

# Avaliação da camada das células ganglionares da retina: Um factor a considerar no edema macular diabético tratado

Mónica Loureiro<sup>1,2</sup>, Lígia Ribeiro<sup>1</sup>, Sofia Fonseca<sup>1</sup>, Filipe Sousa Neves<sup>1</sup>, Rosário Varandas<sup>1</sup>, Luís Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/ Espinho

<sup>2</sup>Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar / Universidade do Porto

## RESUMO

**Introdução:** No edema macular diabético (EMD) tratado a resolução do EM com restauração do contorno foveal normal, nem sempre é acompanhada de melhoria da acuidade visual (AV). O objetivo do estudo é avaliar a camada de células ganglionares da retina (CCGR) no EMD tratado e correlacionar com a recuperação funcional.

**Métodos:** Estudo caso-controlo entre doentes com EMD tratado (sem EM após tratamento, contorno foveal normal e espessura macular central (EMC)  $<321\mu\text{m}$ ) e doentes diabéticos sem história de EMD (controlos). A avaliação da EMC e da espessura da CCGR foi feita com o volume scan de 19 linhas do SD-OCT e apresentada segundo a grelha ETDRS. A informação referente ao sexo, idade, valor da hemoglobina glicada, status do cristalino, classificação da retinopatia diabética, tratamentos oftalmológicos prévios e AV, também foi avaliada.

**Resultados:** A EMC média no grupo de EMD tratado foi de  $284.9\pm 33.6\mu\text{m}$ , enquanto o valor correspondente no grupo controlo foi de  $284.8\pm 31.0\mu\text{m}$  ( $p=0.96$ ). A MAVC no grupo do EMD tratado ( $0.57\pm 0.2$ ) mostrou ser inferior à do grupo controlo ( $0.81\pm 0.16$ ,  $p<0.001$ ). De forma semelhante, a espessura da CCGR no EMD tratado ( $16.8\pm 4.8\mu\text{m}$ ) foi significativamente menor que a do controlo ( $21.3\pm 7.6\mu\text{m}$ ,  $p=0.008$ ). No grupo de doentes com EMD tratado, a EMC teve uma correlação positiva moderada com a MAVC ( $r=0.5$ ,  $p<0.001$ ); enquanto a espessura da CCGR evidenciou uma correlação positiva forte ( $r=0.7$ ,  $p<0.001$ ).

**Conclusão:** No EMD tratado apesar da normalização da EMC, a espessura da CCGR é significativamente menor que nos controlos e está fortemente correlacionada com a resposta funcional, sendo portanto um fator a considerar na avaliação clínica desses doentes.

## INTRODUÇÃO

O edema macular diabético (EMD) é uma causa importante de diminuição da acuidade visual (AV) em doentes diabéticos. Em Portugal estima-se que 1.4% dos diabéticos diagnosticados tenham EMD, representando um total de 10425 casos no país.<sup>1</sup>

Atualmente, as injeções intravítreas (IIV) dos inibidores do fator de crescimento endotelial vascular (anti-VEGF) são o tratamento de primeira-linha; no entanto, estes fármacos aumentam exponencialmente os custos dos sistemas de saúde<sup>1</sup> e representam um desafio à organização dos serviços de oftalmologia, relacionado com o elevado número de doentes e com a necessidade de múltiplos (re)tratamentos.

Apesar de as IIV serem eficazes em melhorar ou normalizar a espessura macular central (EMC) nos doentes com EMD, isso nem sempre é acompanhado por uma melhoria da AV;<sup>2</sup> ou seja, embora a EMC seja clinicamente útil, representa apenas uma das variáveis que afetam a AV, numa relação complexa e não totalmente esclarecida. Por esse motivo, tem havido um crescente interesse em identificar as alterações da retina mensuráveis como fator prognóstico de recuperação funcional no EMD.

Até ao momento, os estudos têm-se focado especialmente no dano das camadas externas da retina. Nomeadamente, um pior prognóstico visual foi associado à perda da junção dos segmentos internos e externos dos fotorreceptores ou da camada plexiforme externa.<sup>3,4</sup> No entanto, poucos estudos se debruçaram sobre as alterações das camadas internas da retina no EMD.

Recentemente, a tomografia de coerência ótica (OCT) possibilitou a segmentação automática de todas as camadas da retina, permitindo quantificar a espessura da camada de células ganglionares (CCGR).<sup>5</sup> Embora na presença de EMD a segmentação possa ser pouco confiável, a avaliação da retina “seca” após o EMD tratado constitui uma alternativa fiável.

O objetivo do estudo é comparar a CCGR em olhos com EMD tratado e em olhos diabéticos sem EMD (controles), com recurso à segmentação automática da retina do Spectral Domain (SD) - OCT (Spectralis, Heidelberg Engineering®), e correlacionar a sua espessura com a AV. Adicionalmente, no EMD tratado avaliar a localização prévia do EM e sua relação com a AV.

## MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo, com consulta dos processos clínicos e dos exames auxiliares de diagnóstico, de doentes com EMD submetidos a IIV de anti-VEGF no mesmo centro hospitalar, entre Novembro 2015 e Abril de 2016.

Os critérios de inclusão do grupo com EMD tratado foram: idade  $\geq 18$  anos, sem EM após tratamento do EMD, contorno foveal normal e EMC inferior a 321  $\mu\text{m}$  (correspondendo ao valor considerado normal para o SD-OCT<sup>6</sup> + 2 desvio padrão). O grupo controlo foi constituído por doentes diabéticos do mesmo centro hospitalar, sem história de EMD e sem tratamentos prévios com IIV. Os critérios de exclusão para ambos os grupos foram: alterações qualitativas das camadas externas da retina (ex.: descontinuidade da zona elipsóide, zona de interdigitação ou do epitélio pigmentado da retina), outras doenças oftalmológicas ou neurológicas que podiam afetar a AV ou o campo visual (ex.: glaucoma/HTO, catarata, ambliopia), erro miópico superior a 6D e OCT de fraca qualidade (índice de qualidade inferior a 15dB<sup>7</sup>, inadequadamente centrado, presença de artefactos ou falha na correta segmentação das camadas da retina).

Para cada paciente foi utilizada a informação referente ao sexo, idade, valor da hemoglobina glicada (Hg A1c), *status* do cristalino, classificação da retinopatia diabética (RD); bem como, a melhor acuidade visual corrigida (MAVC) avaliada em escala de snellen, e os tratamentos oftalmológicos previamente realizados (fotocoagulação e número de injeções).

O protocolo utilizado para a aquisição da imagem no SD-OCT (Spectralis, Heidelberg Engineering®) consistiu no volume scan macular, 512 A-scans por linha, 19 linhas, numa área de 6x6mm (figura 1). A avaliação da EMC e da espessura da CCGR foi feita através dos dados quantitativos automatizados da grelha do Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS)<sup>8</sup> (incluindo o anel central de 1 mm, bem como os quadrantes nasal, temporal, superior e inferior dos anéis de 3 e 6 mm) (figura 2). Adicionalmente, para o grupo de EMD tratado, foi observada a imagem de SD-OCT anterior ao tratamento e caracterizado o EM segundo o envolvimento da zona elipsóide.

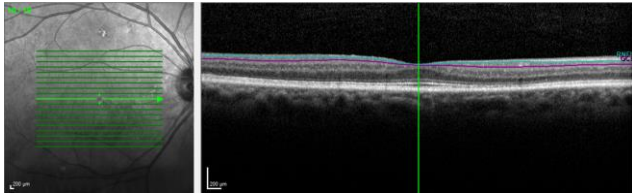


Figura 1 – OCT mácula. Volume scan macular de 19 linhas e segmentação automática da camada de células ganglionares da retina

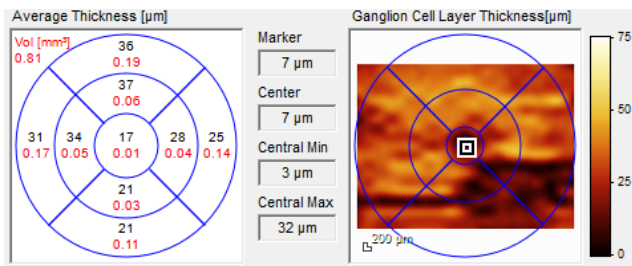


Figura 2 – Avaliação quantitativa da camada de células ganglionares da retina através da grelha do Early Treatment Diabetic Retinopathy Study

Para a análise estatística dos dados, o teste Mann-Whitney foi utilizado para as variáveis contínuas e o teste de Fisher para os dados qualitativos. A correlação entre as variáveis foi avaliada com o teste de Spearman. Um valor de p inferior a 0.05 foi considerado estatisticamente significativo.

## RESULTADOS

O estudo incluiu 30 indivíduos com EMD tratado e 30 indivíduos com diabetes mas sem EMD (grupo controlo). Apenas um olho de cada indivíduo foi incluído no estudo; sempre que ambos os olhos cumpriam os critérios de seleção, o olho direito foi o selecionado.

As características demográficas de cada grupo são apresentadas na tabela 1; sendo que não houve diferenças estatisticamente significativas para a idade ( $p=0.19$ ), sexo ( $p=1$ ) e *status* do cristalino ( $p=1$ ).

Tabela 1 - Caracterização da amostra

	EMD tratado	Controlo
Olhos (n)	30	30
Idade (anos)	59.7±16.5*	63.5±9.4*
Sexo (n), feminino/masculino	13/17	14/16
Hg A1c (%)	8.6±1.5*	7.6±1.5*
MAVC	0.57±0.2*	0.81±0.16*
Cristalino/Pseudofaquia (n)	20/10	21/9
Classe da RD (n)	17 RDNP moderada 12 RDNP grave 1 RDP	15 RDNP moderada 15 RDNP ligeira
Fotocoagulação (n)	27	9

\*Valores apresentados em média±desvio-padrão

EMD = Edema Macular Diabético; RD = Retinopatia Diabética; RDNP = Retinopatia Diabética Não Proliferativa, RDP = Retinopatia Diabética Proliferativa

No grupo de EMD tratado, o valor da HgA1c foi significativamente superior ao do grupo controlo ( $p=0.007$ ). Neste grupo, 40% apresentaram RDNP grave, 56.7% RDNP moderada e 3.3% RDP; todos receberam IIV de anti-VEGF, sendo que em 86.6% dos casos o tratamento foi combinado com laser focal macular; 90% (27/30) tinham realizado fotocoagulação nas áreas isquémicas. No grupo controlo 50% tinham RDNP moderada e 50% RDNP ligeira.

A MAVC no grupo do EMD tratado ( $0.57±0.2$ ) mostrou ser significativamente inferior à do grupo controlo ( $0.81±0.16$ ,  $p < 0.001$ ). No que respeita à EMC, à espessura da CCGR bem como à espessura das camadas externas da retina (deste a membrana limitante externa até à membrana de Bruch (figura 3)), os resultados são apresentados na tabela 2.

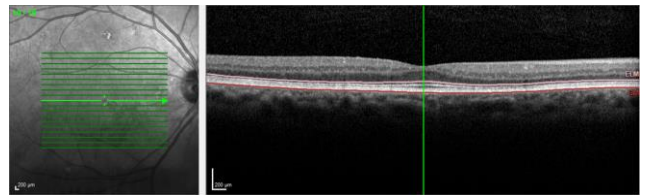


Figura 3 – Avaliação quantitativa das camadas externas da retina, deste a membrana limitante externa (ELM) até à membrana de Bruch (BM).

Tabela 2 - Avaliação da EMC e da espessura da CCGR

	EMD tratado	Controlo	P
EMC	284.9±33.6µm	284.8±31.0µm	0.96
CCGR	16.8±4.8 µm	21.3±7.6 µm	<b>0.008</b>
ECE	85.4±5.4µm	86.8±3.6 µm	0.21

EMD = Edema Macular Diabético; EMC = Espessura Macular Central; CCGR = Camada de células ganglionares da retina; ECE = Espessura das camadas externas da retina

No grupo do EMD tratado, a EMC teve uma correlação positiva moderada com a MAVC ( $r=0.5$ ,  $p < 0.001$ ); enquanto a espessura da CCGR evidenciou uma correlação positiva forte ( $r=0.7$ ,  $p < 0.001$ ).

No grupo do EMD tratado, 86.4% dos casos com MAVC > 0.4 tinham tido EM acima da zona elipsóide; enquanto em 62.5% dos casos com MAVC ≤ 0.4 o EM tinha envolvido a zona elipsóide. No entanto, no que respeita à avaliação quantitativa das camadas externas (figura 3) não houve diferença significativa entre o grupo de EMD tratado e os controlos (85.4±5.4µm e 86.8±3.6 µm respetivamente,  $p=0.21$ ).

A média de injeções realizadas no grupo do EMD tratado foi de 4.8±2.5; sendo que o número de injeções apresentou uma correlação positiva fraca quer com a MAVC ( $r=0.25$ ) quer com a espessura da CCGR ( $r=0.27$ ).

No grupo controlo, a espessura da CCGR dos indivíduos que realizaram laser (18.2±3.2µm) não diferiu significativamente dos que não realizaram (22.5±8.6µm,  $p=0.16$ ).

## DISCUSSÃO

Neste estudo, a EMC e a MAVC mostraram uma correlação moderada, enquanto em outros estudos essa correlação foi fraca.<sup>2</sup> Deste modo, é essencial o estudo de outras características associadas ao potencial de recuperação visual de um doente e à probabilidade de uma resposta funcional positiva ao tratamento. Este ponto tem maior relevância no tratamento com anti-VEGF, fármacos dispendiosos que têm vindo a monopolizar os recursos técnicos e humanos dos serviços.

Com os recentes avanços tecnológicos, o OCT tornou-se um método objetivo e fiável para estudar as camadas da retina.<sup>9</sup> Para além da avaliação do EMD e da caracterização

de alterações microestruturais, permite-nos mais recentemente quantificar cada camada individualmente e, desse modo, procurar estabelecer uma melhor correlação entre a morfologia da retina e os resultados funcionais.

A espessura da CCGR mostrou uma diferença estatisticamente significativa entre os doentes com EMD tratado e os controlos. Na diabetes, a neurodegenerescência da retina está descrita desde as fases precoces da doença.<sup>10,11</sup> Atendendo a que em ambos os grupos os indivíduos eram diabéticos e não existia diferença significativa na idade, a menor espessura da CCGR encontrada no EMD tratado poderá ser atribuída à degenerescência da retina provocada pelo acúmulo de fluido intraretiniano que induz distensão das células de Müller<sup>10,12</sup>; ao grau de isquemia que aumenta a degenerescência das CGR e que é maior nas classes mais avançadas da RD; ao pior controlo glicémico e, eventualmente, à toxicidade dos fármacos intravítreos.

Esta última hipótese tem menos força, visto a correlação ter sido fraca entre a espessura da CCGR e o número de injeções realizadas; contudo, não existem ainda estudos disponíveis, podendo ser um potencial alvo de investigação futura. No que respeita ao tratamento com laser, Wood et al<sup>13</sup> demonstrou morte das células do epitélio pigmentado da retina, mas pouca influência sobre as camadas internas; pelo que, este não terá sido um factor significativo para a diferença de espessura encontrada entre os grupos. A avaliação do efeito do laser, realizada no grupo controlo, também não mostrou diferença significativa na espessura da CCGR.

Atualmente, os sistemas de laser permitem fotocoagulação mais suave, procurando um efeito de produção de mediadores químicos mais do que ablação do foto-receptores ou pontes de oxigénio, permitindo atuar mais precocemente sobre as áreas de isquemia, ainda antes de haver neovascularização.<sup>1</sup> Esse facto contribuiu para o número de casos fotocoagulados no estudo; sobretudo porque, na prática clínica, nem sempre é possível cumprir com o esquema de seguimento e também pelo mau controlo metabólico dos doentes.

O facto dos casos com melhores AVs terem cursado com EM acima da zona elipsóide, pode mostrar uma tendência para terem melhor prognóstico do que aqueles em que ocorre envolvimento dessa camada, mesmo apesar de

após o tratamento não terem existido diferenças qualitativas nas camadas externas da retina (fator de exclusão para o estudo), nem diferenças quantitativas significativas em relação aos controlos. No entanto o desenho do estudo e o número de participantes não permite aferir um significado claro.

Os restritos critérios de inclusão/exclusão do estudo limitaram o tamanho da amostra, mas concederam maior força ao estudo; a informação sobre a duração do EMD antes do tratamento (ao influenciar quer o edema quer as AVs) seria relevante, no entanto é frequentemente um dado difícil de averiguar.

No que respeita à espessura da CCGR, é de referir que a diferença estabelecida entre os grupos poderá ser maior, uma vez que a perda de CGR pode estar subestimada ao ser apresentada por sectores (ETDRS); isto é, setores com áreas de perda importante onde coexistem áreas normais ou menos afetadas. Nesse sentido, o algoritmo de análise da camada de CGR no Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss®) que apresenta o valor mínimo da espessura do complexo CGR-plexiforme interna poderá ser mais sensível às perdas das CGR.12,14,15

Em conclusão, numa altura em que os recursos são escassos a identificação de biomarcadores que identifiquem os doentes que mais beneficiam de terapêuticas onerosas é importante.1 Nos casos de EMD tratado, e apesar da resposta anatómica favorável com restauração da normal EMC, a espessura das CGR menor está fortemente correlacionada com o resultado funcional. Este é portanto um fator a considerar na avaliação clínica desses doentes, sobretudo porque muitos terão recidiva do EMD com necessidade de retratamentos futuros.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Henriques J, Figueira J, Nascimento J, Gonçalves L, Medeiros MD, Rosa PC, Silva R. Retinopatia Diabética – Orientações Clínicas do Grupo de Estudos da Retina de Portugal. *Oftalmologia* ver. SPO vol. 39:4 supl. Out-Dez 2015
2. Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, Browning DJ, Glassman AR, e tal. Relationship between optical coherence tomography-measured central retina thickness and visual acuity in diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2007;114:525-536
3. Alasil T, Keane PA, Updike JF, e tal. Relationship between optical coherence tomography retinal parameters and visual acuity in diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2010; 117:2379-2386
4. Sakamoto A, Nishijima K, Kita M, Oh H, Tsujikawa A, Yoshimura N. Association between foveal photoreceptor status and visual acuity after resolution of diabetic macular edema by pars plana vitrectomy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009; 247:1325-1330
5. Zangalli CS, Ahmed OM, Waisbourd M, H Ali M, Cvintal V, Affel E, Gupta L, Katz LJ, C Sergott R. Segmental Analysis of Macular Layers in Patients With Unilateral Primary Open-Angle Glaucoma. *J Glaucoma*. 2016 Apr;25(4):e401-7
6. Wolf-Schnurrbuch UEK, Ceklic L, Brinkmann CK, et al. Macular thickness measurements in healthy eyes using six different optical coherence tomography instruments. *Invest ophthalmol Vis Sci*. 2009;50:3432-3437
7. Balasubramanian M, Bowd C, Vizzeri G, Weinreb RN, Zangwill LM. Effect of image quality on tissue thickness measurements obtained with spectral-domain optical coherence tomography. *Opt Express*. 2009 Mar 2; 17(5): 4019–4036
8. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. ETDRS Report No. 7: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. *Ophthalmology*. 1991;98(5 suppl):741-756
9. Wong RL, Lee JW, Yau GS, Wong IY. Relationship between Outer Retinal Layers Thickness and Visual Acuity in Diabetic Macular Edema. *Biomed Res Int*. 2015;2015:981471

10. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Garder TW. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J Clin Invest.*1998; 102:783-791
11. Van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PHB, e tal. Early neurodegeneration in the retina of type 2 diabetic patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53:2715-2719
12. Bonnin S, Tadayoni R, Erginay A, Massin P, Dupas B. Correlation between ganglion cell layer thinning and poor visual function after resolution of diabetic macular edema. *Invest ophthalmol Vis Sci.* 2015;56:978-982
13. Wood JP, Shibebe O, Plunkett M, Casson RJ, Chidlow G. Retinal damage profiles and neuronal effects of laser treatment: comparison of a conventional photocoagulator and a novel 3-nanosecond pulse laser. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Mar 28;54(3):2305-18
14. Mwanza JC, Durbin MK, Budenz DL, e tal. Profile and predictors of normal ganglion cell-inner plexiform layer thickness measured with frequency-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52:7872-7879
15. Takayama K, Hangai M, Durbin M, e tal. A novel method to detect local ganglion cell loss in early glaucoma using spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*2012; 53:6904-6913.

## CONTACTO

Mónica Loureiro

Centro Hospitalar de V.N.Gaia/Espinho

Rua Conceição Fernandes 1079 Vila Nova de Gaia

E-mail: monicamloureiro@gmail.com

---