes in patients with type 2 diabetes without diabetic retinopathy. *Ann Med*. 2022;54(1):1816–25.
165. Hood DC. Improving our understanding, and detection, of glaucomatous damage: An approach based upon optical coherence tomography (OCT). *Prog Retin Eye Res*. 2017;57:46–75.
166. Malik R, Swanson WH, Garway-Heath DF. “Structure-function relationship” in glaucoma: past thinking and current concepts. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2012;40(4):369–80.
167. Drasdo N, Millican CL, Katholi CR, Curcio CA. The length of Henle fibers in the human retina and a model of ganglion receptive field density in the visual field. *Vision Res*. 2007;47(22):2901–11.
168. Turpin A, Chen S, Sepulveda JA, McKendrick AM. Customizing Structure-Function Displacements in the Macula for Individual Differences. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(10):5984–9.
169. Sjöstrand J, Popovic Z, Conradi N, Marshall J. Morphometric study of the displacement of retinal ganglion cells subserving cones within the human fovea. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1999;237(12):1014–23.
170. Sjöstrand J, Olsson V, Popovic Z, Conradi N. Quantitative estimations of foveal and extra-foveal retinal circuitry in humans. *Vision Res*. 1999;39(18):2987–98.
171. Progression of retinopathy with intensive versus conventional treatment in the Diabetes

- Control and Complications Trial. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Ophthalmology*. 1995;102(4):647–61.
172. Neriyanuri S, Pardhan S, Gella L, Pal SS, Ganesan S, Sharma T, et al. Retinal sensitivity changes associated with diabetic neuropathy in the absence of diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol*. 2017;101(9):1174–8.
  173. Tsai WS, Thottarath S, Gurudas S, Pearce E, Giani A, Sivaprasad S. Topographic Correlation of Microperimetry With Structural Characteristics in Diabetic Macular Ischemia. *Am J Ophthalmol*. 2024;257:25–33.
  174. Fathima S, Prokopiou E, Georgiou T. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Anti-Oxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects in Diabetic Retinopathy: A Narrative Review. *Front Biosci*. 2023;28(7).
  175. Oshitari T. Diabetic retinopathy: neurovascular disease requiring neuroprotective and regenerative therapies. *Neural Regen Res*. 2022;17(4):795.
  176. Hernández C, Dal Monte M, Simó R, Casini G. Neuroprotection as a Therapeutic Target for Diabetic Retinopathy. *J Diabetes Res*. 2016;2016.
  177. Weinstock-Guttman B, Zivadinov R, Mahfooz N, Carl E, Drake A, Schneider J, et al. Serum lipid profiles are associated with disability and MRI outcomes in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation*. 2011;8.
  178. Kardys A, Weinstock-Guttman B, Dillon M, Masud MW, Weinstock N, Mahfooz N, et al. Cholesterol affects retinal nerve fiber layer thickness in patients with multiple sclerosis with optic neuritis. *Eur J Neurol*. 2013;20(9):1264–71.
  179. Ebrahimi KB, Handa JT. Lipids, Lipoproteins, and Age-Related Macular Degeneration. *J Lipids*. 2011;2011:1–14.
  180. Picconi F, Parravano M, Ylli D, Pasqualetti P, Coluzzi S, Giordani I, et al. Retinal neurodegeneration in patients with type 1 diabetes mellitus: the role of glycemic variability. *Acta Diabetol*. 2017;54(5):489–97.
  181. Liu S, Wang W, Tan Y, He M, Wang L, Li Y, et al. Correlation between Renal Function and Peripapillary Choroidal Thickness in Treatment-Naïve Diabetic Eyes Using Swept-Source Optical Coherence Tomography. *Curr Eye Res*. 2020;45(12):1526–33.
  182. Srivastav K, Saxena S, Mahdi AA, Kruzliak P, Khanna VK. Increased serum urea and

- creatinine levels correlate with decreased retinal nerve fibre layer thickness in diabetic retinopathy. *Biomarkers*. 2015;20(6–7):470–3.
183. Schwartz DM, Fingler J, Kim DY, Zawadzki RJ, Morse LS, Park SS, et al. Phase-variance optical coherence tomography: a technique for noninvasive angiography. *Ophthalmology*. 2014;121(1):180–7.
184. Ishibazawa A, Nagaoka T, Takahashi A, Omae T, Tani T, Sogawa K, et al. Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy: A Prospective Pilot Study. *Am J Ophthalmol*. 2015;160(1):35–44.
185. Jiaa Y, Bailey ST, Hwanga TS, McClintica SM, Gaoa SS, Pennesia ME, et al. Quantitative optical coherence tomography angiography of vascular abnormalities in the living human eye. *Proc Natl Acad Sci*. 2015;112(18):E2395–402.
186. Matsunaga DR, Yi JJ, De Koo LO, Ameri H, Puliafito CA, Kashani AH. Optical Coherence Tomography Angiography of Diabetic Retinopathy in Human Subjects. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2015;46(8):796–805.
187. Carnevali A, Sacconi R, Corbelli E, Tomasso L, Querques L, Zerbini G, et al. Optical coherence tomography angiography analysis of retinal vascular plexuses and choriocapillaris in patients with type 1 diabetes without diabetic retinopathy. *Acta Diabetol*. 2017;54(7):695–702.
188. Kim K, Kim ES, Yu SY. PREDICTION OF DIABETIC RETINOPATHY SEVERITY USING A COMBINATION OF RETINAL NEURODEGENERATION AND CAPILLARY NONPERFUSION ON OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHY. *Retina*. 2023;43(8):1291–300.
189. Marques IP, Ferreira S, Santos T, Madeira MH, Santos AR, Mendes L, et al. Association between Neurodegeneration and Macular Perfusion in the Progression of Diabetic Retinopathy: A 3-Year Longitudinal Study. *Ophthalmologica*. 2022;245(4):335–41.
190. Marques IP, Alves D, Santos T, Mendes L, Lobo C, Santos AR, et al. Characterization of Disease Progression in the Initial Stages of Retinopathy in Type 2 Diabetes: A 2-Year Longitudinal Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020;61(3).
191. Sun Z, Tang F, Wong R, Lok J, Szeto SKH, Chan JCK, et al. OCT Angiography Metrics Predict Progression of Diabetic Retinopathy and Development of Diabetic Macular Edema: A Prospective Study. *Ophthalmology*. 2019;126(12):1675–84.
192. Vujosevic S, Cunha-Vaz J, Figueira J, Löwenstein A, Midea E, Parravano M, et al.

- Standardization of Optical Coherence Tomography Angiography Imaging Biomarkers in Diabetic Retinal Disease. *Ophthalmic Res.* 2021;64(6):871–87.
193. Scheive M, Reinhart KL, Hajrasouliha AR. Using optical coherence tomography angiography as a biomarker of retinopathy severity and treatment for diabetic retinopathy. *Mol Vis.* 2022;28:220.
  194. Apuzzo A, Gravina S, Panozzo G, Lattanzio R, Cicinelli MV, Bandello F. From diagnosis to prognosis: A paradigm shift for multimodal imaging in assessing diabetic macular edema. *Eur J Ophthalmol.* 2024;34(1):7-10.
  195. Tey KY, Teo K, Tan ACS, Devarajan K, Tan B, Tan J, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: a review of current applications. *Eye Vis.* 2019;6(1):1–10.
  196. Sun Z, Yang D, Tang Z, Ng DS, Cheung CY. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: an updated review. *Eye.* 2021;35(1):149.
  197. Takase N, Nozaki M, Kato A, Ozeki H, Yoshida M, Ogura Y. Enlargement of foveal avascular zone in diabetic eyes evaluated by en face optical coherence tomography angiography. *Retina.* 2015;35(11):2377–83.
  198. Dimitrova G, Chihara E, Takahashi H, Amano H, Okazaki K. Quantitative Retinal Optical Coherence Tomography Angiography in Patients With Diabetes Without Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58(1):190–6.
  199. Hwang TS, Jia Y, Gao SS, Bailey ST, Lauer AK, Flaxel CJ, et al. Optical Coherence Tomography Angiography Features of Diabetic Retinopathy. *Retina.* 2015;35(11):2371.
  200. Tsai ASH, Gan ATL, Ting DSW, Wong CW, Teo KYC, Tan ACS, et al. Diabetic macular ischemia: Correlation of retinal vasculature changes by optical coherence tomography angiography and functional deficit. *Retina.* 2020;40(11):2184–90.
  201. Meshi A, Chen KC, You QS, Dans K, Lin T, Bartsch DU, et al. Anatomical and Functional Testing in Diabetic Patients Without Retinopathy: Results of Optical Coherence Tomography Angiography and Visual Acuity under Varying Contrast and Luminance Conditions. *Retina.* 2019;39(10):2022–31.
  202. Waheed NK, Rosen RB, Jia Y, Munk MR, Huang D, Fawzi A, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2023;97:101206.

203. Karst SG, Heisler M, Lo J, Schuck N, Safari A, Sarunic M V., et al. Evaluating Signs of Microangiopathy Secondary to Diabetes in Different Areas of the Retina with Swept Source OCTA. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2020;61(5).
204. Ensayo clínico NCT06188013. Ensayos clínicos sobre Retinopatía diabética. Beijing: Registro de ensayos clínicos - ICH GCP. 01 Enero 2024 [Consultado 3 Febrero 2024]. Disponible en: <https://ichgcp.net/es/clinical-trials-registry/NCT06188013>.
205. Ting DSW, Tan GSW, Agrawal R, Yanagi Y, Sie NM, Wong CW, et al. Optical Coherence Tomographic Angiography in Type 2 Diabetes and Diabetic Retinopathy. *JAMA Ophthalmol.* 2017;135(4):306–12.
206. Nakao S, Kaizu Y, Horie J, Wada I, Arima M, Fukuda Y, et al. Volumetric three-dimensional optical coherence tomography angiography of retinal neovascularization in proliferative diabetic retinopathy. *Retin Cases Br Reports.* 2023;17(3):315–20.
207. Li X, Xie J, Zhang L, Cui Y, Zhang G, Chen X, et al. Identifying Microvascular and Neural Parameters Related to the Severity of Diabetic Retinopathy Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2020;61(5): 39.
208. Hirano T, Hoshiyama K, Takahashi Y, Murata T. Wide-field swept-source OCT angiography (23 × 20 mm) for detecting retinal neovascularization in eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2023;261(2):339–44.
209. Mailand N, Mirsanaye AS. Sustainability and molecular biology: An interview with Prof. Niels Mailand and Ann Schirin Mirsanaye. *Mol Cell.* 2023;83(18):3222–4.
210. Niederleithner M, De Sisternes L, Stino H, Sedova A, Schlegl T, Bagherinia H, et al. Ultra-Widefield OCT Angiography. *IEEE Trans Med Imaging.* 2023;42(4):1009–20.
211. Amato A, Nadin F, Borghesan F, Cicinelli MV, Chatziralli I, Sadiq S, et al. Widefield Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy. *J Diabetes Res.* 2020; 2020(1)
212. Russell JF, Han IC. Toward a New Staging System for Diabetic Retinopathy Using Wide Field Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography. *Curr Diab Rep.* 2021;21(9):28.
213. Mastropasqua R, D'Aloisio R, Di Antonio L, Erroi E, Borrelli E, Evangelista F, et al. Widefield optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy. *Acta Diabetol.* 2019; 56(12):1293–303.

214. Scarinci F, Nesper PL, Fawzi AA. Deep Retinal Capillary Nonperfusion Is Associated With Photoreceptor Disruption in Diabetic Macular Ischemia. *Am J Ophthalmol.* 2016;168:129–38.
215. Nesper PL, Scarinci F, Fawzi AA. Adaptive Optics Reveals Photoreceptor Abnormalities in Diabetic Macular Ischemia. *PLoS One.* 2017;12(1): e0169926..
216. Unoki N, Nishijima K, Sakamoto A, Kita M, Watanabe D, Hangai M, et al. Retinal sensitivity loss and structural disturbance in areas of capillary nonperfusion of eyes with diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol.* 2007;144(5): 755-760.
217. Scarinci F, Varano M, Parravano M. Retinal Sensitivity Loss Correlates with Deep Capillary Plexus Impairment in Diabetic Macular Ischemia. *J Ophthalmol.* 2019;2019:7589841.
218. Levine ES, Moulton EM, Greig EC, Zhao Y, Pramil V, Gendelman I, et al. Multiscale correlation of microvascular changes on optical coherence tomography angiography with retinal sensitivity in diabetic retinopathy. *Retina.* 2022;42(2):357–68.
219. Arima M, Nakao S, Kaizu Y, Wada I, Yamaguchi M, Fujiwara K, et al. Diabetic vascular hyperpermeability: optical coherence tomography angiography and functional loss assessments of relationships among retinal vasculature changes. *Sci Reports.* 2021;11(1):1–9.
220. Mokrane A, Zureik A, Bonnin S, Erginay A, Lavia C, Gaudric A, et al. Retinal Sensitivity Correlates With the Superficial Vessel Density and Inner Layer Thickness in Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2021;62(14):28.
221. Midena E, Bini S. Multimodal retinal imaging of diabetic macular edema: toward new paradigms of pathophysiology. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2016;254(9):1661–8.
222. Frizziero L, Midena G, Longhin E, Berton M, Torresin T, Parrozzani R, et al. Early Retinal Changes by OCT Angiography and Multifocal Electroretinography in Diabetes. *J Clin Med.* 2020;9(11):1–14.
223. Kim M, Kim RY, Park W, Park YG, Kim IB, Park YH. Electroretinography and retinal microvascular changes in type 2 diabetes. *Acta Ophthalmol.* 2020;98(7):e807–13.
224. Pedersen FN, Stokholm L, Lois N, Yang D, Cheung CY, Biessels GJ, et al. Structural and Metabolic Retinal Changes Associated With Mild Cognitive Impairment in Type 2 Diabetes. *Diabetes.* 2023;72(12):1853–63.

225. Liew G, Gopinath B, White AJ, Burlutsky G, Yin Wong T, Mitchell P. Retinal Vasculature Fractal and Stroke Mortality. *Stroke*. 2021;52(4):1276–82.



# APÉNDICES



## 9. APÉNDICES

### 9.1. Factor de impacto de las revistas



*biomedicines*

*Biomedicines* (ISSN: 2227-9059)

Category: Medicine, Research & Experimental

Current Impact Factor: 4.757 (2021)

5-year Impact Factor: 4.9

Q2



*Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* (ISSN: 0721-832X)

Category: Ophthalmology

Current Impact Factor: 3.535 (2021)

5-year Impact Factor: 3.394

Q2



*diagnostics*

*Diagnostics* (ISSN: 2075-4418)

Category: Medicine, General & Internal

Current Impact Factor: 3.992 (2021)

5-year Impact Factor: 4.129

Q2



*biomedicines*

*Biomedicines* (ISSN: 2227-9059)

Category: Medicine, Research & Experimental

Current Impact Factor: 4.7 (2022)

5-year Impact Factor: 4.9

Q2

## 9.2. Justificación de la contribución del doctorando en la coautoría

En el artículo 3 "Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review" he colaborado en el análisis de los datos recopilados, así como en su compilación, en el análisis estadístico y en la interpretación de los resultados. Del mismo modo he participado activamente en la redacción del artículo y las revisiones a las que fue sometido antes de su publicación.

## 9.3. Renuncia de los coautores



Escuela de Doctorado  
Universidad Zaragoza

### RENUNCIA DE LOS COAUTORES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS COMO PARTE DE UNA TESIS DOCTORAL EN LA MODALIDAD DE COMPENDIO DE PUBLICACIONES

1.- Datos personales del coautor		
Apellidos: Montes Rodriguez	Nombre: Paula	
DNI/Pasaporte/NIE: 73113250E	Teléfono: 606812030	Correo electrónico: Pmontes.1@alumni.unav.es

2.- Tesis Doctoral
Título: Alteraciones funcionales y estructurales retinianas en pacientes con Diabetes.
Autor: Ana Boned Murillo
Programa de doctorado: Doctorado en Medicina

3.- Publicaciones que formarán parte de la tesis y de las que el firmante es coautor
Boned-Murillo A, Diaz-Barreda MD, Féreas A, Bartolomé-Sesé I, Orduna-Hospital E, Montes-Rodriguez P, Ascaso J, Pinilla I. Structural and functional findings in patients with moderate diabetic retinopathy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2021;259(12):3625-3635.

RENUNCIA:
Renuncio a que las publicaciones anteriores puedan ser presentadas como parte de otra tesis doctoral en la modalidad de compendio de publicaciones.
<lugar>, <fecha> Cartagena 25/02/2024
 Firma: Paula Montes Rodriguez



Escuela de Doctorado  
Universidad Zaragoza

### RENUNCIA DE LOS COAUTORES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS COMO PARTE DE UNA TESIS DOCTORAL EN LA MODALIDAD DE COMPENDIO DE PUBLICACIONES

1.- Datos personales del coautor		
Apellidos: Albertos Arranz	Nombre: Henar	
DNI/Pasaporte/NIE: 71163331C	Teléfono: 661970873	Correo electrónico: henar.albertos@uz.es

2.- Tesis Doctoral
Título: Alteraciones funcionales y estructurales retinianas en pacientes con Diabetes
Autor: ANA BONED MURILLO
Programa de doctorado: Programa de Doctorado en Medicina

3.- Publicaciones que formarán parte de la tesis y de las que el firmante es coautor
Boned-Murillo A, Albertos-Arranz H, Diaz-Barreda MD, Orduna-Hospital E, Sánchez-Cano A, Ferreras A, Cuenca N, Pinilla I. Optical Coherence Tomography Angiography In Diabetic Patients: A Systematic Review. Biomedicine. 2021;10(1):88.

RENUNCIA:
Renuncio a que las publicaciones anteriores puedan ser presentadas como parte de otra tesis doctoral en la modalidad de compendio de publicaciones.
<p>&lt;ugar&gt;, &lt;fecha&gt; Alicante, 26/02/2024</p> <p><b>HENAR  ALBERTO S ARRANZ</b></p> <p>Firmado digitalmente por HENAR ALBERTOS ARRANZ Fecha: 2024.02.26 12:43:13 +01'00'</p> <p>Firma: Henar Albertos Arranz</p>

Conforme a lo dispuesto en la legislación vigente (Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril), de protección de datos de carácter personal, le informamos que sus datos pasarán a ser tratados por la Universidad de Zaragoza con la finalidad de tramitar la gestión académica y administrativa de sus estuantes, así como su participación en actividades y servicios universitarios. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación, limitación, oposición o portabilidad ante el Gerente de la UZ.



Escuela de Doctorado  
Universidad Zaragoza

### RENUNCIA DE LOS COAUTORES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS COMO PARTE DE UNA TESIS DOCTORAL EN LA MODALIDAD DE COMPENDIO DE PUBLICACIONES

1.- Datos personales del coautor		
Apellidos: SOPEÑA PINILLA	Nombre: MARIA	
DNI/Pasaporte/NIE: 73023905D	Teléfono: 699115928	Correo electrónico: mariesopenapinilla@gmail.com

2.- Tesis Doctoral
Título: Alteraciones funcionales y estructurales retinianas en pacientes con Diabetes
Autor: Ana Boned Murillo
Programa de doctorado: Doctorado en Medicina

3.- Publicaciones que formarán parte de la tesis y de las que el firmante es coautor
Boned-Murillo A, Fernández-Espinosa G, Orduna-Hospital E, Díaz-Barreda MD, Sánchez-Cano A, Sopeña-Pinilla M, Bleisa-Alonso S, Pinilla I. Changes in Inner Retina Thickness and Macular Sensitivity in Patients with Type 2 Diabetes with Moderate Diabetic Retinopathy. <i>Biomedicine</i> . 2023; 11(11):2972.

RENUNCIA:				
Renuncio a que las publicaciones anteriores puedan ser presentadas como parte de otra tesis doctoral en la modalidad de compendio de publicaciones.				
<table border="0"> <tr> <td>&lt;lugar&gt;, &lt;fecha&gt;</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Zaragoza,</td> <td>23 Febrero 2024</td> </tr> </table>	<lugar>, <fecha>		Zaragoza,	23 Febrero 2024
<lugar>, <fecha>				
Zaragoza,	23 Febrero 2024			
<table border="0"> <tr> <td>SOPENA</td> <td rowspan="3"> </td> </tr> <tr> <td>PINILLA MARIA</td> </tr> <tr> <td>- 73023905D</td> </tr> </table>	SOPENA		PINILLA MARIA	- 73023905D
SOPENA				
PINILLA MARIA				
- 73023905D				
Firma: Maria Sopeña Pinilla				

Conforme a lo dispuesto en la legislación vigente (Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril), de protección de datos de carácter personal, le informamos que sus datos pasarán a ser tratados por la Universidad de Zaragoza con la finalidad de tramitar la gestión académica y administrativa de sus estudiantes, así como su participación en actividades y servicios universitarios. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación, limitación, oposición o portabilidad ante el Gerente de la UZ.



Escuela de Doctorado  
Universidad Zaragoza

### RENUNCIA DE LOS COAUTORES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS COMO PARTE DE UNA TESIS DOCTORAL EN LA MODALIDAD DE COMPENDIO DE PUBLICACIONES

1.- Datos personales del coautor		
Apellidos: FERNÁNDEZ ESPINOSA	Nombre: GUISELA	
DNI/Pasaporte/NIE: 53767714Q	Teléfono: 659438249	Correo electrónico: guiseia.fernandez3@gmail.com

2.- Tesis Doctoral
Título: Alteraciones funcionales y estructurales retinianas en pacientes con Diabetes
Autor: ANA BONED MURILLO
Programa de doctorado: DOCTORADO EN MEDICINA

3.- Publicaciones que formarán parte de la tesis y de las que el firmante es coautor
4 ) Boned-Murillo A, Fernández-Espinosa G, Orduna-Hospital E, Diaz-Barreda MD, Sánchez-Cano A, Sopeña-Pinilla M, Bleisa-Alonso S, Pinilla I. Changes in Inner Retina Thickness and Macular Sensitivity in Patients with Type 2 Diabetes with Moderate Diabetic Retinopathy. Biomedicines. 2023; 11(11):2972.

RENUNCIA:
Renuncio a que las publicaciones anteriores puedan ser presentadas como parte de otra tesis doctoral en la modalidad de compendio de publicaciones.
<p>&lt;lugar&gt;, &lt;fecha&gt; Zaragoza, 24 de Febrero 2024</p> <p><b>FERNANDEZ ESPINOSA GUISELA - 53767714Q</b></p> <p>Firmado digitalmente por FERNANDEZ ESPINOSA GUISELA - 53767714Q Fecha: 2024.02.24 18:50:54 +01'00'</p> <p>Firma: Gulseia Fernández Espinosa</p>

Conforme a lo dispuesto en la legislación vigente (Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril), de protección de datos de carácter personal, le informamos que sus datos pasarán a ser tratados por la Universidad de Zaragoza con la finalidad de tramitar la gestión académica y administrativa de sus estudiantes, así como su participación en actividades y servicios universitarios. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación, limitación, oposición o portabilidad ante el Gerente de la UZ.



Escuela de Doctorado  
Universidad Zaragoza

### RENUNCIA DE LOS COAUTORES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS COMO PARTE DE UNA TESIS DOCTORAL EN LA MODALIDAD DE COMPENDIO DE PUBLICACIONES

1.- Datos personales del coautor		
Apellidos: BIELSA ALONSO	Nombre: SOFIA	
DNI/Pasaporte/NIE: 73427987G	Teléfono: 722185777	Correo electrónico: sofiableisa@gmail.com

2.- Tesis Doctoral
Título: Alteraciones funcionales y estructurales retinianas en pacientes con Diabetes
Autor: Ana Boned Murillo
Programa de doctorado: Programa de doctorado en Medicina

3.- Publicaciones que formarán parte de la tesis y de las que el firmante es coautor
Boned-Murillo A, Fernández-Espínosa G, Orduna-Hospital E, Díaz-Barreda MD, Sánchez-Cano A, Sopeña-Pinilla M, Bieisa-Alonso S, Pinilla I. Changes in Inner Retina Thickness and Macular Sensitivity in Patients with Type 2 Diabetes with Moderate Diabetic Retinopathy. <i>Biomedicines</i> . 2023; 11(11):2972.

RENUNCIA:
Renuncio a que las publicaciones anteriores puedan ser presentadas como parte de otra tesis doctoral en la modalidad de compendio de publicaciones.
<lugar>, <fecha> Zaragoza 28/02/2024
Firma: 

Conforme a lo dispuesto en la legislación vigente (Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril), de protección de datos de carácter personal, le informamos que sus datos pasarán a ser tratados por la Universidad de Zaragoza con la finalidad de tramitar la gestión académica y administrativa de sus estudiantes, así como su participación en actividades y servicios universitarios. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación, limitación, oposición o portabilidad ante el Gerente de la UZ.



Escuela de Doctorado  
Universidad Zaragoza

### RENUNCIA DE LOS COAUTORES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS COMO PARTE DE UNA TESIS DOCTORAL EN LA MODALIDAD DE COMPENDIO DE PUBLICACIONES

1.- Datos personales del coautor		
Apellidos: Diaz Barreda	Nombre: Maria Dolores	
DNI/Pasaporte/NIE: 04627358B	Teléfono: 623963827	Correo electrónico: lodbes2@gmail.com

2.- Tesis Doctoral
Título: "Alteraciones funcionales y estructurales retinianas en pacientes con Diabetes"
Autor: Ana Boned Murillo
Programa de doctorado: Medicina

3.- Publicaciones que formarán parte de la tesis y de las que el firmante es coautor
Boned-Murillo A, Diaz-Barreda MD, Ferreras A, Bartolomé-Sesé I, Orduna-Hospital E, Montes-Rodríguez P, Ascaso J, Pinilla I. Structural and functional findings in patients with moderate diabetic retinopathy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2021;259(12):3625-3635
Boned-Murillo A, Albertos-Arranz H, Diaz-Barreda MD, Orduna-Hospital E, Sánchez-Cano A, Ferreras A, Cuenca N, Pinilla I. Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review. Biomedicines. 2021;10(1):88.
Boned-Murillo A, Fernández-Espinosa G, Orduna-Hospital E, Diaz-Barreda MD, Sánchez-Cano A, Sopeña-Pinilla M, Blesa-Alonso S, Pinilla I. Changes in Inner Retina Thickness and Macular Sensitivity in Patients with Type 2 Diabetes with Moderate Diabetic Retinopathy. Biomedicines. 2023; 11(11):2972.

RENUNCIA:
Renuncio a que las publicaciones anteriores puedan ser presentadas como parte de otra tesis doctoral en la modalidad de compendio de publicaciones.
<lugar>, <fecha> Zaragoza 24/02/24
 digitalmente por DIAZ BARREDA MARIA DOLORES - ***2735** el día 24/02/2024 con un certificado emitido por AC FNMT Usuarios
Firma: Maria Dolores Diaz Barreda

Conforme a lo dispuesto en la legislación vigente (Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril), de protección de datos de carácter personal, le informamos que sus datos pasarán a ser tratados por la Universidad de Zaragoza con la finalidad de tramitar la gestión académica y administrativa de sus estudiantes, así como su participación en actividades y servicios universitarios. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación, limitación, oposición o portabilidad ante el Gerente de la UZ.



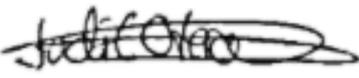
Escuela de Doctorado  
Universidad Zaragoza

### RENUNCIA DE LOS COAUTORES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS COMO PARTE DE UNA TESIS DOCTORAL EN LA MODALIDAD DE COMPENDIO DE PUBLICACIONES

1.- Datos personales del coautor		
Apellidos: Otero Rodriguez	Nombre: Judit	
DNI/Pasaporte/NIE: 72887960V	Teléfono: 658254887	Correo electrónico: juditotero97@gmail.com

2.- Tesis Doctoral
Título: Alteraciones funcionales y estructurales retinianas en pacientes con Diabetes.
Autor: Ana Boned Murillo
Programa de doctorado: Doctorado en Medicina

3.- Publicaciones que formarán parte de la tesis y de las que el firmante es coautor
Orduna-Hospital E, Otero-Rodriguez J, Perdices L, Sánchez-Cano A, Boned-Murillo A, Acha J, Pinilla I. Microperimetry and Optical Coherence Tomography Changes in Type-1 Diabetes Mellitus without Retinopathy. <i>Diagnostics</i> . 2021;11(1):136

RENUNCIA:
Renuncio a que las publicaciones anteriores puedan ser presentadas como parte de otra tesis doctoral en la modalidad de compendio de publicaciones.
<lugar>, <fecha> Osia, 2 de Marzo de
 Firma: Judit Otero Rodriguez

Conforme a lo dispuesto en la legislación vigente (Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril), de protección de datos de carácter personal, le informamos que sus datos pasarán a ser tratados por la Universidad de Zaragoza con la finalidad de tramitar la gestión académica y administrativa de sus estudiantes, así como su participación en actividades y servicios universitarios. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación, limitación, oposición o portabilidad ante el Gerente de la UZ.



## 9.4. Dictamen a favor por parte del CEICA (Anexo 1)



**Informe Dictamen Favorable**  
**Trabajos académicos**

C.P. - C.I. PI17/0298

25 de octubre de 2017

Dña. María González Hinojosa, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

### CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 25/10/2017, Acta Nº 18/2017 ha evaluado la propuesta del Trabajo:

**Título: VALORACIÓN DE LAS MODIFICACIONES EN EL ESPESOR RETINIANO TOTAL Y CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS Y CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA EN DIABÉTICOS TIPO I SIN RETINOPATÍA.**

**Alumno: Elvira Orduna Hospital**  
**Directora: Isabel Pinilla Lozano**

**Centro de realización: HU Miguel Servet**

**Versión protocolo: 20/10/2017.**

**Versión documento de información y consentimiento: versión II, 17/10/2017**

2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y los principios éticos aplicables.
- El Tutor/Director garantiza la confidencialidad de la información, la correcta obtención del consentimiento informado, el cumplimiento de la LOPD y la correcta utilización de los recursos materiales necesarios para su realización.

3º. Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE a la realización del proyecto.**

Lo que firmo en Zaragoza, a 25 de octubre de 2017

GONZALEZ  
HINJOS MARIA  
DNI 03857456B

Firmado digitalmente por  
GONZALEZ HINJOS MARIA -  
DNI 03857456B  
Fecha: 2017.10.26 15:45:06  
+02'00'

María González Hinojosa  
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

## 9.5. Consentimiento informado de los pacientes (Anexo 2)

### DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE DM TIPO I

Título de la investigación: VALORACIÓN DE LAS MODIFICACIONES EN EL ESPESOR RETINIANO TOTAL Y CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS Y CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA EN DIABÉTICOS TIPO I SIN RETINOPATÍA

Nos dirigimos a usted para invitarle a participar en un proyecto de investigación que estamos realizando en el Hospital Universitario Miguel Servet en colaboración con la Universidad de Zaragoza. Su participación es importante para obtener el conocimiento que necesitamos, pero antes de tomar una decisión debe leer este documento entero, entender la información que contiene el documento y firmar el consentimiento informado, si finalmente desea participar. Se le entregará una copia de este documento. Por favor, consérvelos por si lo necesitara en un futuro.

*La evaluación de la función visual es de gran interés e importancia en los pacientes con Diabetes Mellitus (DM). Su importancia radica en que este estudio puede darnos detalles tanto de la función visual en sí (tanto si hay alteraciones como si no, permite estudiarlas, y permite poder tener un control sobre la misma y enlentecer su progresión), como del estado general del paciente (puede haber afectación vascular, siendo reflejo de la vasculopatía sistémica, y afectación neurológica, siendo reflejo de la neuropatía sistémica). Por este motivo y con el objetivo de mejorar continuamente la calidad asistencial a los pacientes, los Servicios de Oftalmología y Endocrinología del Hospital Miguel Servet de Zaragoza están desarrollando un estudio de investigación en que se pretende cuantificar la afectación visual de los pacientes afectos de DM tipo 1 y*

*determinar si ésta puede ser útil como marcador de progresión de la enfermedad y de respuesta a los tratamientos administrados.*

*Para la evaluación de la situación visual se llevan a cabo diferentes exploraciones enumeradas a continuación: agudeza visual, sensibilidad al contraste, visión del color y grado de estereopsis, toma de la presión intraocular con tonómetro de aire, valoración de la cabeza del nervio óptico, campo visual y tomografía de coherencia óptica. **Analítica en colección de biobanco (identificar y adjuntar info sobre biobanco)** Todas estas exploraciones son no invasivas ni dolorosas y se llevarán a cabo en las consultas externas del Hospital Universidad Miguel Servet, en una revisión a cargo del Servicio de Oftalmología. Su participación en este estudio no implica la realización de exploraciones complementarias que no le serían realizadas en caso de no participar en el mismo, sino la aceptación de que, de modo absolutamente confidencial, sean recogidos y utilizados los resultados de sus exploraciones con el objetivo de dicho proyecto de investigación.*

Toda la información recogida se tratará conforme a lo establecido en la Ley Orgánica 15/99, de protección de datos de carácter personal. En la base de datos del estudio no se incluirán datos personales: ni su nombre, ni su nº de historia clínica ni ningún dato que le pueda identificar. Se le identificará por un código que sólo el equipo investigador podrá relacionar con su nombre.

Sólo el equipo investigador tendrá acceso a los datos de su historia clínica y nadie ajeno al centro podrá consultar su historial.

Para ejercer su derecho de acceso, rectificación, cancelación y oposición respecto a sus datos obtenidos durante el estudio debe ponerse en contacto con el investigador principal.

Las conclusiones del estudio se presentarán en congresos y publicaciones científicas pero se harán siempre con datos agrupados y nunca se divulgará nada que le pueda identificar.

Usted tiene derecho a conocer los resultados del presente estudio, tanto los resultados generales como los derivados de sus datos específicos. También tiene derecho a no conocer dichos resultados si así lo desea. Por este motivo en el documento de consentimiento informado le preguntaremos qué opción prefiere. En caso de que desee conocer los resultados, el investigador le hará llegar los resultados.

En ocasiones al realizar un proyecto de investigación se encuentran hallazgos inesperados que pueden ser relevantes para la salud del participante. En el caso de que esto ocurra nos pondremos en contacto con usted para que pueda acudir a su médico habitual.

Tal como se ha señalado, su participación es totalmente voluntaria, puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en su atención sanitaria. Basta con que le manifieste su intención al investigador principal del estudio.

En caso de duda o para cualquier consulta relacionada con su participación puede ponerse en contacto con el investigador responsable, Dña Elvira Orduna Hospital por correo electrónico en la dirección eordunah@salud.aragon.es

Muchas gracias por su atención, si finalmente desea participar le rogamos que firme el documento de consentimiento que se adjunta.

## **DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PACIENTE DM Tipo I**

Título del PROYECTO: VALORACIÓN DE LAS MODIFICACIONES EN EL ESPESOR RETINIANO TOTAL Y CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS Y CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA EN DIABÉTICOS TIPO I SIN RETINOPATÍA

Yo, ..... (nombre y apellidos del participante)

He leído el documento de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio y he recibido suficiente información sobre el mismo.

He hablado con: .....(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1) cuando quiera
- 2) sin tener que dar explicaciones
- 3) sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

Deseo ser informado sobre los resultados del estudio:    sí    no    (marque lo que proceda)

He recibido una copia firmada de este Consentimiento Informado.

Firma del participante:

Fecha:

.....  
.....

.....

He explicado la naturaleza y el propósito del estudio al paciente mencionado

Firma del Investigador:

Fecha: .....

### **DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA EL PARTICIPANTE (CONTROL)**

Título de la investigación: VALORACIÓN DE LAS MODIFICACIONES EN EL ESPESOR RETINIANO TOTAL Y CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS Y CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA EN DIABÉTICOS TIPO I SIN RETINOPATÍA

Nos dirigimos a usted para invitarle a participar en un proyecto de investigación que estamos realizando en el Hospital Universitario Miguel Servet en colaboración con la Universidad de Zaragoza. Su participación es importante para obtener el conocimiento que necesitamos, pero antes de tomar una decisión debe leer este documento entero, entender la información que contiene el documento y firmar el consentimiento informado, si finalmente desea participar. Se le entregará una copia de este documento. Por favor, consérvelos por si lo necesitara en un futuro.

*La evaluación de la función visual es de gran interés. Su importancia radica en que este estudio puede darnos detalles del progreso de la función visual en sí. Por este motivo y con el objetivo de mejorar continuamente la calidad asistencial, los Servicios de Oftalmología y Endocrinología del Hospital Miguel Servet de Zaragoza están desarrollando un estudio de investigación en que se pretende cuantificar la afectación visual de los pacientes afectos de DM tipo 1, respecto a los controles, y determinar si ésta puede ser útil como marcador de progresión de dicha enfermedad y de respuesta a los tratamientos administrados.*

*Para la evaluación de la situación visual se llevan a cabo diferentes exploraciones enumeradas a continuación: agudeza visual, sensibilidad al contraste, visión del color y grado de estereopsis, toma de la presión intraocular con tonómetro de aire, valoración de la cabeza del nervio óptico, campo visual y tomografía de coherencia óptica. **Analítica en colección de biobanco (identificar y adjuntar info sobre biobanco)** Todas estas exploraciones son no invasivas ni dolorosas y se llevarán a cabo en las consultas externas del Hospital Universidad Miguel Servet, en una revisión a cargo del Servicio de Oftalmología. Su participación en este estudio no implica la realización de exploraciones complementarias que no le serían realizadas en caso de no participar en el mismo, sino la aceptación de que, de modo absolutamente confidencial, sean recogidos y utilizados los resultados de sus exploraciones con el objetivo de dicho proyecto de investigación.*

Toda la información recogida se tratará conforme a lo establecido en la Ley Orgánica 15/99, de protección de datos de carácter personal. En la base de datos del estudio no se incluirán datos personales: ni su nombre, ni su nº de historia clínica ni ningún dato que le pueda identificar. Se le identificará por un código que sólo el equipo investigador podrá relacionar con su nombre.

Sólo el equipo investigador tendrá acceso a los datos de su historia clínica y nadie ajeno al centro podrá consultar su historial.

Para ejercer su derecho de acceso, rectificación, cancelación y oposición respecto a sus datos obtenidos durante el estudio debe ponerse en contacto con el investigador principal.

Las conclusiones del estudio se presentarán en congresos y publicaciones científicas pero se harán siempre con datos agrupados y nunca se divulgará nada que le pueda identificar.

Usted tiene derecho a conocer los resultados del presente estudio, tanto los resultados generales como los derivados de sus datos específicos. También tiene derecho a no

conocer dichos resultados si así lo desea. Por este motivo en el documento de consentimiento informado le preguntaremos qué opción prefiere. En caso de que desee conocer los resultados, el investigador le hará llegar los resultados.

En ocasiones al realizar un proyecto de investigación se encuentran hallazgos inesperados que pueden ser relevantes para la salud del participante. En el caso de que esto ocurra nos pondremos en contacto con usted para que pueda acudir a su médico habitual.

Tal como se ha señalado, su participación es totalmente voluntaria, puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en su atención sanitaria. Basta con que le manifieste su intención al investigador principal del estudio.

En caso de duda o para cualquier consulta relacionada con su participación puede ponerse en contacto con el investigador responsable, **Dña Elvira Orduna** Hospital por correo electrónico en la dirección [eordunah@salud.aragon.es](mailto:eordunah@salud.aragon.es)

Muchas gracias por su atención, si finalmente desea participar le rogamos que firme el documento de consentimiento que se adjunta.

## **DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PARTICIPANTE (CONTROL)**

Título del PROYECTO: **VALORACIÓN DE LAS MODIFICACIONES EN EL ESPESOR RETINIANO TOTAL Y CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS Y CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA EN DIABÉTICOS TIPO I SIN RETINOPATÍA**

Yo, ..... (nombre y apellidos del participante)

He leído el documento de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio y he recibido suficiente información sobre el mismo.

He hablado con: .....(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1) cuando quiera
- 2) sin tener que dar explicaciones
- 3) sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

Deseo ser informado sobre los resultados del estudio:    sí    no    (marque lo que proceda)

He recibido una copia firmada de este Consentimiento Informado.

Firma del participante:

Fecha:

.....  
.....

He explicado la naturaleza y el propósito del estudio al participante mencionado

Firma del Investigador:

Fecha:

.....

## 9.6. Dictamen a favor por parte del CEICA (Anexo 3)



Informe Dictamen Favorable  
Trabajos académicos

C.P. - C.I. PI19/252

5 de junio de 2019

Dña. María González Hincos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

### CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 05/06/2019, Acta N° 11/2019 ha evaluado la propuesta del Trabajo:

**Título: Alteraciones estructurales y funcionales en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 y Retinopatía Diabética no proliferativa moderada.**

**Alumna: Ana Boned Murillo**  
**Directora: Isabel Pinilla Lozano**

**Versión protocolo: v2, 31/05/2019**

**Versión documento de información y consentimiento: v1, 04/05/2019**

2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y los principios éticos aplicables.
- El Tutor/Director garantiza la confidencialidad de la información, la obtención del consentimiento informado, el adecuado tratamiento de los datos en cumplimiento de la legislación vigente y la correcta utilización de los recursos materiales necesarios para su realización.

3º. Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE** a la realización del proyecto.

Lo que firmo en Zaragoza

GONZALEZ  
HINJOS MARIA  
DNI 03857456B

Firmado digitalmente  
por GONZALEZ HINJOS  
MARIA - DNI 03857456B  
Fecha: 2019.06.07  
14:43:40 +02'00'

María González Hincos  
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

## 9.7. Consentimiento informado de los pacientes (Anexo 4)

**Título del PROYECTO:** ALTERACIONES ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y RETINOPATÍA DIABÉTICA NO PROLIFERATIVA MODERADA

Yo, ..... (nombre y apellidos del participante)

He leído el documento de Información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio y he recibido suficiente Información sobre el mismo.

He hablado con: .....(nombre del Investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1) cuando quiera
- 2) sin tener que dar explicaciones
- 3) sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

Deseo ser informado sobre los resultados del estudio: sí no      (marque lo que proceda)

**Si procede:** Doy mi conformidad para que mis datos clínicos sean revisados por personal ajeno al centro, para los fines del estudio, y soy consciente de que este consentimiento es revocable.

He recibido una copia firmada de este Consentimiento Informado.

Firma del participante:

Fecha: .....

He explicado la naturaleza y el propósito del estudio al paciente mencionado

Firma del Investigador:

Fecha: .....



