

2020

TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓTICA: IMPLICAÇÕES DA INTEGRIDADE DAS BANDAS EXTERNAS DA RETINA NO PROGNÓSTICO DAS DOENÇAS MACULARES

KEISSY JOSELIN DE JESUS SOUSA

TESE DE DOUTORAMENTO APRESENTADA

À FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DO PORTO EM

ÁREA CIENTÍFICA

Keissy Joselin de Jesus Sousa

Tomografia de Coerência Ótica:
Implicações da Integridade das Bandas Externas da Retina no Prognóstico das Doenças
Maculares



Dissertação de candidatura ao grau de Doutor em Medicina, apresentada à
Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Porto - 2020

Keissy Joselin de Jesus Sousa

Tomografia de Coerência Ótica:
Implicações da Integridade das Bandas Externas da Retina no Prognóstico das Doenças
Maculares

Orientador: Professor Doutor Manuel Alberto de Almeida e Sousa Falcão

Esta investigação foi realizada, ao abrigo do Programa Doutoral em Medicina, no Serviço de Oftalmologia do Hospital de Braga, sob orientação do Prof. Doutor Manuel Falcão.

A candidata declara que teve uma contribuição determinante na realização do trabalho, interpretação dos resultados e discussão dos mesmos. Além disso, contribuiu ativamente para a redação dos trabalhos apresentados.

Artigo 48º, parágrafo 3º: “A Faculdade não responde pelas doutrinas expendidas na dissertação (Regulamento da Faculdade de Medicina do Porto – Decreto 19 337, de 29 de Janeiro de 1931).

Este projeto foi realizado com o apoio da Bolsa de Doutoramento atribuída pela José de Mello Saúde em julho 2019.

I. **PROFESSORES EFETIVOS**

Maria Amélia Duarte Ferreira

Patrício Manuel Vieira Araújo Soares Silva

Alberto Manuel Barros Da Silva

José Henrique Dias Pinto De Barros

Maria Fátima Machado Henriques Carneiro

Maria Dulce Cordeiro Madeira

Altamiro Manuel Rodrigues Costa Pereira

Manuel Jesus Falcão Pestana Vasconcelos

João Francisco Montenegro Andrade Lima Bernardes

Maria Leonor Martins Soares David

Rui Manuel Lopes Nunes

José Manuel Pereira Dias De Castro Lopes

António Albino Coelho Marques Abrantes Teixeira

Joaquim Adelino Correia Ferreira Leite Moreira

Raquel Ângela Silva Soares Lino

Rui Manuel Bento De Almeida Coelho

II. PROFESSORES JUBILADOS OU APOSENTADOS

Alexandre Alberto Guerra Sousa Pinto

Álvaro Jerónimo Leal Machado De Aguiar

António Augusto Lopes Vaz

António Carlos De Freitas Ribeiro Saraiva

António Carvalho Almeida Coimbra

António Fernandes Oliveira Barbosa Ribeiro Braga

António José Pacheco Palha

António Manuel Sampaio De Araújo Teixeira

Belmiro Dos Santos Patrício

Cândido Alves Hipólito Reis

Carlos Rodrigo Magalhães Ramalhão

Cassiano Pena De Abreu E Lima

Deolinda Maria Valente Alves Lima Teixeira

Eduardo Jorge Cunha Rodrigues Pereira

Fernando Tavarela Veloso

Francisco Fernando Rocha Gonçalves

Henrique José Ferreira Gonçalves Lecour De Menezes

Isabel Maria Amorim Pereira Ramos

Jorge Manuel Mergulhão Castro Tavares

José Agostinho Marques Lopes

José Carlos Neves Da Cunha Areias

José Carvalho De Oliveira

José Eduardo Torres Eckenroth Guimarães

José Fernando Barros Castro Correia

José Luís Medina Vieira

José Manuel Costa Mesquita Guimarães

Levi Eugénio Ribeiro Guerra

Luís Alberto Martins Gomes De Almeida

Manuel Alberto Coimbra Sobrinho Simões

Manuel António Caldeira Pais Clemente

Manuel Augusto Cardoso De Oliveira

Manuel Machado Rodrigues Gomes

Manuel Maria Paula Barbosa

Maria Da Conceição Fernandes Marques Magalhães

Maria Isabel Amorim De Azevedo

Rui Manuel Almeida Mota Cardoso

Serafim Correia Pinto Guimarães

Valdemar Miguel Botelho Dos Santos Cardoso

Walter Friedrich Alfred Osswald

Exma. Senhora
Mestre Keissy Joselin de Jesus Sousa
keissy.sousa@gmail.com

v.referência	v.comunicação	n.referência	data
		FOA.26. 3701 .2020	29.outubro.2020
assunto			
Provas de Doutoramento.			

Informo V. Ex^ª. que, por meu despacho de 2020.10.29, proferido no âmbito de delegação reitoral, nomeei o júri das provas de doutoramento em Medicina, requeridas por V. Ex^ª., com a seguinte constituição:

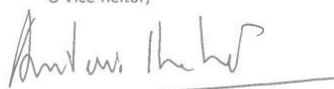
Presidente: Doutora Maria Leonor Martins Soares David, Professora Catedrática da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Vogais:

- Doutor Rufino Martins da Silva, Professor Associado da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra;
- Doutor Carlos Alberto Matinho Marques Neves, Professor Associado da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa;
- Doutor Francisco José Miranda Rodrigues da Cruz, Professor Catedrático Convidado da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto;
- Doutor Amândio António Rocha Dias de Sousa, Professor Associado Convidado da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto;
- Doutor Paulo Manuel Barreiros de Castro Chaves, Professor Auxiliar Convidado da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto;
- Doutor Manuel Alberto de Almeida e Sousa Falcão, Professor Auxiliar Convidado da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Com os melhores cumprimentos,

O Vice-Reitor,



(António Silva Cardoso)

(1/6)/PV



UNIVERSIDADE DO PORTO. REITORIA
PRAÇA GOMES TEIXEIRA, 4099-002 PORTO
TEL + 351 220 408 000 E-MAIL up@up.pt

A ti, Pedro

AGRADECIMENTOS

A escrita deste projeto deixa-me espaço para poder recordar em poucas palavras alguns dos que contribuíram para a sua realização. Desde que me propus a iniciar esta caminhada, a satisfação e a gratificação são os sentimentos que mais atribuo a esta bonificação da minha carreira profissional.

Ao meu orientador, Sr. Prof. Doutor Manuel Falcão pela oportunidade que me deu ao aceitar esta função e por se ter revelado o melhor orientador que podia ter escolhido. Agradeço profundamente tudo o que me ensinou, a disponibilidade, a forma franca e direta como aborda todas as questões e a visão prática com que soluciona os desafios.

Ao Diretor de Serviço de Oftalmologia do Hospital de Braga, Dr. Fernando Vaz, por nunca “cortar as asas a quem quer voar” e por me permitir seguir o meu percurso.

Aos meus colegas e amigos do Departamento de Retina do Hospital de Braga: Ao Dr. Gil Calvão-Santos, Dr. Luís Mendonça e Dra. Rita Gentil pelas oportunidades de aprendizagem na área cirúrgica e ao Dr. Nuno Gomes por ter sido meu orientador na formação específica e continuar a aconselhar-me quando necessito. Aos restantes colegas da Secção pela sua contribuição para a realização destes estudos: Dra. Petra Gouveia, Dr. José Costa, Dra. Carla Ferreira e Dra. Joana Pires. Uma palavra de apreço à colega e amiga, Dra. Paula Bompastor pelo suporte clínico na sua área e contributo gráfico deste documento.

Não posso deixar de agradecer aos restantes coautores dos trabalhos realizados: Dr. Tiago Fernandes, Dr. Jorge Costa e Dra. Marina João; e aos alunos da Escola de Medicina da Universidade do Minho por todos os anos me estimularem a crescer mais um pouco na realização das suas atividades académicas.

Aos restantes colegas e outros profissionais do Serviço de Oftalmologia e do Bloco de Ambulatório do Hospital de Braga por partilharem no seu dia-a-dia gestos pessoais e profissionais que me permitem gostar cada vez mais da minha profissão.

Aos meus amigos das diversas áreas, que não posso nomear um a um, por me manterem ligada a tão distintos interesses e me acompanharem nos momentos de lazer.

À minha família, Pai, Mãe, Irmão e Avó, por me darem o suporte que necessito desde o dia que comecei a existir. Um apelo de carinho ao meu Avô, uma estrela no Céu, que me ilumina.

Ao Mário, pela sua companhia, a sua compreensão, o seu orgulho - por estares comigo a todas as horas e por me teres permitido ser a mãe do Pedro.

Ao abrigo do Art. 8º do Decreto-Lei n.º388/70, são parte integrante desta dissertação as seguintes publicações:

1. **Sousa K**, Fernandes T, Gentil R, Mendonça L, Falcão M. Outer Retinal Layers as Predictors of Visual Acuity in Retinitis Pigmentosa: a cross-sectional study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018;257:265-271.
2. **Sousa K**, Viana AR, Pires J, Ferreira C, Queirós L, Falcão M. Outer Nuclear Layer as the Main Predictor to Anatomic Response to Half Dose Photodynamic Therapy in Chronic Central Serous Retinopathy. *Journal of Ophthalmology* 2019;2019:6 pages.
3. Fernandes T, **Sousa K**, Falcão M. Simetria Interocular da Integridade das Camadas Externas da Retina Avaliadas por Tomografia de Coerência Ótica em Doentes com Diagnóstico Clínico de Retinopatia Pigmentar. *Oftalmologia: Revista da Sociedade Portuguesa de Oftalmologia* 2019;43.
4. **Sousa K**, Calvão-Santos G, João M, Gomes N, Falcão M. 532-nm Subthreshold Micropulse Laser for the Treatment of Chronic Central Serous Retinopathy. *Clin Ophthalmol* 2020;14:525-531.
5. Fernandes T*, **Sousa K***, Azevedo I, Gouveia P, Calvão-Santos G, Gomes N, Falcão M. Baseline Visual Acuity and Interdigitation Zone as Predictors in Idiopathic Epiretinal Membranes – A Retrospective Cohort Study. *European Journal of Ophthalmology* 2020.

*First Author

ÍNDICE

CORPO CATEDRÁTICO DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DO PORTO	v
I. PROFESSORES EFETIVOS	v
II. PROFESSORES JUBILADOS OU APOSENTADOS	vi
AGRADECIMENTOS	x
ÍNDICE	13
LISTA DE FIGURAS E TABELAS	16
ABREVIATURAS	18
RESUMO	22
ABSTRACT	25
INTRODUÇÃO	28
RETINA	30
MÁCULA	30
TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓTICA	38
BANDAS DA RETINA EXTERNA	40
RETINOPATIA PIGMENTAR	42
RETINOPATIA SEROSA CENTRAL	45
MEMBRANA EPIRETINIANA	50
OBJETIVOS	53
PUBLICAÇÕES	56

OUTER RETINAL LAYERS AS PREDICTORS OF VISUAL ACUITY IN RETINITIS PIGMENTOSA: A CROSS-SECTIONAL STUDY	57
SIMETRIA INTEROCULAR DA INTEGRIDADE DAS CAMADAS EXTERNAS DA RETINA AVALIADAS POR TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓTICA EM DOENTES COM DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE RETINOPATIA PIGMENTAR	65
OUTER NUCLEAR LAYER AS THE MAIN PREDICTOR TO ANATOMIC RESPONSE TO HALF DOSE PHOTODYNAMIC THERAPY IN CHRONIC CENTRAL SEROUS RETINOPATHY	74
532 NM SUBTHRESHOLD MICROPULSE LASER FOR THE TREATMENT OF CHRONIC CENTRAL SEROUS RETINOPATHY	81
BASELINE VISUAL ACUITY AND INTERDIGITATION ZONE AS PREDICTORS FOR VISUAL ACUITY IN IDIOPATHIC EPIRETINAL MEMBRANES – A RETROSPECTIVE COHORT STUDY	89
OUTROS TRABALHOS	98
APRESENTAÇÕES EM CONGRESSOS NACIONAIS E INTERNACIONAIS	99
▪ ATIVIDADE ACADÊMICA	100
▪ OUTROS ARTIGOS CIENTÍFICOS	101
DISCUSSÃO	102
CONCLUSÃO	110
REFERÊNCIAS	113
ANEXOS	121

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1: Imagem do pólo posterior. a – umbo; círculos do interior para o exterior: foveola; fóvea; parafóvea; perifóvea.

Figura 2: Imagem de corte histológico transversal da retina e coróide.

Figura 3: Relação do epitélio pigmentar da retina com os fotorrecetores, a membrana de Bruch e a coriocapilar.

Figura 4: Esquema das conexões neuronais da retina.

Figura 5: Imagem de mácula normal em SD-OCT (Spectralis®, Heidelberg) com a identificação das diferentes camadas da retina.

Tabela 1: Correspondência das camadas celulares e sinápticas da retina.

ABREVIATURAS

AF: Angiografia Fluoresceínica

Anti-VEGF: Anti fator de Crescimento Vascular Endotelial (do inglês, *Anti-Vascular Endothelial Growth Factor*)

BCVA: do inglês, *Best-Corrected Visual Acuity*

BM: Buraco Macular

CCG: Camada de Células Ganglionares

CFNR: Camada de Fibras Nervosas da Retina

CNE: Camada Nuclear Externa

CNI: Camada Nuclear Interna

COST: Topo dos Segmentos Externos dos Cones (do inglês, *Cone Outer Segment Tips*)

CPE: Camada Plexiforme Externa

CPI: Camada Plexiforme Interna

CSR: do inglês, *Central Serous Retinopathy*

DEP: Descolamento do Epitélio Pigmentar da Retina

DMI: Degenerescência Macular da Idade

EC: Espessura da Coróide

ECM: Espessura Central Média da Fóvea

EDI: do inglês, *Enhanced Depth Imaging*

EPR: Epitélio Pigmentar da Retina

ERM: do inglês, *Epiretinal Membrane*

EZ: do inglês, *Ellipsoid Zone*

FSR: Fluido Subrretiniano

GMPc: Monofosfato Cíclico de Guanosina

HTA: Hipertensão Arterial

ICGA: Angiografia com Verde de Indocianina (do inglês, *Indocyanine Green Angiography*)

IZ: do inglês, *Interdigitation Zone*

LMP: Laser Micropulsado

IS/OS: junção dos Segmentos Interno/Externo dos fotorreceptores (do inglês, *Inner Segment/Outer Segment*)

MAVC: Melhor Acuidade Visual Corrigida

macTel: Telangietasia Macular

MEK: do inglês, *Mitogen-Activated Protein Kinase*

MER: Membrana Epirretiniana

MLE: Membrana Limitante Externa

MLI: Membrana Limitante Interna

MLM: Membrana Limitante Média

NVC: Neovascularização Coroideia

OCT: Tomografia de Coerência Ótica (do inglês, *Ocular Coherence Tomography*)

ONL: do inglês, *Outer Nuclear Layer*

ORT: Tubulações da Retina Externa (do inglês, *Outer Retinal Tubulations*)

OVR: Oclusão Venosa da Retina

PDT: Terapia Fotodinâmica (do inglês, *PhotoDynamic Therapy*)

RCS: Retinopatia Serosa Central

RGE: Refluxo Gastroesofágico

ROST: Topo dos Segmentos Externos dos Bastonetes (do inglês, *Rod Outer Segment Tips*)

RP: Retinopatia Pigmentar (ou do inglês, *Retinitis Pigmentosa*)

SD-OCT: Tomografia de Coerência Ótica de domínio espectral (do inglês, *Spectral-domain Ocular Coherence Tomography*)

SS-OCT: do inglês, “*Swept-Source*” OCT

TD-OCT: Tomografia de Coerência Ótica de domínio temporal (do inglês, *Time-domain Ocular Coherence Tomography*)

VPP: Vitrectomia via Pars Plana

ZAF: Zona Avascular da Fóvea

ZE: Zona Elipsóide

ZI: Zona de Interdigitação

RESUMO

Introdução: A patologia macular é diversificada com diferentes processos fisiopatológicos que levam perda da visão central. A tomografia de coerência ótica de domínio espectral (SD-OCT) avalia a retina com um detalhe ao nível quase “histológico”, *in vivo*, de uma forma não invasiva. Assim, avaliar três doenças maculares distintas – a Retinopatia Pigmentar (RP) que afeta primariamente os fotorreceptores, a Retinopatia Serosa Central (RSC) com afetação primária da coróide e do epitélio pigmentado da retina, e a Membrana Epirretiniana (MER) que atinge a interface vitreorretiniana – e caracterizar as diferentes alterações tomográficas para cada doença é importante para o diagnóstico e para avaliação de melhores possibilidade no tratamento das mesmas.

Métodos: Realizaram-se diferentes estudos no Serviço de Oftalmologia do Hospital de Braga. Na RP realizou-se um estudo transversal com o objetivo de correlacionar a função visual com a afetação das bandas externas da retina. Na RSC realizou-se um estudo coorte retrospectivo com o objetivo de avaliar a retina externa como biomarcador de resposta anatômica e visual ao tratamento com terapia fotodinâmica em meia-dose (HD-PDT). Na MER realizou-se um estudo retrospectivo com o objetivo de avaliar as camadas da retina externa e a melhor acuidade visual corrigida (MAVC) inicial com a função visual final. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética do CESH (Comissão de Ética para a Saúde do Hospital de Braga) e realizado de acordo com os princípios legais éticos. Foram recolhidos dados anonimizados: demográficos, avaliação biomicroscópica e fundoscópica, MAVC e os seguintes dados do SD-OCT: espessura da camada nuclear externa (CNE), presença subfoveal de membrana limitante externa, zona elipsóide (ZE) e zona de interdigitação (ZI).

Resultados: A RP mostrou-se como uma patologia de afetação simétrica no SD-OCT no que respeita ao atingimento das bandas externas da retina. A ZE mostrou-se preditora da MAVC, em que a sua presença isolada melhora 0.37 logMAR a MAVC, comparativamente a outro doente sem ZE. Na RSC, a CNE mostrou-se como preditora na resposta anatômica ao HD-PDT. Por cada

aumento de 10 μm na CNE, existe um aumento de 45.7% de probabilidade na resposta anatômica. A ZI mostrou-se como preditora de melhor resultado cirúrgico dos doentes com MER, assim como a MAVC inicial. A presença de ZI prediz uma melhoria da MAVC de -1.10 logMAR, comparativamente à ausência desta camada que prediz uma melhoria de -0.14 logMAR. Se um paciente tiver uma MAVC inicial de 0.20 logMAR, pode estimar-se uma MAVC final de 0.03 logMAR, comparativamente a uma MAVC inicial de 0.8 logMAR que se estima uma MAVC final de 0.29 logMAR.

Conclusão: A retina é uma estrutura altamente complexa, organizada por camadas, cada uma com uma função específica na transformação do estímulo luminoso em um impulso nervoso. Esta pode ser globalmente afetada mesmo quando as patologias parecem afetar áreas específicas da mesma. Pelo trabalho desenvolvido observa-se que as diferentes patologias afetam de forma diferente as bandas da retina externa e consequentemente interferem no seu prognóstico. É importante realçar que apontar-se um único fator como biomarcador pode parecer redutor, devendo este ser integrado na restante informação clínica e imagiológica do doente.

ABSTRACT

Introduction: Macular diseases are diverse, and its pathophysiological mechanisms could lead to loss of central vision. Spectral-domain optic coherence tomography (SD-OCT) allows retinal layers evaluation with great precision and accuracy and noninvasive modality. Therefore, evaluate retinal layers in three different macular diseases – Retinitis Pigmentosa (RP) which affects photoreceptors mainly, Central Serous Retinopathy (CSR) which affects primary choroid and retinal pigment epithelium and Epiretinal Membrane (ERM) which affects vitreoretinal interface – with tomographic flaws is important to improve differential diagnosis, monitor disease progression as well as therapeutic effects.

Methods: All clinical studies were completed in the Ophthalmology Department of Hospital de Braga. In Retinitis Pigmentosa field was performed a cross-sectional study to correlate visual function and external retinal bands findings. In CSR, a retrospective cohort study was used to evaluate external retinal bands as a biomarker to anatomical and visual response to half-dose Photodynamic Therapy (HD-PDT). In ERM a retrospective cohort study was done to evaluate external retinal bands and baseline best-corrected visual acuity (BCVA) with final visual function. All clinical studies were approved by the institutional review committee and adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki. All collected data were anonymized: demographic, anterior segment slit lamp, fundoscopy and the following SD-OCT layers: ONL (outer nuclear layer), presence of subfoveal external limiting membrane, ellipsoid zone (EZ) and interdigitation zone (IZ).

Results: RP showed symmetrical findings in SD-OCT external retinal bands. Subfoveal EZ integrity seemed to be a predictor of BCVA, as its presence improves 0.37 logMAR comparing to EZ absence. ONL demonstrated as predictor to anatomical response to HD-PDT. For each increase of 10 μm in ONL, it was demonstrated a 45.7% of chance in anatomical response to treatment. IZ was the retinal layer biomarker that was proved to improve functional result to ERM submitted to pars plana vitrectomy in ERM, as baseline BCVA. Subfoveal IZ predicts a BCVA improvement of

-1.10 logMAR compared to absence of this layers that that predicts only -0.14 logMAR of BCVA increase. With a baseline BCVA of 0.20 logMAR it is estimated a final BCVA of 0.03 logMAR compared to a baseline BCVA of 0.80 logMAR that will predict a final BCVA of 0.29 logMAR.

Conclusion: Retina is a highly complex anatomic structure, organized by layers, each one with specific function in the light transmission to conversion into a nervous impulse. Retina can be globally affected even when the diseases seem to affect specific areas. In this project, it was observed that different pathologies change external retinal bands in different ways. It is important to remind that a unique biomarker could be reducer and these results should be integrated in remnant clinical information to improve patient management.

INTRODUÇÃO

No processo visual, a retina ocupa um papel fundamental sendo responsável pela transformação de uma onda luminosa num impulso nervoso (fototransdução). A retina é composta por um neuroepitélio delicado que compõe a parte posterior do globo ocular. A região central denomina-se por mácula e é responsável pela visão central, enquanto a retina periférica é responsável pela visão escotópica e periférica¹. As doenças da retina, nomeadamente as doenças que afetam a mácula, são uma parte significativa e importante da consulta de oftalmologia. A patologia macular é diversificada com diferentes processos fisiopatológicos que levam a formas diferentes de perda da visão central. Perceber como as diferentes patologias interferem com a anatomia e fisiopatologia retiniana é fundamental para podermos diagnosticar e tratar adequadamente estas doenças e para avaliarmos possibilidades de evoluir no tratamento das mesmas. Com o aparecimento de novas tecnologias de imagem nomeadamente a tomografia de coerência ótica de domínio espectral (SD-OCT) é possível avaliar a retina com um detalhe ao nível “histológico”, *in vivo*, de uma forma não invasiva. Assim, é cada vez mais importante direcionarmos os tratamentos mais adequados, quer no *timing* quer nas características fisiopatológicas.

A retina externa é o local onde ocorre a fototransdução. A sua organização em camadas é complexa: alterações na sua morfologia levam frequentemente a perda da função visual. No entanto, a forma como as diferentes patologias afetam a retina externa varia e consequentemente as suas repercussões na visão também serão diferentes. Pretendo, com esta tese, avaliar a forma como diferentes patologias retinianas interferem com a retina externa ao nível da estrutura retiniana e da acuidade visual usando como modelo três doenças retinianas com processos fisiopatológicos muito diferentes: uma como patologia primária dos fotorreceptores; outra em que patologia surge em alterações na transição entre a retina e corioideia; e, finalmente uma em que a patologia se inicia na retina interna, mais precisamente na interface vítreo retiniana. Essas doenças são a respetivamente a retinopatia pigmentar (RP), a retinopatia serosa central (RSC) crónica e a membrana epirretiniana (MER).

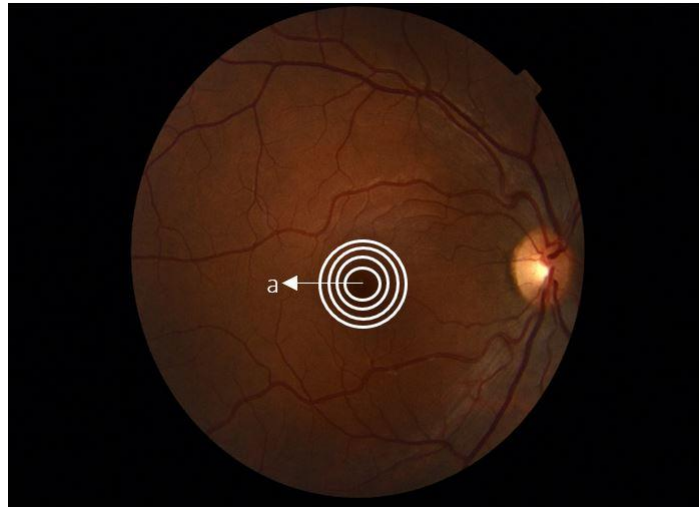
RETINA

A retina é um tecido transparente e delicado composta por 10 camadas, com espessura máxima (aproximadamente 0.55 mm) na margem foveal e espessura mínima (cerca de 0.13 mm) no umbo, estando firmemente aderente ao nervo ótico e a ora serrata.^{2,3} É uma estrutura altamente complexa, organizada por camadas, cada uma com uma função específica na transformação do estímulo luminoso em um impulso nervoso. A periferia da retina é responsável pela visão periférica e escotópica, menos detalhada; a região central é composta pela mácula e polo posterior, sendo responsável pela visão mais pormenorizada e pela percepção cromática.¹ O suprimento sanguíneo da metade interna é função da artéria central da retina, dividida em tronco superior e inferior a partir do nervo ótico. Cada tronco é dividido em ramos nasal e temporal. A vascularização venosa tem a mesma distribuição que a arterial.² Os capilares retinianos são responsáveis pela vascularização dos 2/3 internos da retina, sendo o 1/3 externo vascularizado pela coriocapilar.⁴

MÁCULA

A macula (figura 1) corresponde à área central da retina, mede cerca de 5.5 mm de diâmetro, localizando-se entre o disco e as arcadas vasculares temporais.¹ Compreende cerca de metade das células ganglionares da retina e contém carotenoides oxigenados, em particular a luteína e a zeaxantina que contribuem para a sua coloração amarelada.¹ A região de 1.5 mm centrais da mácula denomina-se fóvea, e é responsável pela estereopsia e a visão cromática.¹ Apresenta um declive na sua margem conhecida como fovéola, correspondente a 0.35 mm de diâmetro onde os cones são mais alongados e em maior quantidade.¹ Os 150 µm centrais denominam-se de umbo.¹ Em redor da fóvea, existem anéis concêntricos denominados de perifóvea e parafovêa.¹ A área da fóvea que não contém vasos denomina-se zona avascular foveal (ZAF), referência importante na angiografia fluoresceínica (AF) e angiografia por OCT.¹

Figura 1: Imagem do pólo posterior. a – umbo; círculos do interior para o exterior: foveola; fóvea; parafóvea; perifóvea.¹



As camadas da retina podem ser vistas em corte transversal em preparações histológicas.

Classicamente, a histologia da retina está descrita em 10 camadas – figura 2.

Estão ordenadas da retina externa (desde a coroide) para a interna (adjacente ao vítreo):

- 1) Epitélio Pigmentar da Retina (EPR)
 - a) Membrana de Bruch
- 2) Segmento Externo dos Fotorreceptores
- 3) Segmento Interno dos Fotorreceptores
 - a) Membrana Limitante Externa (MLE)
- 4) Camada Nuclear Externa (CNE)
- 5) Camada Plexiforme Externa (CPE)
 - a) Membrana Limitante Média (MLM)
- 6) Camada Nuclear Interna (CNI)
- 7) Camada Plexiforme Interna (CPI)
- 8) Camada de Células Ganglionares (CCG)
- 9) Camadas de Fibras Nervosas Retina (CFNR)
- 10) Membrana Limitante Interna (MLI)

Figura 2: Imagem de corte histológico transversal da retina e coróide.¹

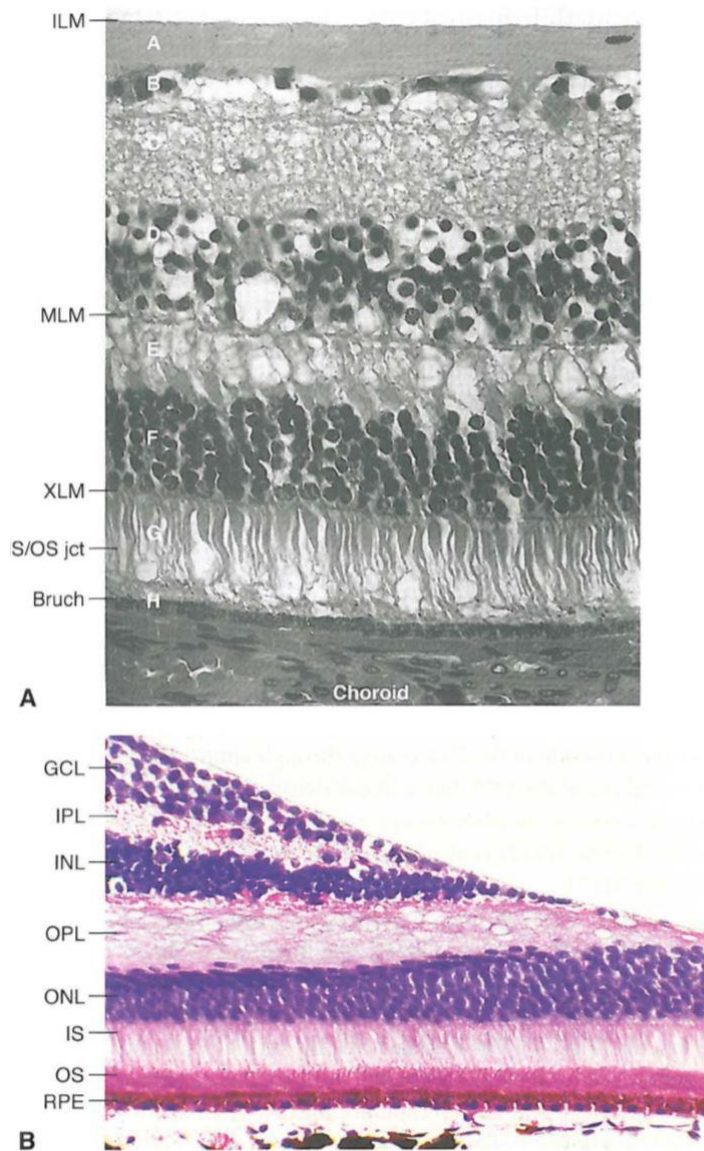


Imagem A: Corte histológico transversal da retina e coróide. A = Camada de fibras nervosas; B = Camadas de Células Ganglionares; C = Camada Plexiforme Interna; D = Camada Nuclear Interna; E = Camada Plexiforme Externa; F = Camada Nuclear Externa; G = Segmentos Externos dos Fotorreceptores; H = Epitélio Pigmentar da Retina. Imagem B: Na fóvea, a camada das células internas deslocam-se periféricamente e observa-se um aumento da densidade do pigmento do epitélio pigmentar da retina. GCL = Camada de Células Ganglionares; INL = Camada Nuclear Interna; IPL = Camada Plexiforme Interna; IS = Segmento Interno dos Fotorreceptores; ONL = Camada Nuclear Externa; OPL = Camada Plexiforme Externa; OS = Segmento Externo dos Fotorreceptores; RPE = Epitélio Pigmentar da Retina

O sangue entra na coroide pelas artérias ciliares posteriores.¹ Os vasos mais externos, de grande calibre, denominada camada de Haller, é relativamente espessa.¹ Estes vasos dividem-se em vasos de menor calibre e nas arteríolas pré capilares, denominada como camada de Sattler.¹ Estes vasos reduzem a pressão arterial para a irrigação retiniana.¹ Entre os vasos da coróide estão tecido conjuntivo laxo, fibroblastos e melanócitos.¹ A coroide tem uma espessura máxima posterior (0.22 mm) e torna-se progressivamente mais fina, com o mínimo de 0.1 mm na região da ora serrata.¹ Após passar na coriocapilar o sangue entra nas vénulas que coalescem com os canais coletores das veias vortex.¹ A maioria dos olhos contém 4-5 veias vortex que saem do olho na região posterior ao equador.¹ Estas drenam para a veia oftálmica superior e inferior.¹ A retina contém uma das maiores taxas metabólicas do organismo que é suprida pela coroide cujo fluxo sanguíneo é o maior de todos os tecidos.¹ O sangue venoso que sai da coroide tem ainda uma elevada tensão de oxigénio.¹ As células do EPR suprajacentes à coriocapilar estão expostas a esta tensão, aumentando o risco de dano oxidativo.¹ A rapidez do fluxo coroideu atua como dissipador de calor para remover a energia da absorção luminosa.¹

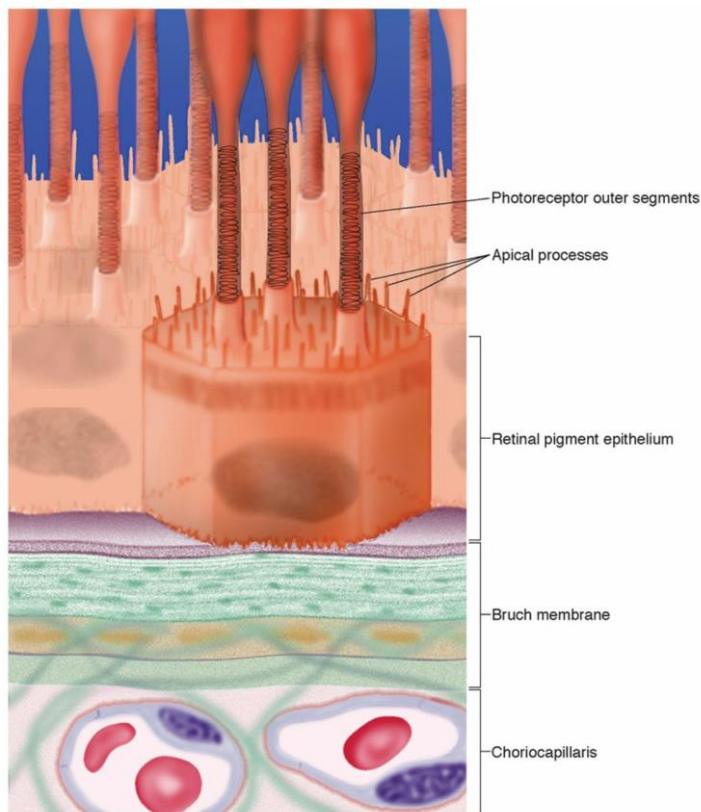
O EPR é uma monocamada de células pigmentares que mantém a disposição da glia mülleriana.¹ É contínua com o epitélio pigmentar do corpo ciliar e íris.¹ Cada célula do EPR contém um ápex e uma base, a porção apical que engloba os segmentos externos dos fotorreceptores e as suas vilosidades.¹ As células do EPR são hexagonais, mais altas e densas na região macular.¹ A superfície lateral das células adjacentes estão ligadas por complexos juncionais (zonulae occludentes) perto dos ápices, ajudando na formação da barreira hematorretiniana.¹ As funções do EPR incluem: absorção da luz, fagocitose dos segmentos externos dos cones e bastonetes, metabolismo dos ácidos gordos polinsaturados e da retina formando a barreira hematorretiniana externa.¹

Internamente ao EPR encontram-se os segmentos externos dos fotorreceptores e externamente ao EPR encontram-se a membrana de Bruch e a coroide – figura 3.¹

As células do EPR contêm elevado número de melanossomas com função de absorção da luz, de acordo com a distribuição de melanina.¹ A função fagocítica do EPR leva a uma contínua ingestão de membranas que extravasam dos segmentos externos dos fotorreceptores, através dos lisossomas, e posterior renovação dos mesmos. Esta função respeita um ritmo circadiano.¹ Os pigmentos visuais contêm 11-cis-retinaldeído que é convertido para 11-trans-retinaldeído. A maioria dos passos da regeneração da configuração 11-cis ocorrem no EPR. Diversas alterações patológicas como defeitos genéticos, fármacos, déficit nutricional (vitamina A) ou idade podem alterar o processo de fagocitose e renovação dos fotorreceptores.¹ A separação física da retina com o EPR (como nos casos em que há presença de fluido subretiniano) altera também este processo metabólico. A função de barreira do EPR evita a difusão de metabolitos entre a coróide e o espaço subretiniano.¹ Assim, o ambiente dos fotorreceptores é altamente regulado pelas propriedades do transporte seletivo do EPR. Este tem uma capacidade elevada de transporte de fluido, o que evita a sua acumulação no espaço subretiniano em condições normais.¹ Estas propriedades de desidratação do espaço subretiniano também modelam as conexões entre os fotorreceptores e ajudam na ligação ao espaço neurosensorial da retina. Assim, com a deterioração do EPR, há uma correspondente atrofia dos fotorreceptores suprajacentes e da coriocapilar subjacente.¹

A membrana de Bruch, na porção basal do EPR, contém 4-5 camadas que incluem: membrana basal do EPR, porção interna de colagénio, camada média de fibras elásticas, porção externa de colagénio, membrana basal do endotélio da coriocapilar.¹ Ao longo da vida, lípidos e material oxidado armazenam-se na membrana de Bruch.¹

Figura 3: Relação do epitélio pigmentar da retina com os fotorreceptores, a membrana de Bruch e a coriocapilar.⁵



Observa-se a interdigitação dos processos apicais do epitélio pigmentar da retina (EPR) com os segmentos externos dos fotorreceptores. A membrana de Bruch separa o EPR da coriocapilar.

Quando existe um estímulo visual na retina periférica, há um foco automático no centro do olhar.⁶ A luz atravessa todas as camadas da retina até aos fotorreceptores.¹ A densidade e a localização dos mesmos varia de acordo com a sua localização topográfica.¹ A região central com maior acuidade visual é conhecida pela fóvea.⁶ No centro da retina, a depressão foveal contém maior densidade de fotorreceptores dos cones (cerca de 90% dos existentes na retina) e processos das células de Muller e não existem bastonetes.^{1, 6}

Os fotorreceptores são células altamente polarizadas, alongadas que podem ser descritas em quatro compartimentos subcelulares: segmento externo, segmento interno, núcleo e terminal sinático.⁷ O segmento externo é o local onde os fótons são capturados e se inicia a cascata da fototransdução.⁷ O segmento interno é responsável pela síntese celular proteica (aparelho de Golgi e retículo endoplasmático) e os processos metabólicos (mitocôndria).⁷ As moléculas

sensíveis à luz derivam da vitamina A contida nas membranas discais dos segmentos externos dos fotorreceptores. Os discos estão anexados a processos ciliares fixados através dos neurotúbulos da elipsoide e mioide dos segmentos internos. A elipsoide, adjacente ao processo ciliar contém mitocôndrias responsáveis pelo formato de cone. As mitocôndrias, os processos ciliares e os discos internos formam um conjunto denominado de zona elipsoide (ZE). A mioide encontra-se mais próxima ao núcleo dos fotorreceptores e contém o retículo endoplasmático.¹

O sinal luminoso é transmitido passivamente pelo axônio do fotorreceptor (75 µm de comprimento) até os terminais sinápticos na CPE.⁷ A estrutura dos terminais dos fotorreceptores são únicos no sistema nervoso, através de uma estrutura altamente especializada – sinapse fita (*ribbon*) – que facilita a liberação de neurotransmissores excitatórios de glutamato aos neurônios de 2ª ordem (células bipolares e horizontais).⁷ A cascata de fototransdução é um processo metabolicamente muito ativo.⁵ A luz ativa a rodopsina e eleva os níveis de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) para ser desativada via transducina pela porção catalítica da fosfodiesterase (PDE), o que leva ao encerramento dos canais de voltagem iônico de GMPc e consequente hiperpolarização dos fotorreceptores. A rodopsina é desativada através da fosforilação e ligação à proteína arrestina. A fosforilação é mediada pela rodopsina-quinase, que é regulada pela recoverina. Quando os níveis de Ca^{2+} diminuem, a recoverina dissocia-se da rodopsina-quinase encerrando os canais de voltagem iônico de GMPc. A arrestina liga-se à rodopsina fosforilada, completando o processo. Os níveis de GMPc restabelecem-se através da desativação da transducina, pela atividade intrínseca da GTPase. A atividade da fosfodiesterase reduz e a atividade do guanilato ciclase aumenta, permitindo o aumento dos níveis de GMPc e a reabertura dos seus canais de voltagem iônico.⁵

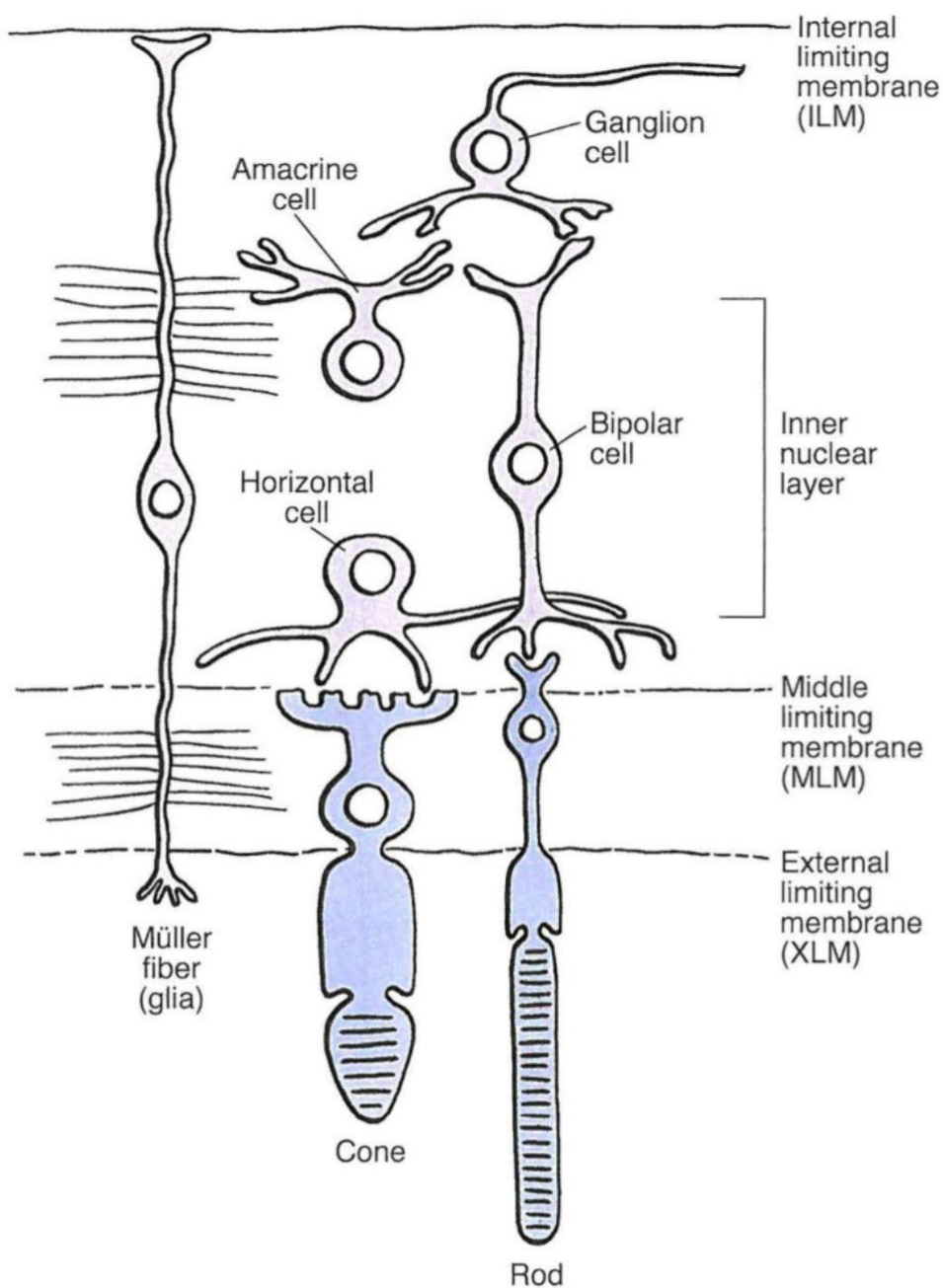
Os cones realizam sinapse com as células bipolares *midget* numa ligação 1-1. Outros tipo de células bipolares também podem realizar sinapse com os cones.¹ Pelo contrário, fora da fóvea, múltiplos bastonetes podem fazer sinapse com uma célula bipolar. As células bipolares são os

primeiros neurónios da via visual, fazem sinapse com as células ganglionares, os segundos neurónios da via visual na CPI.¹ As células ganglionares recebem estímulos das células bipolares e amácrinas e desenvolvem potenciais de ação que são enviados ao cérebro.¹ As células amácrinas localizadas na CNI auxiliam na resposta a alterações específicas do estímulo como as alterações de luminosidade.¹ As células horizontais localizam-se na região externa da CNI e CPE.^{1,6} A camada de fibras nervosas, axónios das células ganglionares, percorrem a porção interna da retina até ao nervo ótico, formando o trato ótico.¹ A MLI formada pela base das células de Muller está conectada à hialoideia posterior.¹ A MLM e a MLE não são verdadeiras membranas mas complexos juncionais entre as camadas. As células de Muller, cujos núcleos se localizam na CNI percorrem todas as camadas da retina. O 1/3 interno da CPE contém desmossomas que conectam com as fibras internas dos fotorreceptores e os processos das células bipolares, formando a MLM, observável na tomografia de coerência ótica (OCT, do inglês *Ocular Coherence Tomography*).¹ A porção externa das células de Muller e os fotorreceptores formam a MLE, estrutura também observável no OCT— figura 3. A tabela 1 resume a correspondência das camadas celulares e sinapses da retina.

Tabela 1: Correspondência das camadas celulares e sinápticas da retina⁶

Camada Nuclear Externa	Fotorreceptores, bastonetes e cones
Camada Plexiforme Externa	Conexão de fotorreceptores com células horizontais e bipolares
Camada Nuclear Interna	Células horizontais, células bipolares, células amácrinas e células de Müller
Camada Plexiforme Interna	Conexão de células bipolares com células amácrinas e células ganglionares
Camada de Células Ganglionares	Células ganglionares, células amácrinas

Figura 4: Esquema das conexões neuronais da retina.¹



TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓTICA

O OCT é atualmente uma das ferramentas mais utilizadas na consulta de oftalmologia. É um método não-invasivo que nos permite aceder a uma imagem detalhada e de alta resolução das estruturas oculares *in vivo* e microvasculatura associada.⁸⁻¹⁰ A correspondência das camadas

histológicas com a imagem no OCT é evidente à vista desarmada, no entanto a sua correspondência não é perfeita apresentando algumas limitações.¹¹⁻¹³

A tecnologia de OCT é baseada no princípio de interferometria de baixa-coerência (interferómetro de Michelson), onde um feixe luminoso é direcionado ao tecido-alvo e a luz refletida combina-se com um segundo feixe de referência. O resultado dos padrões de interferência é usado na reconstrução de um *A-scan* axial que representa as propriedades do tecido ao longo do feixe irradiado. Movendo o feixe de luz ao longo dos tecidos, resulta na combinação de vários *A-scan*, em que cada um deles é de um diferente ponto de incidência. De todos os *A-scan*, uma imagem bidimensional é reconstruída, denominada *B-scan*. Se estes *scan-B* forem repetidos em múltiplas posições adjacentes, pode construir-se uma imagem tridimensional.^{8, 14-17} O primeiro equipamento comercializado foi em 1996, com resolução de 20 μm – domínio temporal (TD, do inglês *time-domain*) OCT.^{10, 14, 18} Mais recentemente, o OCT de domínio espectral (SD-OCT) utiliza um luz infravermelha com um comprimento de onda de cerca de 840 nm. Para cada comprimento de onda, a resolução axial é dependente de uma fonte de luz, cuja resolução pode chegar aos 2 μm . No entanto, esta é limitada pela capacidade do doente evitar os movimentos oculares, capacidade técnica de ajuste aos movimentos e a capacidade de *tracking* do *software*. A velocidade de *scan* do SD-OCT é de cerca de 25000 *scan-A* por segundo, cerca de 200 vezes mais rápido que os equipamentos iniciais. O OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) apresenta uma resolução de 8 μm com uma taxa de *scanning* de 40 kHz.^{8, 19} A técnica de aproximação do SD-OCT ao olho, melhorando a imagem da coroideia com perda de resolução das camadas da retina e da cavidade vítrea, é conhecida como EDI (do inglês *Enhanced Depth Imaging*). Esta permite uma análise qualitativa e quantitativa da coróide, obtendo-se uma imagem invertida focada nesta estrutura.²⁰

Mais recentemente, surgiu uma nova tecnologia denominada de OCT “*Swept Source*” (SS-OCT) que também constrói um interferograma decodificado por uma transformação de Fourier.²¹ A

vantagem relativa ao SD-OCT é a maior sensibilidade e um menor ruído de sinal, principalmente nas imagens dos tecidos oculares mais profundos, tanto na retina como no nervo ótico.²¹ A velocidade de aquisição permite obter 100000 scan-A por segundo, o que permite melhorar a imagem em doentes com dificuldade de fixação.²¹ A qualidade da imagem dos tecidos mais externos, por exemplo da coróide, é também superior, sem necessidade de recorrer ao método EDI.²¹ A largura obtida do scan-B é também mais alargado, permitindo a obtenção de imagens até 43º numa só imagem.²¹ Por último, o comprimento de onda utilizado é de 1060 nm, cuja penetração nos tecidos oculares profundos está otimizada, permitindo a visualização da coróide e esclera e atravessar melhor opacidade de meios (por exemplo, catarata).²¹

BANDAS DA RETINA EXTERNA

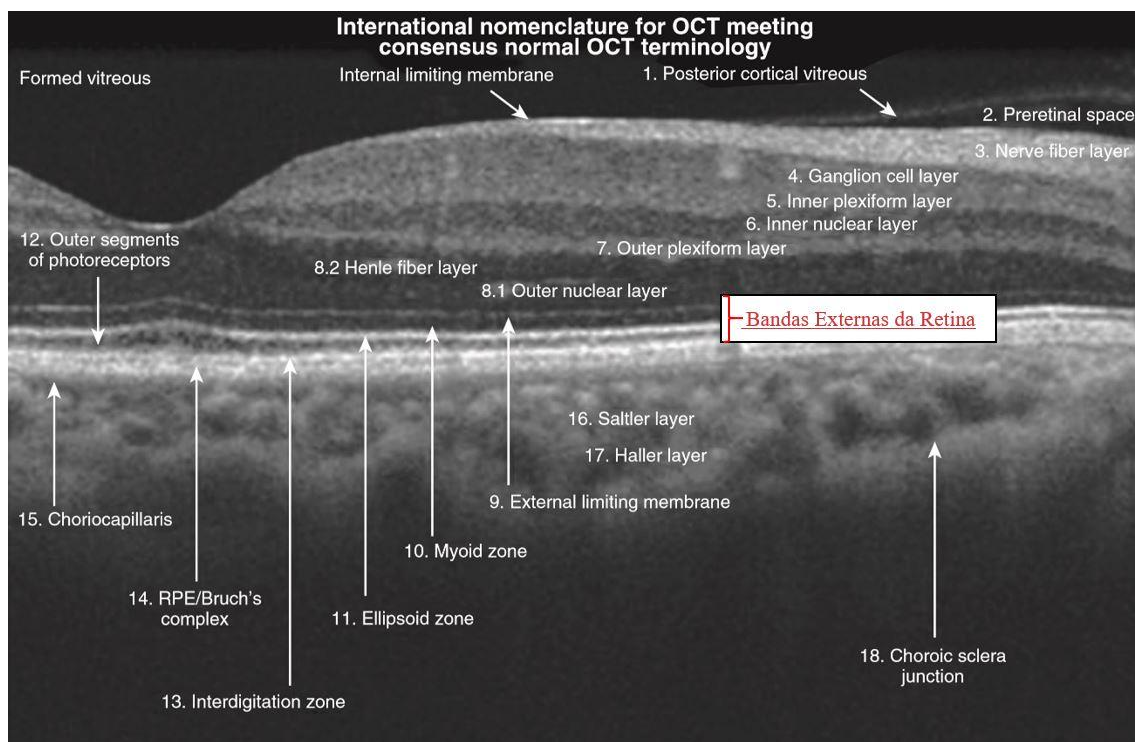
A tecnologia do OCT tornou possível a observação *in vivo* da estrutura retiniana a uma escala microscópica – figura 5.^{8, 10, 19, 22, 23} Os equipamentos mais avançados permitiram a observação não só das camadas retinianas classicamente descritas na histologia bem como pormenores de algumas das camadas.^{10, 13} A CNE foi descrita como a zona hiporrefletiva entre a CPE e a MLE. No entanto, a espessura relativa desta região no SD-OCT é superior quando comparada com as preparações histológicas, o que se atribui à inclusão da camada de fibras de Henle na região mais interna.¹³ A zona mióide não é uma camada distinta no SD-OCT, constituindo uma região hiporrefletiva dada a baixa composição de mitocôndrias.

Nomeadamente, ao nível da retina externa é possível identificar 4 bandas: MLE, ZE, zona de interdigitação (ZI) e EPR bem como a membrana de Bruch e a coriocapilar.^{10, 24, 25} A MLE é a primeira e com menor reflexividades das 4 bandas hiperreflexivas.¹¹ Está localizada na região de ligação dos corpos celulares (núcleos) e o segmento interno dos fotorreceptores e compreende complexos juncionais entre as células de Müller e os fotorreceptores. Geralmente é mais fina e mais hiporrefletiva do que as restantes bandas.^{8-10, 19, 26, 27} A sua espessura está alterada devido à refletividade na aquisição da imagem pelo OCT, sendo originalmente menos espessa do que

projeta na imagem.¹⁰ A ZE mostra-se como a segunda banda hiperrefletiva, previamente denominadas como junção dos segmentos interno/externo dos fotorreceptores (IS/OS).^{11, 28} Atualmente a evidência sugere que é formada essencialmente por mitocôndrias da camada elipsoide da porção externa dos segmentos internos dos fotorreceptores, não sendo uma estrutura anatômica única.^{10, 28} A sua imagem hiperrefletiva aparenta estar correlacionada com a presença de mitocôndrias.¹¹ Na fóvea normal, a distância entre a linha ZE à MLE é inferior e distância entre a linha ZE e o EPR.^{10, 23, 27} A sua integridade tem vindo a ser estudada como marcador de diversas patologias maculares como a degenerescência macular da idade (DMI), doenças inflamatórias, buraco macular (BM), membrana epirretiniana (MER), descolamento da retina, telangiectasia macular (macTel), oclusão venosa da retina (OVR) e retinopatia serosa central (RSC). A ZI corresponde ao contato entre os ápices das células do EPR no segmento externo dos cones. Existem vários contrasensos respeitante à sua correspondência com a membrana de Verhoeff.^{10, 27} Não está ainda claro como é que os complexos juncionais são visíveis como uma membrana no OCT.¹³ Estas regiões eram previamente denominadas de COST (do inglês *cone outer segment tips*) e ROST (do inglês *rod outer segment tips*) e muitas vezes não se diferenciam do EPR, mesmo em indivíduos normais.⁸ A quarta banda é formada pelas células do EPR e da membrana de Bruch. Na fóvea, esta região é mais espessa o que pode contribuir para a hiperrefletividade desta camada nesta área.^{8, 10, 13}

O software de análise de imagem presente no OCT Spectralis® tem capacidade de detectar automaticamente as diferentes camadas retinianas e permite realizar mapas de espessuras retinianas e comparar automaticamente as variações que possam existir ao longo do tempo. No entanto, algoritmos com capacidade para detectar de uma forma fidedigna a diferenciação e medição das diferentes camadas da retina (principalmente as externas) ainda não estão disponíveis comercialmente para plataformas como o Spectralis® o que faz com que as medições das camadas individuais tenham que ser sempre feitas de um modo manual.

Figura 5: Imagem de mácula normal em SD-OCT (Spectralis®, Heidelberg) com a identificação das diferentes camadas da retina.^{8, 13} A vermelho está indicado o conjunto das bandas externas da retina, correspondente à numeração 9-13.



Este avanço na observação das bandas externas, permitiu uma melhor classificação das patologias que afetam a macula (nomeadamente do edema macular diabético, a DMI, OVR, maculopatia por hidroxicloroquina, RSC, macTel), doenças da interface vitreoretiniana, (como a tração vitreomacular, MER e BM), tumores intraoculares, doenças heredodegenerativas (doença de Stargardt, doença de Best, maculopatia viteliforme do adulto, retinite pigmentar (RP), distrofia de cones, retinosquiasis) e retinopatia da prematuridade.²⁸ De acordo com a fisiopatologia da doença, a correspondência no SD-OCT tornou possível uma observação mais precisa acerca da afetação da patologia nas diferentes camadas da retina.

RETINOPATIA PIGMENTAR

Ao longo dos anos, vários termos têm designado a retinopatia pigmentar (RP), incluindo “degeneração tapetoretiniana” (Leber, 1916), “degeneração retiniana pigmentar primária”, “*retinitis pigmentosa*” e “distrofia bastonetes-cones”.^{29, 30} A RP foi definida como um grupo de alterações hereditárias que envolvem função dos fotorreceptores – primariamente dos bastonetes

e depois dos cones - e do EPR.^{1, 31} Posteriormente irá haver afetação das camadas de fibras nervosas e consequente atenuação dos vasos sanguíneos por diminuição do fluxo.³¹ A análise molecular já demonstrou 25 genes específicos (e 1 locus adicional) associados à forma autossômica dominante, 55 genes (e 3 locus adicionais) associados à forma autossômica recessiva isolada, 3 genes (e 3 locus adicionais) na forma ligada ao X e 1 gene para a forma digénica.²⁹ Foram também encontrados 20 genes (e 4 locus adicionais) associados ao síndrome de Usher.²⁹

Pode apresentar-se isoladamente (forma típica) ou em associação com patologias sistémicas (RP síndrómica). A perda dos fotorreceptores leva a sintomas como a nictalopia, perda do campo visual da periferia para o centro, perda da visão central, discromatopsia e fotopsias.^{29, 30} O aspeto fundoscópico clássico inclui a atenuação dos vasos retinianos, aspeto granulado e mosqueado do EPR, pigmentação intrarretiniana por espículas ósseas e palidez papilar. Geralmente a apresentação é simétrica e reflete-se nos meios complementares de diagnóstico.^{29, 32-35} Alguns doentes apresentam-se sem as características clássicas – RP sine pigmento, setorial ou com outra patologia retiniana concomitante (ex. alta miopia) ou unilateral.²⁹ As complicações do segmento posterior mais frequentes são o edema macular cistóide, buraco macular, membrana epirretiniana e sinerése vítrea.³⁶ No segmento anterior, observa-se um aumento da prevalência de catarata, sendo subcapsular posterior em 35-51% casos.^{29, 37} O queratocone e o glaucoma são anomalias oculares que podem estar mais presentes nos doentes com RP.²⁹

O aspeto clássico do SD-OCT apresenta uma redução generalizada da espessura retiniana podendo estar presentes outras alterações como edema macular cistóide^{38, 39}, MER ou fibrose pré-retiniana. Nos estádios avançados, podem observar-se lesões maculares atróficas e a presença de tubulações da retina externa (ORT, do inglês *Outer Retinal Tubulations*).^{29, 40, 41} A espessura da coroide através do método EDI, aparentemente não se correlaciona com a melhor acuidade visual corrigida (MAVC) apesar desta se mostrar diminuída em doentes com RP.²⁰ Outros meios complementares de diagnóstico que são frequentemente utilizados na avaliação

destes doentes são a perimetria, o estudo eletrofisiológico e a autofluorescência.^{29, 42} Battu et al e Lupo et al encontraram correlação entre as alterações da espessura retiniana e da retina externa no SD-OCT com as alterações de sensibilidade na microperimetria.²⁴ Aizawa et al encontrou uma correlação independente entre a banda previamente denominada como IS/OS (atualmente denominada ZE) e a MAVC e a espessura central foveal.²³ A MAVC correlacionou-se positivamente com a espessura da camada de células ganglionares e camada de fibras nervosas da retina e peripapilares.^{36, 43, 44}

Relativamente à classificação da doença, não existe uma classificação consensual, existindo várias formas de classificação tendo em conta as diferentes manifestações: hereditariedade, idade de início, defeito molecular, fenótipo. A evolução clínica também é variável.³⁰ O sinal histológico mais precoce é o encurtamento dos segmentos externos dos bastonetes, que se reflete na redução dos núcleos da camada nuclear externa.^{23, 29, 45, 46} Após a morte dos fotorreceptores, o EPR demarca-se da membrana de Bruch e migra para a retina neurosensorial (espículas ósseas perivasculares), pelo que o espaço subretiniano é abolido e a membrana de Bruch torna-se espessada.^{20, 29} Na retina interna as células de Müller sofrem uma gliose reativa que com o avançar do tempo levam a fibrose da restante retina.²⁹ Observa-se hiperplasia reativa dos astrócitos que contribuem para a palidez do nervo ótico e a formação de MER.²⁹ As células ganglionares sofrem dano pela isquemia da retina interna, contribuindo para a palidez do nervo ótico. Estas alterações são reproduzíveis no OCT.^{29, 36, 45}

O diagnóstico diferencial prende-se essencialmente com outras patologias hereditárias tais como as distrofias cone-bastonete, as distrofias de cone, amaurose congénita de Leber, síndrome de Bardet-Biedl ou patologias que simulam RP tais como algumas doenças inflamatórias retinianas (retinopatia da rubéola, sífilis), retinopatia autoimune paraneoplásica ou tóxicas. O acompanhamento clínico destes pacientes inclui a genotipagem e aconselhamento genético.³¹ Na maioria dos casos o tratamento é conservador de forma a prever o grau de progressão e

preparar o doente para a incapacidade visual.²⁹ Podem também ser tratadas as complicações como a catarata ou o edema macular.^{29, 47, 48} Para a RP de início precoce envolvendo o gene RPE65, existem estudos de fase 3 que confirmam a segurança e eficácia usando a terapia génica com LUXTURNTM (voretigene neparvovec, AAV2-hRPE65v2); os doentes mostram aumento da sensibilidade à luz, do campo visual e da capacidade de orientação em condições de baixa luminosidade.^{31, 49} Para a RP em estadio terminal, existe a opção de próteses retinianas como a Argus II *Retinal Prosthesis* ou Alpha-IMS, aprovada para indivíduos com ≥ 25 anos com MAVC de percepção luminosa ou sem percepção luminosa.⁵⁰

Em resumo, a RP é uma patologia de afetação primária ao nível dos fotorrecetores que, com a sua morte, leva à demarcação e migração de células do EPR e a gliose, hiperplasia e isquemia ao nível da retina interna, com consequências nefastas ao nível da função visual.

RETINOPATIA SEROSA CENTRAL

A Retinopatia Serosa Central (RCS) é um síndrome idiopático frequente que afeta mais frequentemente homens entre os 39 e os 51 anos e caracterizada por descolamento seroso da retina neurosensorial.^{8, 51} Existem descrições da doença desde 1866, mas foi Gass em 1967 que descreveu a patogenia atualmente conhecida.⁵¹ A patogénese é complexa e multifatorial, no entanto parece estar relacionada com as áreas de exsudação focal e multifocal secundárias à hiperpermeabilidade dos vasos coroídeos.^{8, 51-53} A hiperpermeabilidade pode ser devida a estase, isquemia ou fenómenos inflamatórios, sendo evidente pela impregnação da porção interna da coroide nos tempos intermédios da angiografia com verde de fluoresceína (ICGA) ou pelo espessamento da coroide no OCT.^{51, 53}

Classicamente é classificada na forma aguda ou crónica. A sua distinção depende da duração da doença ou da presença de alterações no EPR.⁵¹ A forma aguda geralmente resolve em 3-4 meses, sem consequências graves na função visual, alguns com alterações ligeiras da visão cromática. A forma crónica, foi inicialmente descrita por Yannuzzi et al em 1992 como “epiteliopatia difusa

retiniana”, e caracteriza-se por focos difusos de atrofia do EPR com diminuição da autofluorescência com ou sem fluido subretiniano (FSR).⁵¹ Pode também observar-se o desenvolvimento de neovascularização coroideia (NVC), descolamentos do EPR (DEP) irregulares e cavidades cistóides estruturais, principalmente quando a duração da doença é superior a 5 anos.⁵¹

Existem fatores de risco reconhecidos como a personalidade do tipo A ou narcisista, medicação antipsicótica, stress ou depressão.^{51, 52} O uso de corticoides em indivíduos predispostos está associada a uma apresentação atípica com menor frequência do sexo masculino e atingimento bilateral.⁵¹ O aumento do cortisol endógeno como na síndrome de Cushing ou na gravidez aumentam o risco de RSC.⁵¹ Outros fatores de risco presumíveis incluem hipertensão arterial (HTA), apneia obstrutiva de sono, anomalias da coagulação e antiagregação plaquetária, refluxo gastroesofágico (RGE) e infeção por *H. Pylori*, tabagismo, consumo de antihistaminicos, álcool, patologia respiratória alérgica, inibidores de MEK (do inglês *mitogen-activated protein kinase*) utilizados no carcinoma metastático e inibidores de fosfodiesterase-5. Não está claro um padrão de hereditariedade, no entanto o espessamento da coroide sugerindo a presença de paquicoroide está presente em 50% dos indivíduos.⁵¹ Alguns destes fatores, como a HTA e o RGE, foram identificados como preditores de pior MAVC após o tratamento.⁵⁴

A sintomatologia inclui alteração da visão central, hipermetropização, metamorfopsia, escotoma central e diminuição da visão de contraste.^{8, 51, 52} Geralmente é autolimitada e pode ser recorrente no mesmo lado ou do adelfo.⁸ É na maioria das vezes uma patologia aguda, mas quando o descolamento macular é prolongado pode levar a degeneração do EPR subfoveal e da retina neurosensorial com prognóstico visual reservado.⁸ O OCT levou a uma maior compreensão da patogénese, principalmente através do método EDI, onde se pensa estar relacionado com a disrupção da circulação coroideia com descompensação do EPR com subsequente passagem de fluido para o espaço subretiniano.^{8, 51}

A forma crónica é geralmente bilateral, e cursa frequentemente com FSR refratário ou recorrente. Por vezes podem apresentar-se com uma localização extrafoveal. A recorrência ou permanência do FSR podem levar a alterações morfológicas e fisiológicas irreversíveis da retina. Tipicamente ocorrem alterações atroficas e disrupções do EPR e FSR variável. A FA é caracterizada por exsudação difusa do EPR.⁸ Outras características de cronicidade incluem o atingimento em doentes com mais de 50 anos, bilateralidade, com maior prevalência do sexo feminino e maior risco de desenvolvimento de NVC.⁵¹

O OCT é útil no diagnóstico e seguimento pois consegue identificar a presença e extensão de FSR e dos DEP.⁸ As alterações morfológicas da citoarquitetura retiniana também estão patentes.⁵¹ As características da forma crónica incluem o desenvolvimento de atrofia e/ou fibrose subfoveal, diminuição da espessura retiniana (pela diminuição da CNE)^{8, 55-59}, alterações cistoides degenerativas^{8, 51} e aumento da espessura corioideia (EC).^{8, 59} Podem observar-se depósitos amarelados subretinianos como material altamente refletivo causado pelos segmentos externos dos fotorreceptores fagocitados.^{8, 51} Quando existe FSR, as alterações morfológicas incluem o alongamento dos segmentos externos dos fotorreceptores. A superfície externa da retina mostra um perfil de desgranulação correlacionado com a acumulação de fragmentos dos segmentos externos da retina neurosensorial.^{8, 55-57} O conteúdo hiperrefletivo sobre a membrana de Bruch traduz-se pelo sinal da “dupla camada”.⁵¹ O prognóstico visual pode estar relacionado com as alterações morfológicas nas camadas externas da retina observadas no OCT.⁸ Matsumoto et al correlacionou o prognóstico visual com a preservação da espessura da CNE e a continuidade de IS/OS (ZE): a espessura da CNE correlaciona-se positivamente com a MAVC, sendo que a descontinuidade da ZE foi mais prevalente em doentes com CNE fina e baixa MAVC.^{60, 61} Outros autores também consideraram uma maior MAVC com a integridade da ZE e/ou da CNE.^{57, 62, 63}

Outros meios complementares de diagnóstico utilizados incluem a autofluorescência, FA, ICGA, eletrorretinografia multifocal e microperimetria.⁵¹ O diagnóstico diferencial inclui a DMI,

vasculopatia polipoide da coroide, fosseta ótica, doenças inflamatórias ou infecciosas da coroide, doenças vasculares, autoimunes ou tumores intraoculares.

O tratamento inclui a utilização de terapia fotodinâmica (PDT, do inglês *PhotoDynamic Therapy*)⁵¹ e mais recentemente introduziu-se a utilização dos antagonistas dos mineralocorticóides com resultados pouco conclusivos.⁵⁴ Outras opções de tratamento que têm sido utilizadas com resultados variáveis incluem as injeções intravítreas de antiangiogénicos (anti-VEGF) e o laser micropulsado (LMP).^{51, 53, 64} Outros tratamentos têm também sido utilizados, sem evidência científica do seu benefício.^{51, 64}

A PDT é ainda o tratamento *gold-standard* para o tratamento da RCS.⁵¹ O mecanismo de ação da PDT na RCS leva ao estreitamento da coriocapilar, hipoperfusão coroideia e remodelação vascular da coroide com consequente diminuição da exsudação.^{51, 65, 66} O tratamento PDT convencional, que inicialmente foi utilizado para tratar neovascularizações coroideias, é realizado utilizando uma dose de 6 mg/m², administrado durante 10 minutos, seguido do tratamento com o laser com uma intensidade de 600 mW/cm² e fotossensibilização durante 83 s com um spot num diâmetro 1000 µm superior ao diâmetro da lesão. No entanto, os efeitos adversos como a possível perda de visão, isquemia coroideia, atrofia do EPR e risco de desenvolvimento de NVC restringiram esta forma de tratamento. Assim foram iniciadas outras alternativas de tratamento como o tratamento com dose reduzida (HD-PDT) e com baixa fluência (HF-PDT). O HD-PDT baseia-se no excesso de concentração de verteporfina verificada na circulação coroideia e nos segmentos externos da retina após 10 minutos de infusão com a terapêutica convencional. Assim, iniciou-se a realização da terapêutica com 3 mg/ m² durante 10 minutos, seguido da aplicação do laser de 689 nm com uma energia total de 50 J/cm² durante 83 s. A taxa de sucesso revelou-se entre 79.5% e 94.9% com manutenção até 12 meses após o tratamento.⁵¹ A evolução da MAVC é também positiva.^{53, 62} Os melhores resultados estão associados à ausência de DEP, duração da patologia inferior a 6 meses e idade inferior a 45 anos. O HF-PDT utiliza uma dose de 6 mg/ m², mas metade

da energia total - 25 J/cm² - durante 83 s. Os resultados são também benéficos com menores efeitos adversos.^{51, 63, 67}

O tratamento com LMP é uma alternativa recente no tratamento da RCS.⁵⁴ Teoricamente atua destruindo seletivamente os melanossomas do EPR em pulsos de microssegundos ou nanossegundos.^{64, 68} Os fotorreceptores e a membrana de Bruch são poupados com este tratamento e as células do EPR em redor da área lesada migram para a área submetida a laser de modo a preencher a zona danificada.⁶⁸ Pensa-se que este processo poderá melhorar os complexos juncionais e a função de bombeamento no EPR e ativa a matriz da enzima metaloproteinase da membrana de Bruch.⁶⁸ A ação térmica do laser funciona acima do limiar de tratamento e abaixo do limiar de dano.⁶⁸ As potenciais vantagens deste tratamento são: 1) utilização de um *spot* de alta densidade de modo a intensificar a resposta terapêutica; 2) capacidade de tratamento na área foveal; 3) possibilidade de retratamento; 4) preservação ou melhoria da visão cromática e sensibilidade ao contraste;⁶⁸ 5) disponibilidade permanente do equipamento. A metodologia e resultados publicados do LMP são muito heterogêneos^{53, 68} — alguns são retrospectivos e outros prospetivos, envolvem o comprimento de onda de 577, 689 ou 810 nm, tamanho do *spot* variável, *duty-cycle* entre 5 e 15%, potência entre 30-50% e também são utilizados na forma aguda ou crónica da RCS.^{68, 69} Os parâmetros mais amplamente utilizados são a análise da MAVC, a espessura central média da fóvea (ECM) e o FSR.^{68, 70} Os resultados são geralmente modestos, com manutenção ou melhoria de 2-3 linhas da MAVC e uma diminuição da ECM de cerca de 70-90 µm às 4 semanas de tratamento.^{68, 69, 71-73} A maior desvantagem é o possibilidade de tratamento ineficaz, no entanto não se verificaram danos retinianos na maioria dos dados publicados.^{68, 69, 72} O estudo PLACE *trial* comparou o tratamento de LMP com HD-PDT, demonstrando resultados superiores e mais rápidos no tratamento *gold-standard*.⁷⁴ Outros estudos comparativos mostraram resultados semelhantes.^{71, 74-77} A utilização do comprimento de onda com 532 nm tem apenas um artigo publicado na RCS aguda.⁷⁸

A RCS é uma patologia com patogenia complexa, em que o mecanismo de hiperpermeabilidade dos vasos coroideus e a ruptura do EPR leva a passagem de FSR com consequências que podem levar a danos permanentes da função visual.

MEMBRANA EPIRETINIANA

A membrana epirretiniana (MER) é também denominada por fibroplasia premacular, *pucker* macular, maculopatia em celofane e gliose premacular.^{79, 80} Geralmente ocorre após o descolamento parcial ou total da hialoide posterior, com aparecimento de uma membrana fibrocelular translúcida na superfície interna da retina.⁸¹ A hialoide posterior anômala leva à separação da lamela cortical vítrea podendo deixar uma membrana celular residual sobre a superfície da retina que prolifera e contrai, resultando na MER. Estas alterações levam a vários graus de distorção, edema intrarretiniano e degeneração da retina subjacente.⁸¹ As MER são compostas maioritariamente por células da retina glial acessória, astrócitos fibrosos e células de Müller.⁸² Estes componentes são provavelmente secundários à migração da retina neurosensorial através de pequenos defeitos da MLI ou da esquisis vítrea com proliferação das células gliais e dos hialócitos, ou à transdução de sinais de diferentes moléculas com diferenciação de células gliais em fibroblastos.⁸²

Ocorre em cerca de 6% da população acima dos 60 anos e a incidência aumenta com a idade.^{8, 79, 80, 83} Os estudos de Beaver Dam Eye Study e o Blue Mountains Eye Study demonstraram uma prevalência de 7-11.8% com uma incidência aos 5 anos de 5.3%.^{79, 80, 83-86} São bilaterais em 19.5-31% com uma incidência aos 5 anos do olho adelfo de 13.4%.^{79, 83-85} São mais frequentes no sexo feminino e classificadas em primárias ou idiopáticas e secundárias.^{8, 79, 83} Pensa-se que as idiopáticas são o resultado da proliferação fibroglial da superfície interna da retina, resultante da quebra da membrana limitante interna decorrente do descolamento posterior do vítreo, presente em 60-90%.^{8, 79} As secundárias resultam da coexistência de patologias oculares como a oclusão venosa retiniana, retinopatia diabética, uveíte e rasgaduras retinianas.^{8, 80}

Histologicamente são compostas por células gliais, células do EPR e miofibroblastos.^{8, 80, 86} Nas MER idiopáticas, os laminócitos são as células com maior representação.^{80, 86}

Podem ser assintomáticas ou associar-se a metamorfopsias e perda de visão central.^{79, 80} A perda da visão central ocorre principalmente devido ao envolvimento da fóvea por distorção das camadas da retina, espessamento retiniano e alterações cistóides intrarretinianas.^{79, 87} Apesar do processo patológico primário ocorrer ao nível da retina interna, quando ocorrem sintomas visuais o OCT demonstra frequentemente alterações nas bandas da retina externa.

Pode também haver diminuição da sensibilidade ao contraste e da estereopsia.^{79, 80} A progressão é variável mas geralmente é lenta (podendo também deixar de progredir), com um aumento de 25% da área de atingimento em 28.6% dos doentes aos 5 anos.^{79, 80, 85} Na fundoscopia observa-se um *glistening* macular na superfície retiniana. Gass classificou-as em 3 graus de acordo com o aspeto fundoscópico e a sintomatologia associada.^{79, 86} As MER mais densas podem assemelhar-se a uma folha acinzentada na superfície retiniana com distorção da arquitetura vascular.⁸ Dada a força tangencial, pode associar-se a pseudoburacos, buracos lamelares ou maculares completos.⁷⁹

A FA mostra uma exsudação macular variável, sendo útil na suspeita de alguma patologia retiniana concomitante.^{79, 80} O OCT fornece uma imagem quantitativa e qualitativa da anatomia macular, tendo sido útil no conhecimento do comportamento desta doença.^{8, 79} A MER apresenta-se como uma imagem hiperrefletiva na superfície retiniana.^{8, 79} Secundariamente existe perda da depressão foveal, aumento da espessura retiniana e a presença de alterações cistóides.^{8, 79, 80} Nas MER idiopáticas a adesão vitreomacular é mais difusa e nas MER secundárias é mais focal.⁷⁹ O SD-OCT permitiu demonstrar o espessamento da retina externa, aumento da espessura foveal central, disrupção de IS/OS e da zona COST.^{25, 79, 88-93} A autofluorescência foi também utilizada para avaliar o valor preditivo na cirurgia de MER.⁹⁴

O tratamento é cirúrgico através de vitretomia via pars plana (VPP) baseado na MAVC e na presença de metamorfopsias e/ou diplopia.^{79, 80} Com uma evolução habitualmente indolente, a decisão cirúrgica é multifatorial e deve ser bem ponderada. É controversa a VPP com pelagem da MER associada ou não à pelagem da membrana limitante interna.⁹⁵⁻⁹⁸ A melhoria da visão em 1 a 2 linhas está descrita em 60-85% aos 6-12 meses, em que 44-55% atinge um resultado igual ou superior a 20/50.^{79, 80, 99-102} Relativamente às camadas da retina, está descrita a diminuição da ECM e da retina interna e melhoria da retina externa.^{88, 103-106}

Apesar da melhoria ser superior quando a AV é mais baixa, uma melhor MAVC está associada a uma maior MAVC final.^{79, 107} Outros fatores de melhor prognóstico descritos são a integridade de IS/OS, grau de metamorfopsia, integridade de COST e alterações na autofluorescência.^{25, 79, 80, 91, 99, 101, 103, 108-111} Recentemente, Zur et al. descreveu a importância da desorganização da retina interna (DRIL) como um biomarcador importante para a cirurgia de MER.¹¹²

Sendo a MER uma patologia da interface retiniana com o aparecimento de uma membrana fibrocelular translúcida na superfície da retina, a distorção pode envolver todas as camadas da retina, desde a interna até à externa. Os graus de atingimento das bandas da retina externa têm uma grande importância no resultado visual final.

Tendo em conta que os processos fisiopatológicos destas três doenças são muito diferentes, é importante percebermos como as bandas da retina externa são afetadas e podem ter um papel prognóstico nas três patologias.

OBJETIVOS

São diversas as questões relacionadas com os aspetos morfológicos do OCT e como estas permitem avaliar o prognóstico visual nas diferentes patologias retinianas. A proposta deste projeto baseou-se no sentido de ajudar a elucidar algumas delas. Assim, o objetivo é utilizar o OCT para compreender como diferentes patologias maculares afetam as bandas mais externas da retina e qual a implicação dessas alterações na função visual e no prognóstico dos doentes. Pretende-se compreender como diferentes processos fisiopatológicos afetam zonas estruturais distintas da região macular nomeadamente as bandas da retina externa que são as representações anatómicas da estrutura dos fotorreceptores. As patologias alvo de investigação – RP, RCS e MER – possuem mecanismos fisiopatológicos, história natural, clínica e tratamentos diversos. Como descrito anteriormente, a MER é uma patologia da retina interna em que forças tracionais distorcem a retina; a RP é uma doença degenerativa dos fotorreceptores; a RCS é uma doença do complexo EPR, coriocapilar e coróide. Por outro lado, sendo o OCT uma das ferramentas mais utilizadas atualmente no circuito regular da consulta de oftalmologia, faz sentido poder estudar as vantagens no benefício dos tratamentos e seguimento dos doentes.

1. Avaliar o OCT como ferramenta prognóstica na RP.
 - a. Avaliação das bandas externas da retina como fator de prognóstico na acuidade visual nos doentes com RP.
 - b. Avaliar a simetria na afetação das bandas externas da retina nos doentes com RP.
2. Avaliar o OCT como ferramenta prognóstica na RCS.
 - a. Avaliação das bandas externas da retina como fator de prognóstico na resposta anatómica após tratamento com HD-PDT.
 - b. O tratamento com LMP com 532 nm.
3. Avaliar o OCT como ferramenta prognóstica nos doentes com MER.
 - a. Avaliação das bandas externas da retina como fator de prognóstico nos doentes submetidos a VPP por MER.

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do Hospital de Braga (CESHB). Todos os trabalhos foram realizados de acordo com a Declaração de Helsínquia (com as emendas de Tóquio 1975, Veneza 1983, Hong-Kong 1989, Somerset West 1996, Edimburgo 2000, Washington 2002, Tóquio 2004 e Seul 2008), da Diretiva 95/46/EC do Parlamento Europeu e do Conselho, das Diretrizes Sobre as Boas Práticas Clínicas da EMEA – Agência Europeia do Medicamento (Londres 2000), das Diretrizes Éticas Internacionais para a Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Organização Mundial de Saúde (Genebra 2002), das Diretrizes Éticas Internacionais para os Estudos Epidemiológicos do Conselho de Organizações Internacionais de Ciências Médicas (Genebra 2009) e da Resolução da Assembleia da República n.º1/2001. Foi também preservado o anonimato dos participantes e a inexistência de quaisquer conflitos de interesse durante toda a elaboração do projeto, já que todos os trabalhos realizados foram de natureza retrospectivos. – anexo I.

PUBLICAÇÕES

OUTER RETINAL LAYERS AS PREDICTORS OF
VISUAL ACUITY IN RETINITIS PIGMENTOSA: A CROSS-
SECTIONAL STUDY



Outer retinal layers as predictors of visual acuity in retinitis pigmentosa: a cross-sectional study

Keissy Sousa^{1,2} · Tiago Fernandes¹ · Rita Gentil¹ · Luís Mendonça¹ · Manuel Falcão^{2,3} Received: 21 August 2018 / Revised: 29 October 2018 / Accepted: 9 November 2018
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

Abstract

Purpose To evaluate the integrity of the outer retinal layers—outer nuclear layer (ONL), external limiting membrane (ELM), ellipsoid (EZ), and interdigitation band (IZ)—using spectral-domain optical coherence tomography and estimate their effect on visual acuity in retinitis pigmentosa (RP).**Methods** A cross-sectional study was performed in the Ophthalmology Department of Hospital de Braga, Portugal. Patients with RP followed in the Hospital de Braga during January to August 2017 were included. Exclusion criteria were lack of data, macular edema due to RP, and concomitant retinal, optic nerve, or corneal disease that could interfere with visual acuity. Age, sex, time from diagnosis, phakic status, ONL thickness, and presence or absence of foveal ELM, EZ, and IZ were correlated to the best-corrected visual acuity (BCVA).**Results** Forty-eight eyes were analyzed. There was a strong and positive correlation in BCVA between both eyes ($p < .001^*$). ONL thickness was decreased in 95.8%. The EZ was the most absent layer (79.2%), followed by IZ (70.8%) and ELM (45.8%). A positive family history ($p = .04^*$) and increased time from diagnosis ($p = .037^*$) correlated with worse BCVA. A thicker ONL ($p = .001^*$) and the presence of subfoveal ELM ($p < .001^*$), EZ ($p < .001^*$), and IZ ($p = .02^*$) are correlated with better BCVA. There was a strong and positive correlation between the number of layers affected and a lower BCVA ($p < .001$). The presence of EZ was a significant predictor of BCVA ($p = .02^*$).**Conclusions** The status of the outer retinal layers seems to influence BCVA. The status of the EZ was the most important predictor of BCVA but the ONL, ELM, and IZ may have a cumulative effect in the progression of visual loss.**Keywords** Retinitis pigmentosa · SD-OCT · Outer nuclear layer · External limiting membrane · Ellipsoid band · Interdigitation band

Introduction

Retinitis pigmentosa (RP) refers to a wide and heterogeneous group of inherited retinal diseases, being one of the causes of acquired irreversible blindness in developed countries [1–4].

This family of diseases is characterized by progressive degeneration of the retinal pigment epithelium (RPE), apoptosis of the photoreceptors, attenuation of the retinal vessels, sclerosis, and atrophy of the choriocapillaris [5–9]. These alterations are responsible for the early onset of nyctalopia, progressive

✉ Manuel Falcão
falcao@med.up.pt
Keissy Sousa
keissy.sousa@gmail.com
Tiago Fernandes
tiagofilip@gmail.com
Rita Gentil
ritag gentil@gmail.com

Luís Mendonça
luismendonc@gmail.com

¹ Ophthalmology Department Hospital de Braga, R. das Sete Fontes, Braga, Portugal

² Faculdade de Medicina Universidade do Porto, Alameda Prof. Hernâni Monteiro, 4200-319 Porto, Portugal

³ Ophthalmology Department Centro Hospitalar S. João, Alameda Prof. Hernâni Monteiro, 4200-319 Porto, Portugal

peripheral visual field loss, and gradual deterioration of central visual acuity that characterize RP [10]. Although the diagnosis of RP can be made based on clinical presentation, different ancillary tests such as visual fields, wide-field autofluorescence, electroretinography, and genetic investigation have been used to document the clinical evolution of this condition [2, 4, 10].

Spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) is a non-invasive tool, sensitive and indispensable for observing the microstructures of the outer retinal layers [8, 11, 12]. On macular SD-OCT, RP is characterized by alterations of the photoreceptors inner/outer segment (IS/OS) junction and the external limiting membrane (ELM) [4]. Using time-domain OCT, the length or the presence of the ellipsoid band (EZ) (previously known as the IS/OS line) was significantly correlated with visual acuity in RP [13, 14]. The outer nuclear layer (ONL) contains the photoreceptor cell bodies, which because of their direct relationship to visual function are a critical biomarker of macular diseases [15]. Menghini et al. correlated the diminished ONL thickness and low cone density in RP. However, only 12 eyes with RP were included and the ONL measurements were perifoveal [16]. Matsuo et al. described an association with a poor visual outcome when the surface of nerve fiber layer, the inner plexiform layer, and the outer plexiform layer were affected in the disease process. However, these authors did not address how the changes in the different outer retinal layers may affect the visual function in this disease. It is known for several macular diseases that the status of the outer retinal layers may have a strong correlation with visual acuity [8]. Even though the defects of the outer retinal layers can be identified on SD-OCT (outer nuclear layer (ONL), external limiting membrane (ELM), ellipsoid (EZ), and interdigitation bands (IZ)), their relationship to visual acuity still needs to be further evaluated in RP. The main objectives of this study are to evaluate the changes of the outer retinal layers in RP and to investigate its potential repercussions on visual acuity.

Methods

This cross-sectional study was conducted at the Ophthalmology Department of Hospital de Braga, Portugal, and was approved by the institutional review committee and adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki. An anonymized extraction of medical records and SD-OCT of patients with retinitis pigmentosa who presented between January and August 2017 were evaluated. All participants underwent a comprehensive non-invasive eye exam performed at the Ophthalmology Department of Hospital de Braga. Date of diagnosis, familiar RP affection, age, and gender were registered. Examination included best-corrected visual acuity (BCVA) using decimal scale charts that was later

converted to the logarithm of the minimum angle of resolution (logMAR), slit-lamp biomicroscopy, and a dilated fundus examination. The diagnosis of RP was made clinically from funduscopy examination. All patients performed funduscopy examination, retinography, and SD-OCT. Inclusion criteria included a diagnosis of RP and clear media to allow for optimal OCT examination. This included pseudophakic patients as many patients with RP develop early posterior subcapsular cataract and had been submitted to cataract surgery [17]. Patients with macular edema associated with the RP were excluded. Other exclusion criteria included patients with cataract, vitreous opacities, poor image quality or any other retinal, and optic nerve or cornea pathology as lack of data to continue the study.

Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) was used to measure retinal thickness and evaluate the outer retinal bands. The technique consisted in obtaining a macular square ($20 \times 20^\circ$), centered on the fovea, composed of 25 horizontal and vertical B-scans, and spaced at 240 μm . Two high-quality, horizontal and vertical line scans centered on the fovea were obtained for each eye. The presumed foveal center was determined as the area lacking the inner retinal layers in the macular region. If any disruption of any nature of the subfoveal ELM, EZ, and IZ was observed, the external retinal layer affected was classified as absent while a complete integrity was considered as present. The ONL thickness was measured manually on the most hyporeflective external layer at the central fovea. It was considered normal if its foveal thickness was $82.5 \pm 11.1 \mu\text{m}$ [18] and abnormal if thinner. Two of the authors (KS and TF), who were unaware of the patients' clinical information, performed all of the measurements. When the two readers had different interpretations, a discussion was carried out to reach a conclusion and the senior author (MF) also gave his interpretation, if necessary.

Data was gathered in MO Excel and exported to IBM SPSS Statistics (v.24) for statistical analysis purposes. Visual acuity was converted to the logarithm of minimum angle of resolution (logMAR) units for statistical analyses [19]. Hand movement, light perception, and no light perception were classified as +2, +3 and +4, respectively [20–22]; tables and figures were used to summarize data as appropriate. Observational agreement was evaluated by kappa test. Non-parametric data was applied due to a non-normal distribution, after Shapiro-Wilk's test ($p < 0.05$). Mean, median, and standard deviation were applied to continuous data. Spearman's correlation evaluated the independent association between BCVA and the considered retinal bands or individual features such as familiar affection, time from diagnosis, and pseudophakia. A multiple linear correlation was used to analyze the predictors of BCVA and the cumulative effect of previous considered factors. A p value of less than 0.05 was considered statistically significant.

Results

Forty-eight eyes of 24 patients were analyzed. Demographic characteristics are shown in Table 1. A moderate to very good agreement (κ value > 0.41) was found in all analyzed layers between both observers. For presentation purposes, only the left eye will be acknowledged. The BCVA in either eye of the patients was very similar with a strong and positive correlation between both eyes: $r_s(22) = .95$, $p < .001^*$.

The correlation between BCVA was tested with the following variables: time from diagnosis, family history, pseudophakia, ELM, EZ, IZ status, and ONL. As the time from diagnosis increased, the BCVA decreased ($r_s(20) = 0.45$, $p = .04^*$). A positive family history is correlated with worse BCVA ($r_s(19) = .44$, $p = .048^*$). All OCT layers evaluated had a correlation with BCVA. The greater the ONL, the better the BCVA ($r_s(22) = -.63$, $p = .001^*$). The presence of subfoveal ELM ($r_s(24) = -.78$, $p < .001^*$), EZ ($r_s(22) = -.72$, $p < .001^*$), and IZ ($r_s(22) = -.48$, $p = .02^*$) was also correlated with better visual acuity (Fig. 1).

The number of layers affected was also associated with BCVA. There was a significant difference when three layers are affected versus no affected layers ($p = .003$) (Fig. 2). There was a strong positive correlation between the number of layers affected and a lower BCVA ($r_s(22) = .81$, $p < .001$). Figure 3 shows an SD-OCT example between a patient with low and higher BCVA and the difference between the affected layers.

Multivariate logistic regression with all variables analyzed was used to control for possible confounders. It was found that the studied variables contributed to 76%, $\text{adj } r^2 = .64$ ($F(6,12) = 6.31$, $p = .003$) of the BCVA variation. The single EZ presence leads to a BCVA change of $-.37$ (95% CI -2.25 to -0.198 , $p = .02^*$) logMAR. Likewise, the BCVA variation was not correlated with other of aforementioned variables (Table 2).

Discussion

The aim of this study was to use SD-OCT to characterize changes in the outer retinal layers of RP patients and correlate them with visual acuity. As a first step to this goal, we aimed to identify with SD-OCT the layers of the outer retina that are structurally affected in eyes with retinitis pigmentosa. The ONL is thinner than normal in most of our patients (23/24 eyes). Sandberg et al. associated the thinning of ONL to X-linked RP (XLRP) [23]. We did not perform genetic studies on our patients, but it is possible that this thinning of the ONL is present in most forms of RP. The EZ was discontinued in 79.2%, followed by IZ in 70.8% and finally ELM in 45.8% showing that all external retinal layers are affected by the disease. Higher visual acuities were correlated with a preserved structure of the outer retinal layers [8, 24–26]. As a

Table 1 Demographic characteristics of each patient regarding the OS

Background data	
Sex (male)	58.3% ($n = 14$)
Mean age ($\pm$ SD)	52 (± 18.1)
Mean time from diagnosis	18.7 (± 17.7)
Positive family history	75% ($n = 18$)
Pseudophakia OS	50% ($n = 12$)
ELM absence	45.8% ($n = 11$)
EZ absence	79.2% ($n = 19$)
IZ absence	70.8% ($n = 17$)
Mean subfoveal ONL (μm)	31.6 (± 20.7)

ELM, external limiting membrane; EZ, ellipsoid band; IZ, interdigitation band; ONL, outer nuclear layer; OS, left eye; SD, standard deviation. These were classified as absent (–) or present (+)

bilateral disease, we found positive correlation between both eyes, in accordance with Matsuo et al. [8]. This was true both for visual function and for anatomic characteristics. As a genetic and progressive disease, time from diagnosis and a positive familiar affection is relevant for the visual function as patients with faster retinal degeneration probably having a diagnosis at an earlier age than patients with the slower variants of the disease. Both these variables correlated with a lower visual acuity, but this has been described extensively [5, 8, 27–31]. Pseudophakia is not correlated with visual acuity, which suggests that cataract surgery does not affect the natural history of the disease and the presence of an intraocular lens is not probably affecting progression of the disease and visual acuity. It is also known that cataract surgery improves visual acuity in RP patients with cataracts [17, 32].

The association between visual acuity and central retinal thickness was studied by Sandberg et al. and they concluded that both retinal thinning (due to cell loss) and retinal thickening (due to presumed edema) appear to be associated with lower visual acuity in patients with RP [9]. However, this could be misleading, as there may be patients with a normal retinal thickness that have had previous edema whose retina has not yet become atrophic and who may have a poor visual acuity. For all of these reasons, in our data, macular edema was an exclusion criterion.

As RP is mostly a disease of the outer retina, we focused our study in this area. The individual evaluation of the different SD-OCT layers of the outer retina (ONL, ELM, EZ, and IZ) brings new light into the subject. The univariate analysis showed a statistically significant correlation between a better visual acuity and the presence of each of the individual bands; however, only the EZ maintained statistical significance in a multivariate analysis. This is in agreement with other retinal diseases such as retinal detachment recovery after surgery [13, 33]. Furthermore, Liu et al. found a relationship between

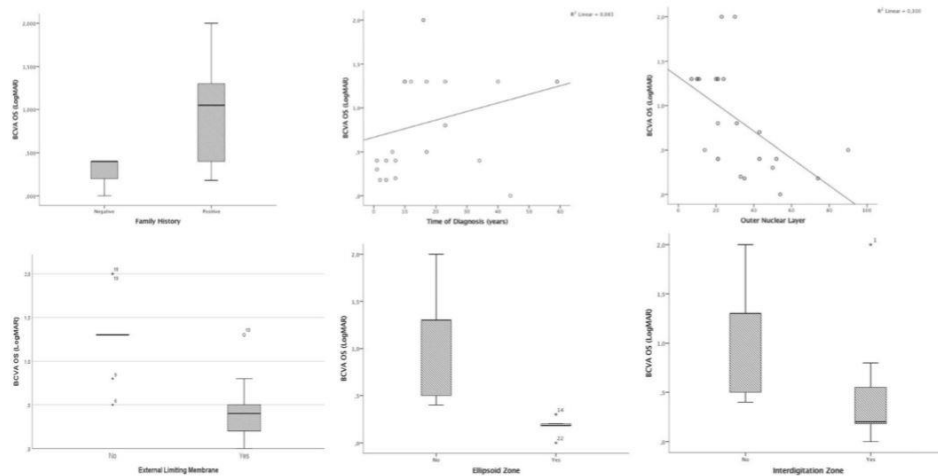


Fig. 1 Correlation between the BCVA of the left eye (OS) and studied variables (univariate analysis). *Top left*—family history: a positive family history is associated with an average worse BCVA. Boxplot shows the median and the quartiles of OS visual acuity regarding the family history. *Top middle*—time from diagnosis: there is an 8.3% correlation between the time from diagnosis and worsening of BCVA. *Top right*—outer nuclear layer: the thinner the outer nuclear layer, the worse the BCVA on a 30% correlation. *Below left*—external limiting membrane: boxplot

that shows the BCVA and the presence or absence of external limiting membrane. Its presence is correlated with better visual acuity. *Below middle*—ellipsoid zone: boxplot that shows the BCVA and the presence or absence of ellipsoid zone. The presence of ellipsoid band is connected with better visual acuity. *Below right*—interdigitation band: boxplot that shows the BCVA and the presence or absence of interdigitation band. The presence of the interdigitation band is connected with better visual acuity

ganglion cell analysis, ELM, and EZ. The ganglion cells are thinner in patients with RP compared to those of controls, and the lesser length of ELM and EZ is correlated with worse

visual acuity. The EZ length at the fovea demonstrated the strongest relationship with BCVA, which is accordant with our EZ results [27].

Fig. 2 Correlation between the number of OCT bands affected and BCVA. The more the layers affected, the worse the BCVA, which is significant ($p = .003$) between 3 layers and no layers affected. Only one patient had all four layers affected

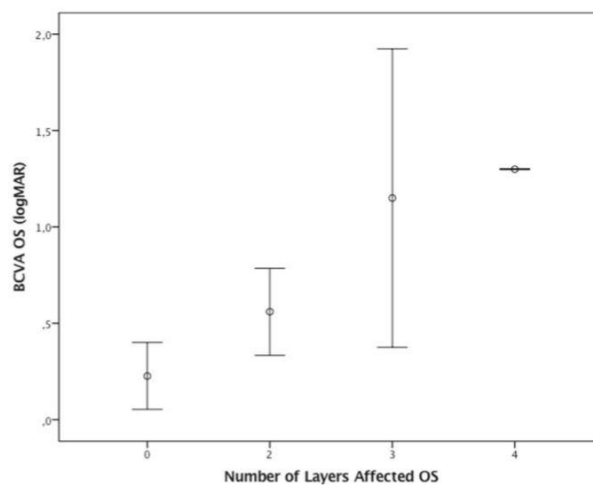
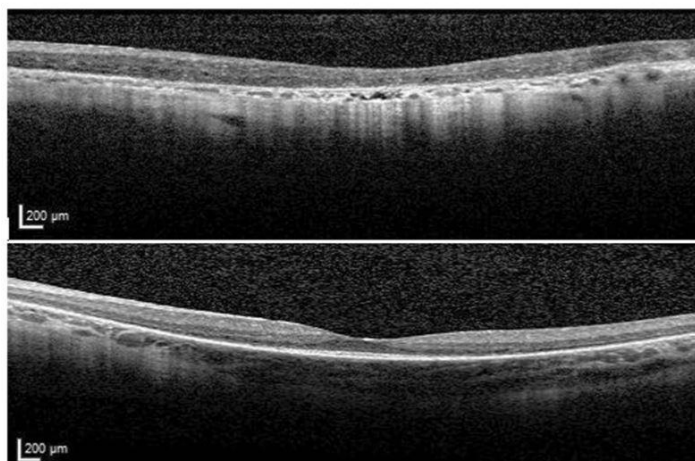


Fig. 3 *Top*—macular SD-OCT of a patient with a BCVA of +1.3 logMAR. An example of an absent ELM, EZ, and IZ.

Below—macular SD-OCT of a patient with a BCVA of +0.3 logMAR. The external retinal layers are well preserved in the foveal region. ELM, external limiting membrane; EZ, ellipsoid zone; IZ, interdigitation zone



Our study shows that the loss of layers of the outer retina interferes significantly with visual acuity. The more bands that are absent, the greater the visual acuity loss, demonstrating that there could be a cumulative effect. As the retinal layers are simultaneously disturbed, visual acuity is also worse. Matsuo et al. also found a correlation between the number of retinal layers affected and visual acuity. Nevertheless, they examined different retinal layers from the ones we evaluated. They evaluated the nerve fiber layer, the inner plexiform, and the outer plexiform layer, even though the paper is not clear on how the different layers were affected [8].

We also ran a multiple linear regression for studied variables to make a prediction for visual acuity. Time from diagnosis, family history, ONL, ELM, EZ, and IZ statistically significantly predicted BCVA which can be accounted by 64% in the studied variables. This is a large size effect, according to Cohen [34] which means that outer retinal layer affection is highly correlated with BCVA loss. The EZ is the only band that has an individual statistically significant result

for this prediction in the multivariate analysis. Pathological studies about RP confirmed the EZ as the earliest histopathological change in the outer segments of photoreceptors, where the EZ is located, due to outer segment shortening, cytoplasmic densification, axonal elongation, and, ultimately, cone cell death [11, 13, 35]. We also concluded that 79.2% of patients had an absent EZ, 70.8% had an absent IZ, 45.8% had an absent ELM, and 95.8% had a thin ONL. In RP, photoreceptor outer segment loss is followed by loss of the inner segments and cell body—this seems to be in agreement with our results. However, the ONL comprises rod and cone nuclei and in RP, the rods degenerate earlier than cones [26, 36]. Robson et al. also demonstrated that a ring of high-density autofluorescence (AF) was correlated with a more severe scotopic sensitivity loss even with a preserved photoreceptor dysfunction may precede significant accumulation of lipofuscin and increased AF, even with intact but dysfunctional rods in RP patients [37].

Table 2 Coefficients of all variables included in multivariate linear regression to predict to BCVA

	Unstandardized coefficients <i>B</i> (std. error)	Standardized coefficients Beta	<i>t</i>	Sign	95% confidence interval for <i>B</i>
(Constant)	.86 (.43)		2.01	.07	-.07 to 1.79
ONL	.00 (.01)	-.003	-.01	.99	-.02 to .02
ELM	-.51 (.30)	-.42	-1.7	.12	-1.17 to .15
EZ	-1.23 (.47)	-.83	-2.6	.02*	-2.25 to -.20
IZ	.75 (.41)	.55	1.85	.09	-.14 to 1.64
Family history	.35 (.29)	.21	1.22	.25	-.28 to .97
Time from diagnosis	.003 (.006)	.08	.49	.64	-.1 to .02

ONL, outer nuclear layer; ELM, external limiting membrane; EZ, ellipsoid band; IZ, interdigitation band; *statistically significant. The ellipsoid band was the only factor that had statistical significance in predicting visual acuity in the multivariate model which predicts visual acuity in RP patients

In our study, all outer retinal bands were evaluated and show how each layer may contribute to visual acuity in RP. However, we are aware that the cross-sectional design is a limitation of our study. A prospective study in the early stages of the disease may help to understand its pathogenesis by confirming the order in which the outer retinal layers are affected. Unfortunately, the cross-sectional design of the study and the advance disease state do not allow us to draw all the conclusions.

Understanding the order and speed in which outer retinal changes occur in RP may lead to a better understanding of the disease and its different phenotypes. This could be helpful for patient counseling and prognosis without the burdens of genetic testing.

Limitations of our study include the small sample size and the cross-sectional design. Our study only evaluated the fovea, which is also a limitation. RP is characterized by rod degeneration before cone degeneration. It will be important in the future to evaluate SD-OCT changes in the more peripheral retinal and correlate them with other aspects of visual function. RP is a disease which comprises multiple genes and it would be important to include genetic tests in the future to turn these results more comprehensive. Unfortunately, we were not able to perform genetic analysis as genetic testing is still not possible in many everyday clinical practices especially outside of research protocols.

A larger prospective study is important to reproduce results and possibly identify how the different retinal layers are affected by the disease and eventually identify significant predictors of prognosis for different phenotypes of RP.

In conclusion, our data confirms the influence of the integrity of the outer retinal layers on the decrease of BCVA. The ellipsoid band seems to be the most important layer in predicting visual acuity, but the outer nuclear layer, external limiting membrane, and interdigitation zone may have a cumulative weight in the natural history of this disease.

Acknowledgements The authors acknowledge the following: Antônio Macedo (collected data); Andreia Magalhães (OCT technique supervision); Natacha Moreno, MD (collected data); Carla Ferreira, MD (collected data); Petra Gouveia, MD (writing assistance, technical editing, and proofreading); Gil Calvão-Santos, MD (proofreading and collected data); Nuno Gomes, MD (general supervision); Fernando Vaz, MD (general supervision).

Compliance with ethical standards

All procedures were in accordance with the ethical standards of the institutional, document number 132/2017, and national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. All data were performed based on anonymized data and none of the presented results can identify any patient.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Puech B, Lacy J-JD (2014) Retinitis pigmentosa and allied disorders. Springer Berlin Heidelberg, Berlin
2. Ammann F, Klein D, Franceschetti A (1965) Genetic and epidemiological investigations on pigmentary degeneration of the retina and allied disorders in Switzerland. *J Neurol Sci* 2(2):183–196
3. Haim M (2002) Epidemiology of retinitis pigmentosa in Denmark. *Acta Ophthalmol Scand Suppl* 233:1–34
4. Boughman JA, Conneally PM, Nance WE (1980) Population genetic studies of retinitis pigmentosa. *Am J Hum Genet* 32(2):223–235
5. Berson EL (1993) Retinitis pigmentosa. The Friedenwald Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34(5):1659–1676
6. Berson EL, Sandberg MA, Rosner B, Birch DG, Hanson AH (1985) Natural course of retinitis pigmentosa over a three-year interval. *Am J Ophthalmol* 99(3):240–251. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(85\)90351-4](https://doi.org/10.1016/0002-9394(85)90351-4)
7. Pagon RA (1988) Retinitis pigmentosa. *Surv Ophthalmol* 33(3):137–177
8. Matsuo T, Morimoto N (2007) Visual acuity and perimacular retinal layers detected by optical coherence tomography in patients with retinitis pigmentosa. *Br J Ophthalmol* 91(7):888–890. <https://doi.org/10.1136/bjo.2007.114538>
9. Sandberg MA, Brockhurst RJ, Gaudio AR, Berson EL (2005) The association between visual acuity and central retinal thickness in retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46(9):3349–3354. <https://doi.org/10.1167/iovs.04-1383>
10. Ogura S, Yasukawa T, Kato A, Usui H, Hirano Y, Yoshida M, Ogura Y (2014) Wide-field fundus autofluorescence imaging to evaluate retinal function in patients with retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 158(5):1093–1098
11. Spaide R, Curcio CA (2011) Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography. *Retina* 31(8):1609–1619
12. Turgut B, Demir T (2016) The new landmarks, findings and signs in optical coherence tomography. *Front Ophthalmol* 2(3):131–136
13. Mitamura Y, Mitamura-Aizawa S, Katome T, Naito T, Hagiwara A, Kumagai K, Yamamoto S (2013) Photoreceptor impairment and restoration on optical coherence tomographic image. *J Ophthalmol* 2013:518170. <https://doi.org/10.1155/2013/518170>
14. Aizawa S, Mitamura Y, Baba T, Hagiwara A, Ogata K, Yamamoto S (2009) Correlation between visual function and photoreceptor inner/outer segment junction in patients with retinitis pigmentosa. *Eye (Lond)* 23(2):304–308. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6703076>
15. Tong KK, Lujan BJ, Zhou Y, Lin MC (2016) Directional optical coherence tomography reveals reliable outer nuclear layer measurements. *Optom Vis Sci* 93(7):714–719. <https://doi.org/10.1097/OPX.0000000000000861>
16. Menghini M, Lujan BJ, Zayit-Soudry S, Duncan JL (2015) Correlation of outer nuclear layer thickness with cone density values in patients with retinitis pigmentosa and healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56(1):372–381. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-15521>
17. Gerald A Fishman RJA, Lourenço P (1985) Prevalence of posterior subcapsular lens opacities in patients with retinitis pigmentosa. *Br J Ophthalmol* 69:263–266
18. Keane PA, Liakopoulos S, Chang KT, Wang M, Dustin L, Walsh AC, Sadda SR (2008) Relationship between optical coherence tomography retinal parameters and visual acuity in neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 115(12):2206–2214
19. Holladay JT (1997) Proper method for calculating average visual acuity. *J Refract Surg* 13(4):388–391
20. Schulze-Bonsel K, Feltgen N, Burau H, Hansen L, Bach M (2006) Visual acuities “hand motion” and “counting fingers” can be

- qualified with the freiburg visual acuity test. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47(3):1236–1240
21. Chang JW, Kim JH, Kim SJ, Su YS (2014) Congenital aniridia: long-term clinical course, visual outcome and prognostic factors. *Korean J Ophthalmol* 28(6):479–485
 22. Huang Q, Chen R, Lin X, Xiang Z (2017) Efficacy of carbonic anhydrase inhibitors in management of cystoid macular edema in retinitis pigmentosa: a meta-analysis. *PLoS One* 12(10):e0186180. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186180>
 23. Sandberg MA, Rosner B, Weigel-DiFranco C, Dryja TP, Berson EL (2007) Disease course of patients with X-linked retinitis pigmentosa due to RPGR gene mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48:1298–1304
 24. Forooghian F, Stetson PF, Meyer SA, Chew EY, Wong WT, Cukras C, Meyerle CB, Ferris FL 3rd (2010) Relationship between photoreceptor outer segment length and visual acuity in diabetic macular edema. *Retina* 30(1):63–70. <https://doi.org/10.1097/IAE.0b013e3181bd2c5a>
 25. Alasil T, Keane PA, Updike JF, Dustin L, Ouyang Y, Walsh AC, Sadda SR (2010) Relationship between optical coherence tomography retinal parameters and visual acuity in diabetic macular edema. *Ophthalmology* 117(12):2379–2386. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2010.03.051>
 26. Milam AH, Li ZY, Fariss RN (1998) Histopathology of the human retina in retinitis pigmentosa. *Prog Retin Eye Res* 17(2):175–205
 27. Liu G, Li H, Liu X, Xu D, Wang F (2016) Structural analysis of retinal photoreceptor ellipsoid zone and postreceptor retinal layer associated with visual acuity in patients with retinitis pigmentosa by ganglion cell analysis combined with OCT imaging. *Medicine (Baltimore)* 95(52):e5785. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000005785>
 28. Holopigian K, Greenstein V, Seiple W, Carr RE (1996) Rates of change differ among measures of visual function in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 103(3):398–405
 29. Grover S, Fishman GA, Alexander KR, Anderson RJ, Derlacki DJ (1996) Visual acuity impairment in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 103(10):1593–1600
 30. Grover S, Fishman GA, Anderson RJ, Tozatti MS, Heckenlively JR, Weleber RG, Edwards AO, Brown JJ (1999) Visual acuity impairment in patients with retinitis pigmentosa at age 45 years or older. *Ophthalmology* 106(9):1780–1785
 31. Flynn MF, Fishman GA, Anderson RJ, Roberts DK (2001) Retrospective longitudinal study of visual acuity change in patients with retinitis pigmentosa. *Retina* 21(6):639–646
 32. Davies EC, Pineda R (2017) Cataract surgery outcomes and complications in retinal dystrophy patients. *Can J Ophthalmol* 52(6):543–547
 33. Guérin CJ, Lewis GP, Fisher SK, Anderson DH (1993) Recovery of photoreceptor outer segment length and analysis of membrane assembly rates in regenerating primate photoreceptor outer segments. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34(1):175–183
 34. Cohen J (1997) Statistical power analysis for the behavioral sciences. Elsevier Inc.
 35. Scott IU, PC VV, Oden NL, Ip MS, Blodi BA, Jumper JM, Figueroa M, Group SSI (2009) SCORE study report 1: baseline associations between central retinal thickness and visual acuity in patients with retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 116(3):504–512
 36. Hood DC, Lazow MA, Locke KG, Greenstein VC, Birch DG (2011) The transition zone between healthy and diseased retina in patients with retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52(1):101–108
 37. Robson AG, Egan CA, Luong VA, Bird AC, Holder GE, Fitzke FW (2004) Comparison of fundus autofluorescence with photopic and scotopic fine-matrix mapping in patients with retinitis pigmentosa and normal visual acuity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45(11):4119–4125

SIMETRIA INTEROCULAR DA INTEGRIDADE DAS
CAMADAS EXTERNAS DA RETINA AVALIADAS POR
TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓTICA EM DOENTES COM
DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE RETINOPATIA PIGMENTAR

Simetria Interocular da Integridade das Camadas Externas da Retina Avaliadas por Tomografia de Coerência Ótica em Doentes com Diagnóstico Clínico de Retinopatia Pigmentar

Tiago Fernandes¹; Keissy Sousa^{1,2}; Manuel Falcão^{1,3}

¹ Departamento de Oftalmologia Hospital de Braga

² Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

³ Departamento de Oftalmologia do Centro Hospitalar S. João, Portugal

RESUMO

Introdução: A retinopatia pigmentar (RP) é tipicamente descrita como uma doença simétrica na sua forma de apresentação e progressão. No entanto, apesar deste pressuposto, existem poucos estudos que descrevam e estudem esta simetria. Este estudo tem como objetivo avaliar a simetria interocular da integridade das camadas externas da retina avaliadas por tomografia de coerência ótica (OCT) em doentes com RP.

Materiais e Métodos: Foi realizado um estudo transversal no Serviço de Oftalmologia do Hospital de Braga, Portugal. No qual foram incluídos 29 doentes com diagnóstico de RP observados em consulta entre janeiro e agosto de 2017. Foram colhidos dados relativos à idade, género, tempo decorrido desde data de diagnóstico, estado de faquia e acuidade visual com correção (MAVC). Dados relativos à simetria interocular da espessura da camada nuclear externa (CNE) e da integridade da Membrana Limitante Externa (MLE), Zona Elipsoide (ZE) e Zona de Interdigitação (ZI) foram avaliados.

Resultados: 58 olhos foram analisados. A média de acuidade visual corrigida em logMAR foi de 0.93 ± 0.63 no olho direito e 0.96 ± 0.68 para o olho esquerdo. Verificou-se uma correlação forte positiva entre a medição da espessura da CNE efetuadas nos dois olhos ($r_s=0.884$; $p=0.001$). Observou-se uma concordância entre a avaliação da integridade da MLE, ZE e ZI entre os dois olhos ($p=0.003$, $p=0.001$ e $p=0.005$, respetivamente).

Conclusão: Este estudo confirma a elevada natureza simétrica da RP ao nível do atingimento das diferentes camadas externas da retina. O OCT afirma-se como uma ferramenta sensível e eficaz para a avaliação da simetria dos achados tomográficos em doentes com RP.

ABSTRACT

Introduction: Retinitis Pigmentosa (RP) is typically described as a symmetric disease in its presentation and progression. However, despite this assumption, there are few publications that describe and study this symmetry. This study aims to evaluate the interocular symmetry of the integrity of external retinal layers evaluated by optical coherence tomography (OCT) in patients with RP.

Materials and Methods: A cross-sectional study was conducted at the Department of Ophthalmology of the Hospital de Braga, Portugal. In this study, 29 patients with a diagnosis of RP observed between January and August 2017 were included. Data on age, gender, time elapsed since diagnosis, phakic status and best-corrected visual acuity (BCVA) were collected. Data on the interocular symmetry of the thickness of the outer nuclear layer (ONL) and the integrity of the External Limiting Membrane (ELM), Ellipsoid Zone (EZ) and Interdigitation Zone (IZ) were evaluated.

Results: 58 eyes were analysed. The mean BCVA in logMAR was 0.93 ± 0.63 in the right eye and 0.96 ± 0.68 in the left eye. There was a strong positive correlation between the measurement of ONL thickness in both eyes ($r_s = 0.884$, $p = 0.001$). There was a concordance between the assessment of the integrity of the ELM, EZ and IZ between the two eyes ($p = 0.003$, $p = 0.001$ and $p = 0.005$, respectively).

Conclusion: This study confirms the high symmetrical nature of RP at the level of attainment of the different external layers of the retina. OCT is a sensitive and effective tool for assessing the symmetry of tomographic findings in patients with RP.

INTRODUÇÃO

A Retinopatia Pigmentar (RP) designa um conjunto de doenças heterogéneo caracterizado pela degeneração dos fotorreceptores. A RP é, classicamente, uma distrofia bastonetes-cones pelo que o envolvimento dos bastonetes acontece numa primeira fase, seguindo-se a o atingimento dos cones. Estas alterações são responsáveis pelo aparecimento de nictalopia, constrição campimétrica e nos estádios mais avançados da doença pode mesmo conduzir a cegueira devido à perda dos cones centrais.¹ A forma típica de RP pode expressar-se de forma autossómica dominante, autossómica recessiva, ligada ao cromossoma X e de forma esporádica, sendo normalmente considerada recessiva na sua origem.²

A RP é normalmente considerada uma doença bilateral que parece afetar os dois olhos de forma concordante.³ Apesar da documentação formal desta simetria ser ainda

escassa, o advento da terapia génica na RP veio impulsionar estudos recentes nesta área.^{4,5} De forma histórica, Jules Gonin em 1901 foi o primeiro a descrever o escotoma anelar, típico da RP, como característica bilateral e simétrica. Em 1963, *Birbaet al.* verificaram uma tendência simétrica para a pigmentação intraretiniana.⁶ O maior estudo até hoje data de 1979, em que sessenta doentes com a forma típica de RP foram submetidos a testes funcionais tendo sido observada simetria entre os defeitos nos campos visuais.⁷ No entanto, existem descrições de raras exceções a esta simetria como no caso de desenvolvimento de RP unilateral.⁸ A causa mais comum para a ausência de concordância entre os dois olhos resulta da inativação aleatória do X, ou lionização, observada em doentes do sexo feminino portadoras da forma de RP ligada ao X.^{9,10}

A tomografia de coerência ótica de domínio espectral (SD-OCT) é uma ferramenta não-invasiva útil no

diagnóstico da RP e no acompanhamento de doentes sob tratamento quando a mácula é afetada.^{11,12} O SD-OCT permite a observação a nível estrutural das camadas externas da retina. No SD-OCT da região macular, a RP é caracterizada por alterações ao nível da retina externas – camada nuclear externa (CNE), membrana limitante externa (MLE), zona elipsoide (ZE) e zona de interdigitação (ZI).¹³ Estudos histopatológicos revelaram que a ZE é a primeira a ser afetada na região dos segmentos externos dos fotorreceptores.¹⁴ A integridade da ZE apresenta também um papel importante na predição da variação da acuidade visual em doentes com RP, tendo sido identificada como a única camada com valor preditor na perda da AV nestes doentes.¹⁵

Com o advento da terapia genética e de tratamentos recorrendo a células estaminais, torna-se fundamental estabelecer se a concordância interocular é a norma. Este estudo examina as alterações ao nível do SD-OCT em doentes afetados com a forma típica de RP e pretende estabelecer se estas revelam uma verdadeira simetria bilateral.

MÉTODOS

Participantes

Este estudo transversal foi realizado no Serviço de Oftalmologia do Hospital de Braga, Portugal e foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de Braga e respeita os princípios éticos da Declaração de Helsínquia. Entre janeiro e agosto de 2017 foram avaliados os registos médicos e os SD-OCT dos doentes com RP observados em consulta. Todos os participantes foram submetidos a um exame oftalmológico completo no Serviço de Oftalmologia. O exame oftalmológico incluiu avaliação da melhor acuidade visual corrigida (MAVC) usando uma escala decimal, sendo os resultados convertidos para uma escala logarítmica (logMAR) para efeitos de análise estatística. Incluiu também observação na lâmpada de fenda e fundoscopia sob midríase farmacológica. Foram colhidos dados relativamente à data de diagnóstico, história familiar, idade à data de diagnóstico e género. O diagnóstico de RP foi clínico, tendo sido firmado com base no aspeto da fundoscopia, assim como a história familiar recolhida da anamnese. Não é reconhecido o padrão de hereditariedade da doença, tendo em conta que não for

realizado estudo molecular na amostra. Todos os doentes realizaram retinografias, SD-OCT e autofluorescência. Ao nível da retinografia avaliou-se a simetria respeitante à presença e distribuição das espículas ósseas (dentro, fora, dentro e fora das arcadas vasculares), aspeto do disco ótico (rosado ou pálido) e aspeto dos vasos. No padrão de autofluorescência confirmou-se a existência de anel hiperautofluorescente parafoveal com hipoauflorescência central. Alguns doentes têm realizado estudo campimétrico e eletrofisiológico para confirmação diagnóstica, principalmente os de diagnóstico mais recente. Os critérios de inclusão incluíram diagnóstico de RP e ausência de opacidades dos meios de forma a permitir melhor definição do OCT. Foram excluídos todos os doentes com catarata ou outras opacidades de meios (ex. opacidades corneanas ou vítreas) com impacto significativo na qualidade dos scans obtidos, coexistência de outras patologias retinianas e com falha nos registos médicos.

Tomografia de Coerência Ótica

O tomógrafo de alta resolução Spectralis OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) foi usado para medir a espessura retiniana e avaliar a estrutura da retina. Foi usado o protocolo FAST com cubos maculares de 20 x 20 com fixação central e 25 cortes horizontais com espaçamento 240 µm de distância entre cortes. O centro da fóvea foi considerado como a área da retina desprovida de camadas retinianas internas. A integridade subfoveal das camadas MLE, EZ e ZI foi avaliada. Utilizou-se o número (1) em casos de integridade e o número (0) nos casos de perda da integridade subfoveal da mesma camada. A CNE foi medida de forma manual no eixo vertical, como apresentado na figura 1, sendo considerada a camada mais externa e hiporreflexiva, como mostra a figura 1. A espessura 82.5±11.1 µm foi utilizada como valor de referência na medição da CNE.¹⁶ As medições foram realizadas pelos autores do artigo (T.F. e K.S.) que desconheciam a informação clínica do doente. Em caso de discordância, foi reavaliado pelo terceiro autor (M.F.).

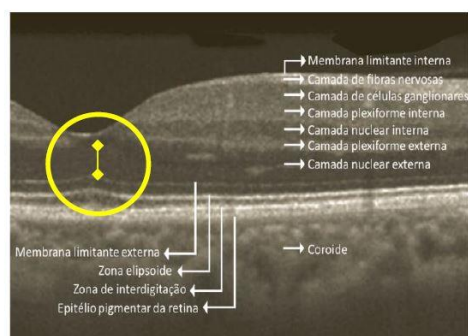


Figura 1 - Identificação das camadas da retina e coróide na região macular e demonstração da medição manual da camada nuclear externa (amarelo)

Análise Estatística

A informação foi organizada numa tabela no programa *Microsoft Excel 2010*®, sendo posteriormente importada e analisada no programa *Statistical Package For The Social Sciences (SPSS)*® (Chicago, Illinois, USA, versão 25.0). Em todos os testes estatísticos foi considerada significância estatística quando $p < 0,05$. A acuidade visual foi convertida para escala logMAR para efeitos estatísticos.¹⁷ Movimentos de mão, percepção luminosa e ausência de percepção luminosa foram considerados como +2, +3 e +4 na escala logMAR, respetivamente.¹⁸

Inicialmente procedeu-se a uma análise descritiva das características clínicas da amostra em estudo, sendo que as variáveis quantitativas são descritas através da média (M) e desvio padrão (DP), enquanto que as variáveis qualitativas são descritas através de frequências absolutas e relativas.

A integridade subfoveal das camadas externas da retina e a espessura da CNE foi medida por dois avaliadores independentes de forma manual pelo que antes de analisar os resultados foi necessário avaliar a correlação e consistência interna dos valores obtidos. Para isso foi utilizado o coeficiente de correlação de *Spearman* e o *Alfa de Cronbach* como medida de consistência interna de resultados. Valores de Alfa superiores a 0.8 foram considerados como indicativos de boa consistência interna de dados.

A normalidade da distribuição das variáveis em estudo classificadas como contínuas foi testada através do teste *Kolmogorov-Smirnov*.

Ao longo do estudo, para as variáveis contínuas que assumem distribuição normal são apresentadas a média e desvio padrão, e nas variáveis que violam o pressuposto de normalidade são apresentadas adicionalmente a mediana (Mdn) e amplitude interquartil (AIQ). O teste exato de *Fisher* foi utilizado para avaliar a associação entre as medicações de integridade das diferentes camadas externas da retina. O coeficiente de correlação Pearson foi utilizado para estudar a força de associação entre a espessura da CNE entre os dois olhos e o de *Spearman* na associação entre o número total de camadas afetadas em cada olho.

RESULTADOS

Neste estudo foram analisados 58 olhos de 29 doentes. Destes, 15 (51.7%) são do sexo masculino e 14 (48.3%) do sexo feminino. A idade média à data de avaliação foi de 52.8 ± 18.3 , com uma média de 18.11 ± 16.9 anos desde a data de diagnóstico de RP. Antecedentes familiares de RP estavam presentes em 72.4% dos doentes ($n=21$). As principais características demográficas da nossa amostra encontram-se sumariadas na tabela 1.

Tabela 1 - Características clínicas da amostra estudada

		N (%)
Genero	Masculino	15 (51,7%)
	Feminino	14 (48,3%)
Idade (M±DP)		52,8 ± 18,3
Diagnostico (M±DP)		18,11 ± 16,9
Historia familiar	Sim	21 (72,4%)
	Não	8 (27,6%)

DP = desvio-padrão; M = média; N = n.º de casos

A média de acuidade visual corrigida em escala logarítmica foi de 0.93 ± 0.63 no olho direito e 0.96 ± 0.68 para o olho esquerdo. Dos olhos que constituíam a nossa amostra, 14 olhos direitos e 14 olhos esquerdos eram pseudofáquicos. Verificou-se uma correlação positiva forte entre as MAVC de ambos os olhos ($r=0.899$, $p<0.001$).

Foi avaliada a simetria entre a integridade das camadas externas da retina, nomeadamente: MLE, ZE e ZI por dois avaliadores independentes. Para cálculo de consistência interna de dados foi calculado o *alfa de Cronbach*, cujo valor 0.878 indica uma boa consistência interna de resultados. A tabela 2 mostra os resultados da

concordância interocular para cada camada avaliada separadamente no total da amostra do estudo.

Relativamente à integridade da MLE verificou-se concordância entre resultados de 23 olhos da nossa amostra. Em 12 destes doentes foi possível verificar integridade da MLE nos dois olhos, e ausência da MLE em 11 olhos de forma concordante. Em 6 doentes existiu uma ausência de concordância interocular. Aplicando o teste exato de *Fisher* conclui-se que existe uma associação entre a integridade da MLE entre os dois olhos. Da mesma forma, procedemos a avaliação da simetria da integridade da ZE. Observamos concordância entre resultados em 26 olhos da nossa amostra. Em 3 doentes houve uma assimetria na continuidade da ZE. Estes resultados evidenciam uma associação entre a integridade da ZE dos dois olhos. A avaliação da simetria da integridade da ZI interocular verificou concordância em 22 doentes e ausência da mesma em 7 doentes. O teste exato de *Fisher* mostrou associação entre a integridade da ZI dos dois olhos.

Tabela 2 - Resultados da simetria da integridade das diferentes camadas externas da retina

	Simetria	N	% Simetria	p-value
MLE	Sim	23	79,3	0,003*
	Não	6		
ZE	Sim	26	89,7	0,001*
	Não	3		
ZI	Sim	22	75,9	0,005*
	Não	7		

Verifica-se associação na avaliação da simetria da presença/ausência da integridade em todas as bandas externas da retina. MLE – membrana limitante externa; ZE – zona elipsoide; ZI – zona de interdigitação; * p<0,05 com significância estatística.

Em 10 doentes (34,7%) verifica-se assimetria interocular da integridade em uma ou mais bandas externas da retina. Como se verifica na figura 1, a presença de assimetria está associada a uma maior assimetria na acuidade visual interocular.

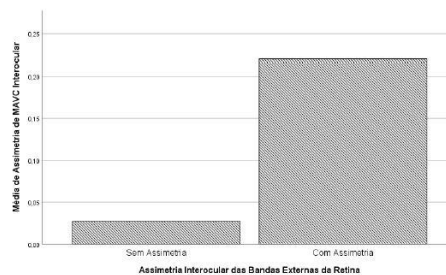


Figura 1 - Relação da Assimetria das Bandas Externas da Retina com a diferença da MAVC Interocular

A espessura da CNE foi medida de forma manual por dois investigadores independentes. O coeficiente de correlação de *Spearman* foi utilizado para avaliar a repetibilidade entre as duas medições para cada olho. Verificou-se uma correlação positiva moderada e estatisticamente significativa para cada medição independente (OD: $r_s = 0.521$, $p < 0.005$ e OE: $r_s = 0.559$, $p < 0.005$).

De forma a avaliar a associação entre a espessura da CNE do OD e a do OE foi utilizado o coeficiente de correlação de *Pearson*. Observou-se uma correlação forte positiva entre as medições efetuadas nos dois olhos ($r_s = 0.881$; $p = 0.001$). A figura 2 apresenta a correlação entre as medições manuais da CNE dos dois olhos do total da amostra.

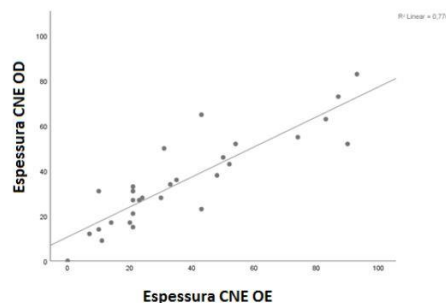


Figura 2 - Correlação entre as medições da CNE de ambos os olhos. Observa-se uma correlação forte e positiva de 77.6% entre a camada nuclear externa de ambos os olhos. CNE – camada nuclear externa; OD – olho direito; OE – olho esquerdo.

O número de camadas externas da retina afetadas pela RP em cada olho foi avaliado utilizando o coeficiente de correlação de *Spearman* e observou-se uma correlação positiva forte entre o número total de camadas afetada em cada olho ($r_s=0,769$; $p=0,001$). O gráfico 2 ilustra a correlação entre o número de camadas externas da retina afetadas em cada olho.

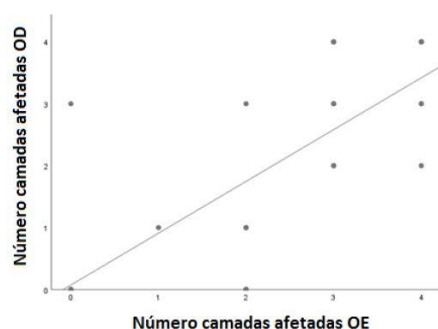


Figura 2. Correlação entre o número de camadas externas da retina afetadas em ambos os olhos
Verifica-se uma correlação positiva entre o número de camadas afetadas em ambos os olhos, ou seja, quanto maior o número de camadas afetadas de um olho, maior atingimento se verifica no olho adelfo.

DISCUSSÃO

Neste estudo observamos uma elevada taxa de simetria interocular entre o atingimento das camadas externas da retina medidas por SD-OCT em indivíduos com RP. Este estudo complementa muitos outros que datam da era anterior à tomografia de coerência ótica, nomeadamente o de Biro et al (1963) que verificou um padrão de simetria nas alterações pigmentares intrarretinianas de doentes com RP⁶ e o de Massofetal (1979) que constatou perdas simétricas nos campos visuais destes doentes.⁷ Esta simetria nas alterações oculares sugere que a progressão da RP segue uma sequência de alterações morfológicas, no qual o OCT se afirma como uma ferramenta não invasiva sensível e imprescindível na caracterização destas alterações. A RP é essencialmente uma doença dos fotorreceptores, pelo que as camadas externas da retina foram o foco do nosso estudo. A RP é caracterizada no SD-OCT macular por alterações na junção dos segmentos

internos/externos dos fotorreceptores e da MLE. Da mesma forma, estudos baseados no OCT estabeleceram uma relação positiva entre a integridade da ZE e a acuidade visual de doentes com RP, bem como confirmaram a espessura da camada nuclear externa como um biomarcador importante de doenças maculares.^{15,19-22} Neste estudo, observamos que a integridade da ZE fora a mais frequentemente afetada, facto que parece ser suportado por estudos histopatológicos que mostram que as primeiras alterações na RP se localizam no nível dos segmentos externos dos fotorreceptores, onde a ZE se localiza.^{14,23}

Este estudo apresenta algumas limitações que merecem ser discutidas. Neste estudo, o diagnóstico de RP foi firmado apenas com base no aspeto fenotípico da fundoscopia, não tendo sido realizada genotipagem. Espículas ósseas, estreitamento arteriolar e palidez papilar apesar de serem características típicas do aspeto fundoscópico de RP, também podem ser observadas noutras doenças, nomeadamente as distrofias retinianas em estadio avançado. Para além do estudo genético, seria também pertinente a realização de outros exames complementares de diagnóstico como estudo eletrofisiológico e campos visuais em todos os doentes. Apesar de terem sido realizadas retinografias e autofluorescência, o objetivo deste trabalho cursava com a identificação de biomarcadores de simetria ao nível do SD-OCT, pelo que a presença e distribuição das espículas ósseas, características do nervo ótico e o padrão de autofluorescência típico da RP não foram avaliados neste estudo. A integridade do epitélio pigmentar da retina (EPR) foi avaliada de forma indireta através da ZI, já que esta é formada pelos segmentos externos dos cones e o ápice das células do EPR.²⁴ No futuro, a integração com múltiplos exames complementares poderá ser interessante, no entanto um número mais elevado de doentes pode ser pertinente para poder correlacionar tantas variáveis.

Em conclusão, o nosso estudo confirmou a natureza simétrica da RP com base nas alterações induzidas na integridade camadas externas da retina medidas por SD-OCT. Esta confirmação é importante do ponto de vista da avaliação de diferentes tratamentos genéticos que utilizam um dos olhos como controlo, mas também porque permite uma melhor compreensão da progressão desta doença.

REFERÊNCIAS

1. D. T. Hartong, E. L. Berson, and T. P. Dryja, "Retinitis pigmentosa," *Lancet* (London, England), vol. 368, no. 9549, pp. 1795–809, Nov. 2006.
2. M. Jay, "On the heredity of retinitis pigmentosa," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 66, no. 7, pp. 405–16, Jul. 1982.
3. J. T. Pearlman, "Retinitis Pigmentosa: an improved Clinical Approach," in *ERG, VER and Psychophysics*, Dordrecht: Springer Netherlands, 1977, pp. 235–238.
4. J. J. L. Tee, J. Carroll, A. R. Webster, and M. Michaelides, "Quantitative Analysis of Retinal Structure Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography in RPGR-Associated Retinopathy," *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 178, pp. 18–26, Jun. 2017.
5. J. J. L. Tee, Y. Yang, A. Kalitzeos, A. Webster, J. Bainbridge, and M. Michaelides, "Natural History Study of Retinal Structure, Progression, and Symmetry Using Ellipsoid Zone Metrics in RPGR-Associated Retinopathy," *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 198, pp. 111–123, Feb. 2019.
6. I. BIRO, "Symmetrical development of pigmentation as a specific feature of the fundus pattern in retinitis pigmentosa," *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 55, no. 6, pp. 1176–9, Jun. 1963.
7. R. W. Massof, D. Finkelstein, S. J. Starr, K. R. Kenyon, J. A. Fleischman, and I. H. Maumenee, "Bilateral symmetry of vision disorders in typical retinitis pigmentosa," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 63, no. 2, pp. 90–6, Feb. 1979.
8. S. G. Jacobson, K. Yagasaki, W. J. Feuer, and A. J. Román, "Interocular asymmetry of visual function in heterozygotes of X-linked retinitis pigmentosa," *Exp. Eye Res.*, vol. 48, no. 5, pp. 679–91, May 1989.
9. J. T. Lee and M. S. Bartolomei, "X-inactivation, imprinting, and long noncoding RNAs in health and disease," *Cell*, vol. 152, no. 6, pp. 1308–23, Mar. 2013.
10. J. H. Acton et al., "Evaluation of multimodal imaging in carriers of X-linked retinitis pigmentosa," *Exp. Eye Res.*, vol. 113, pp. 41–8, Aug. 2013.
11. H. Hirakawa, H. Iijima, T. Gohdo, and S. Tsukahara, "Optical coherence tomography of cystoid macular edema associated with retinitis pigmentosa," *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 128, no. 2, pp. 185–91, Aug. 1999.
12. M. A. Apushkin, G. A. Fishman, and M. J. Janowicz, "Monitoring cystoid macular edema by optical coherence tomography in patients with retinitis pigmentosa," *Ophthalmology*, vol. 111, no. 10, pp. 1899–1904, Oct. 2004.
13. J. A. Boughman, P. M. Conneally, and W. E. Nance, "Population genetic studies of retinitis pigmentosa," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 32, no. 2, pp. 223–35, Mar. 1980.
14. Y. Mitamura et al., "Photoreceptor Impairment and Restoration on Optical Coherence Tomographic Image," *J. Ophthalmol.*, vol. 2013, pp. 1–7, 2013.
15. K. Sousa, T. Fernandes, R. Gentil, L. Mendonça, and M. Falcão, "Outer retinal layers as predictors of visual acuity in retinitis pigmentosa: a cross-sectional study," *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 257, no. 2, pp. 265–271, Feb. 2019.
16. T. Alasil et al., "Relationship between Optical Coherence Tomography Retinal Parameters and Visual Acuity in Diabetic Macular Edema," *Ophthalmology*, vol. 117, no. 12, pp. 2379–2386, Dec. 2010.
17. J. T. Holladay, "Proper method for calculating average visual acuity," *Journal of refractive surgery* (Thorofare, N.J. : 1995), vol. 13, no. 4, pp. 388–391, 1997.
18. K. Schulze-Bonsel, N. Feltgen, H. Burau, L. Hansen, and M. Bach, "Visual acuities "hand motion" and "counting fingers" can be quantified with the freiburg visual acuity test," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 47, no. 3, pp. 1236–40, Mar. 2006.
19. A. Oishi, M. Hata, M. Shimozone, M. Mandai, A. Nishida, and Y. Kurimoto, "The Significance of External Limiting Membrane Status for Visual Acuity in Age-Related Macular Degeneration," *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 150, no. 1, pp. 27–32.e1, Jul. 2010.
20. P. G. Theodossiadis, V. G. Grigoropoulos, and G. P. Theodossiadis, "The significance of the external limiting membrane in the recovery of photoreceptor layer after successful macular hole closure: a study by spectral domain optical coherence tomography," *Ophthalmologica*, vol. 225, no. 3, pp. 176–84, 2011.
21. T. Wakabayashi et al., "Foveal microstructure and visual acuity after retinal detachment repair: imaging analysis by Fourier-domain optical coherence tomography," *Ophthalmology*, vol. 116, no. 3, pp. 519–28, Mar. 2009.
22. A. Oishi, M. Shimozone, M. Mandai, M. Hata, A. Nishida, and Y. Kurimoto, "Recovery of photoreceptor outer segments after anti-VEGF therapy for age-related macular degeneration," *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 251, no. 2, pp. 435–440, Feb. 2013.
23. R. F. Spaide and C. A. Curcio, "ANATOMICAL CORRELATES TO THE BANDS SEEN IN THE

Tiago Fernandes, Keissy Sousa, Manuel Faicao

OUTER RETINA BY OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY,” Retina, vol. 31, no. 8, pp. 1609–1619, Sep. 2011.

24. B. Turgut and T. Demir, “The new landmarks, findings and signs in optical coherence tomography,” New Front. Ophthalmol., vol. 2, no. 3, pp. 131–136, 2016.

CONTACTO

Tiago Fernandes
Departamento de Oftalmologia
Hospital de Braga
MORADA
COD POSTAL
E-mail: 0000@0000.00

The authors have no financial interests in the topic of this manuscript. No conflicting relationship exists for any author.

OUTER NUCLEAR LAYER AS THE MAIN
PREDICTOR TO ANATOMIC RESPONSE TO HALF DOSE
PHOTODYNAMIC THERAPY IN CHRONIC CENTRAL
SEROUS RETINOPATHY

Research Article

Outer Nuclear Layer as the Main Predictor to Anatomic Response to Half Dose Photodynamic Therapy in Chronic Central Serous Retinopathy

Keissy Sousa,^{1,2} Ana Rita Viana,³ Joana Pires,¹ Carla Ferreira,¹ Lara Queirós,⁴ and Manuel Falcão^{2,4,5}

¹Ophthalmology Department, Hospital de Braga, Braga, Portugal

²Ophthalmology Department, Centro Hospitalar Universitário S. João, Porto, Portugal

³Medicine School, Universidade do Minho, Braga, Portugal

⁴Ophthalmology Department, Hospital Cuf Porto, Porto, Portugal

⁵Department of Surgery and Physiology, Faculty of Medicine of the University of Porto, Porto, Portugal

Correspondence should be addressed to Manuel Falcão; falcao@med.up.pt

Received 6 June 2019; Accepted 23 September 2019; Published 13 October 2019

Academic Editor: Hong Liang

Copyright © 2019 Keissy Sousa et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Purpose. To evaluate the predictors for subretinal fluid resorption in patients with chronic central serous retinopathy (cCSR) submitted to half-dose photodynamic therapy (HD-PDT). **Methods.** Observational, longitudinal, and retrospective study of patients with cCSR submitted to HD-PDT in a tertiary ophthalmology department in Portugal between January 2015 and February 2018. Best-corrected visual acuity (BCVA) and SD-OCT at baseline and 12 ± 3 months after treatment were performed. The central macular thickness (CMT), outer nuclear layer (ONL) thickness, integrity of the external limiting membrane (ELM), ellipsoid (EZ) and interdigitation zone (IZ), subretinal fluid (SRF) height, and choroidal thickness (CT) were evaluated. Patients were classified into responders and nonresponders based on SRF resorption. **Results.** Sixty-one eyes of 42 patients were included; 75.4% were classified as responders. Final BCVA was significantly better in responders ($p = 0.002$). The baseline ONL was thicker ($p < 0.01$) and intact ELM (67.2% vs. 16.4%), EZ (49.2% vs. 8.2%), and IZ (31.2% vs. 1.6%) were more prevalent in responders than in nonresponders. Anatomic response was correlated with a thicker ONL ($rs(59) = 0.416$, $p = 0.001^*$), intact ELM ($rs(59) = 0.261$, $p = 0.04^*$), EZ ($rs(59) = 0.278$, $p = 0.03^*$), and IZ ($rs(59) = 0.318$, $p = 0.01^*$). Binary logistic regression showed that a thicker ONL thickness increased the chance of an anatomic response to HD-PDT. The other evaluated retinal layers did not have statistical significance in the binary regression model. **Conclusions.** cCSR responders to HD-PDT have a better final BCVA, a thicker baseline ONL, and an intact baseline ELM, EZ, and IZ. However, ONL was the only predictor in a logistic regression model for SRF resorption.

1. Introduction

Central serous retinopathy (CSR) is characterized by macular serous detachment in the absence of other ocular abnormalities [1, 2]. Although most acute cases resolve spontaneously, the recurrence or persistence of serous subretinal fluid can lead to deterioration in vision [2, 3]. One definition of chronic CSR (cCSR) is characterized by persistent serous retinal detachment for more than 6 months [4]. Over the last decades, fluorescein angiography (FA) and

indocyanine green angiography (ICG) have been used to confirm the diagnosis. However, these techniques remain insufficient for predicting visual outcomes [3]. The recent advances in spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) have made it possible to detect changes in the retinal microstructure [2, 3]. The ability to evaluate changes in central macular thickness, submacular fluid, thickness of the outer nuclear layer (ONL), and thickness of the external retinal bands such as the external limiting membrane (ELM), the ellipsoid (EZ), and interdigitation (IZ) zones has

increased our knowledge on the pathophysiology of CSR [2–10]. Subfoveal choroidal thickness (CT) has been reported to be thickened in CSR likely due to choroidal vascular dilation [11]. SD-OCT evaluation of the subretinal fluid has become an important tool for the management of the disease as it provides fast and innocuous characterization of disease activity, determining which patients require treatment due to persistent subretinal fluid, and it allows the anatomical evaluation of treatment response.

In cases of persistent subretinal fluid, half-dose photodynamic therapy (HD-PDT) with verteporfin has been widely used to treat CSR by inducing choroidal vascular remodeling and decreasing choroidal vascular permeability with a high anatomical success [4, 8, 12, 13]. However, there has been a discrepancy between anatomic success of the treatment, usually defined as absence of subretinal fluid, and visual recovery. This fact suggests that there may be prognostic factors that can predict anatomic and visual recovery [4, 12, 14]. The aim of our study is to identify baseline SD-OCT characteristics that may predict the anatomic improvement after HD-PDT in patients with chronic CSR. We evaluated the CMT, ONL, ELM, EZ, IZ, subretinal fluid (SRF), and CT as prognostic factors for subretinal fluid resorption about 12 months after HD-PDT treatment.

2. Methods

Medical records of patients who had the diagnosis of cCSR that were submitted to HD-PDT between January 2015 and February 2018 were reviewed for this retrospective study. All investigations were performed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Hospital de Braga. All patients with a diagnosis of cCSR who performed HD-PDT during the reported period were included. Data were collected at baseline and 12 ± 2.6 months after treatment. No other treatments for cCSR including mineralocorticoid receptor antagonists or focal laser were performed during the study period. Patients with myopia ≥ 6.0 diopters and macular disorders such as choroidal neovascularization, polypoidal choroidal vasculopathy, age-related macular degeneration, history of vitreomacular disease, intravitreal anti-VEGF (vascular endothelial growth-factor) or mineralocorticoid-receptor antagonists treatment, laser photocoagulation or prior PDT ≤ 6 months, cataract, or optical media opacity that restricted the examination of ocular fundus were excluded from this study.

Each study participant underwent a comprehensive ophthalmologic examination, SD-OCT, and FA (TRC-50DX, Topcon Medical Systems, Inc., Tokyo, Japan) and/or ICG (TRC-50DX, Topcon Medical Systems, Inc., Tokyo, Japan) evaluation. Demographic data collected included sex, age, time of diagnosis, laterality, and previous treatments. Ophthalmologic examination included best-corrected visual acuity (BCVA) and slit-lamp biomicroscopy. BCVA was assessed using the decimal scale chart and converted to logarithm of the minimum angle of resolution (log MAR).

Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) was used to measure retinal thickness and evaluate the outer retinal layers. The OCT imaging technique consisted in obtaining a macular square ($20 \times 20^\circ$) composed of 25 horizontal B-scans, spaced at $240 \mu\text{m}$. Each B-scan was averaged 9 times (ART 9). Additionally, for each case, a single horizontal and a single vertical B-scan using the enhanced depth imaging mode, averaged 100 times (ART 100), and centered on the fovea was obtained.

The SD-OCTs were performed immediately before treatment and 12 ± 3 months later. The presumed foveal center was determined as the area lacking the inner retinal layers in the macular region. Data collected were: central macular thickness (CMT) and the following foveal parameters: outer nuclear layer (ONL) thickness, presence or absence of external limiting membrane (ELM), ellipsoid band (EZ), interdigitation band (IZ), subretinal fluid height (SRF), and choroidal thickness (CT). ONL was defined as the distance between the inner limiting membrane and the ELM at the central fovea. SRF was measured as the hyporeflective space from the IZ to the RPE. Choroidal thickness was measured subfoveally with enhanced depth imaging, from the outer portion of the retinal pigment epithelium (RPE) to the inner surface of the sclera. When there was any disruption of the central foveal millimeter of the ELM, EZ, and IZ bands, they were classified as absent; when these layers were preserved, they were classified as present. All measurements and evaluations were made by two independent investigators (K.S. and A.R.V.) on the horizontal high quality scans centered on the fovea. Any prominent difference between the two investigators was discussed with the senior author (M.F.), and the reconciled measurement was recorded.

PDT with verteporfin (Visudyne®, Novartis, Basel, Switzerland) was performed using a half-dose protocol. Verteporfin at 3 mg/m^2 dose was infused for 8 min; diode laser light (689 nm) was delivered (Visulas 690 D, Carl Zeiss Meditec Inc., Jena, Germany) for 83 s. The standard dose of laser intensity (600 mW/cm^2) and fluence was used (50 J/cm^2). The spot size was determined by the area size of the maximum leakage point on ICG or FA.

Two different groups of patients were created for the analysis. Patients were divided into anatomic responders (R) and nonresponders (NR) based on SRF resorption. Patients were classified as responders if the SRF improved equal or greater than 50% resorption of SRF measured on SD-OCT height.

All statistical analysis was performed using SPSS software version 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL), and p values < 0.05 were considered statistically significant. All values were presented as mean ($\pm$ standard deviation (SD)) or median (interquartile range (IQR)). Nonparametric tests were applied after nonnormality of the sample was confirmed by the Shapiro–Wilk test. Wilcoxon signed-rank test was used to compare baseline and posttreatment visual acuity. Spearman's rho correlation was used to find the associations between anatomic response and baseline OCT characteristics. Mann–Whitney U or independent sample t -test was used to compare differences between groups. To

identify factors affecting treatment success, we performed a binary univariate analysis and subsequently a multivariate regression using the backward conditional method to exclude possible confounders and analyzed the baseline variables to verify any predictive factors.

3. Results

Seventy eyes of 47 patients were selected. Nine eyes were excluded due to lack of complete follow-up. Sixty-one eyes of 42 patients were included. Mean age was 55.7 ± 12.6 years; 71.4% ($n = 30$) were male. Median time from diagnosis until treatment was 20 (IQR 26) months. Corticoid use was present in 27.9% ($n = 11$) of patients. Naïve eyes were 44.3% ($n = 27$), and previous treatments, such as HD-PDT, mineralocorticoids, or anti-VEGF, were applied in 55.7% ($n = 34$) cases outside the study period and at least 3 months before the study. Table 1 shows demographic characteristics of our sample.

3.1. Anatomic Response and Visual Acuity. The samples were divided in two groups: R and NR, regarding the SRF improvement on SD-OCT. Forty-six patients (75.4%) were classified as R and 15 (24.6%) were classified as NR. Overall, the median baseline BCVA was 0.30 logMAR (IQR 0.40), and the final BCVA was 0.20 logMAR (IQR 0.30), which meant a significant visual improvement ($z = -2.85$, $p = 0.004$). In the NR group, there was no significant variation in median BCVA throughout the study, from 0.70 (IQR 0.6) to 0.40 (IQR 0.50) ($z = -0.12$, $p = 0.91$). In the R group, the median baseline BCVA improved from 0.25 logMAR (IQR 0.20) to 0.20 logMAR (IQR 0.2) ($z = -3.56$, $p < 0.001$). Baseline visual acuity was not statistically different between both groups ($U = 242$, $z = -1.75$, $p = 0.08$). However, final BCVA was better in R (0.20 logMAR (IQR 0.20) than NR (0.40 logMAR (IQR 0.50)) ($U = 156$, $z = -3.08$, $p = 0.002$).

3.2. OCT Parameters. The baseline SD-OCT parameters evaluated in R and NR are shown in Table 2. The baseline ONL was thicker in the R group ($43.5 \pm 22.9 \mu\text{m}$) than in the NR group ($23.9 \pm 32.2 \mu\text{m}$, $p < 0.01$). The ELM integrity was more prevalent in the R group than in the NR group (67.2% vs. 16.4%), $p = 0.04$. The same was observed within the EZ (49.2% vs. 8.2%, $p = 0.03$) and the IZ (31.2% vs. 1.6%, $p = 0.01$).

3.3. Independent Correlations with Anatomic Response. The correlation between the baseline retinal layers and the anatomic response to HD-PDT was evaluated as shown in Table 3. The ONL thickness and the presence of the other outer retinal layers are significantly correlated with the final anatomic response (ONL (rs (59) = 0.416, $p = 0.001^*$), ELM (rs (59) = 0.261, $p = 0.04^*$), EZ (rs (59) = 0.278, $p = 0.03^*$), and IZ (rs (59) = 0.318, $p = 0.01^*$)). Overall, neither baseline BCVA and time from symptoms/diagnosis until treatment

TABLE 1: Demographic characteristics and clinical data.

Variable	(42 patients, $n = 61$)
Sex (male/female)	30/12
Age (years)	55.7 ± 12.6
Time until treatment (months)	20 (IQR 26)
Previous treatments	HD-PDT 16.4% Mineralocorticoid 1.6% MPL 3.3% Anti-VEGF 4.9% Multiple 29.5%

values are presented as mean $\pm$ standard deviation in age and as median (IQR = interquartile range) in time until treatment.

were correlated with the anatomic effect (rs (63) = 0.08, $p = 0.54$).

3.4. Binary Regression on Anatomical Response. A binomial multivariate logistic regression was performed to ascertain the effect of final BCVA, ONL, EZ, and IZ on the likelihood that patients will respond to HD-PDT. The logistic regression model was statistically significant ($\chi^2(4) = 11.7$, $p = 0.002$). The model explained 17.4% to 25.9% (Nagelkerke R^2) of the variance of anatomical response and correctly classified 78.7% of cases. Of the four predictive values, only one was statistically significant, ONL ($p = 0.02$). The increase of $1 \mu\text{m}$ of ONL thickness elevates 1.04 times the chance to anatomic response to HD-PDT. All other variables lost statistical significance in the multivariate logistic regression model as shown in Table 4.

4. Discussion

Due to the increasing costs of medical therapy, the decision to treat patients in clinical practice has led to an increasing concern over cost-effectiveness. Understanding which patients will benefit from treatment in expensive medications such as PDT is of paramount importance. Evaluating the anatomy of the outer retina before treatment may help predict the anatomic response. In our series, though all external layers had an independent significant correlation with the anatomical fluid resorption, we observed that patients with a thicker ONL had a higher likelihood to obtain an adequate anatomic response to HD-PDT in the dicotomic model. This could mean that ONL status might be the most important layer to predict the anatomic response.

Current advances in the SD-OCT technology have provided precious information regarding the importance of outer retinal layers in visual function in eyes with CSR [6, 14, 15]. Improvement in BCVA and SRF after HD-PDT is well documented [4, 14, 16–19] and was confirmed in this study. We also showed that when an anatomic response does not occur, we do not find a significant change in vision. Treatment effect based on SRF resorption and CMT reduction has been used to classify the response to PDT [18, 20]. Most of the studies reported an anatomical success of 60–85%, which was in line with our results of 75.4% of anatomical improvement [14, 18, 19]. In our study, we disclose that the anatomic responders had a final better

TABLE 2: Variables at baseline from responders and nonresponders groups.

Variables	Responders	Nonresponders	
Best-corrected visual acuity (log MAR)	0.25	0.7	$U = 242, z = -1.75, p = 0.08$
Central macular thickness (μm)	315.5 (183)	283 (95)	$U = 417, z = 1.06, p = 0.29$
Outer nuclear layer (μm)	43.5 ± 22.9	23.9 ± 32.2	$t(59) = -2.59, p = 0.01^*$
External limiting membrane (present/absent)	41/5	10/5	$p = 0.04^*$
Ellipsoid zone (present/absent)	30/16 (65.2/34.8%)	5/10 (33.3%/66.7%)	$p = 0.03^*$
Interdigitation zone (present/absent)	19/27 (41.3%/58.7%)	1/14 (6.7/93.3%)	$p = 0.01^*$
Choroidal thickness (μm)	304.2 ± 74.1	282.3 ± 47.8	$t(59) = -1.08, p = 0.29$
Subretinal fluid (μm)	96.5 (201)	61 (89)	$U = 384, z = 0.66, p = 0.51$

Variables at baseline included in the analysis from responders and nonresponders groups. There was a significant difference between both groups in outer nuclear layer, external limiting membrane, ellipsoid zone, and interdigitation zone. * Statistically significant.

TABLE 3: Independent correlations between variables at baseline and anatomic response.

Independent variables at baseline	Correlation with anatomic response
Best-corrected visual acuity	$rs(59) = -0.23, p = 0.08$
Time from diagnosis	$rs(57) = 0.05, p = 0.73$
Central macular thickness	$rs(59) = 0.15, p = 0.25$
Outer nuclear layer	$rs(59) = 0.416, p = 0.001^*$
External limiting membrane	$rs(59) = 0.261, p = 0.04^*$
Ellipsoid zone	$rs(59) = 0.278, p = 0.03^*$
Interdigitation zone	$rs(59) = 0.318, p = 0.01^*$
Choroidal thickness	$rs(59) = -0.098, p = 0.45$
Subretinal fluid	$rs(59) = 0.085, p = 0.52$

Independent correlations between the anatomic response and the baseline retinal layers or baseline best-corrected visual acuity (BCVA). There is an independent correlation between baseline outer nuclear layer, external limiting membrane, ellipsoid zone, and interdigitation zone. rs = Spearman's rho correlation; p = p value; * = statistically significant.

median BCVA (with less improvement) as in the study of Matuskova et al. [4]. This could also be an indicator that using the PDT when the retina is not yet dysfunctional may lead to better SFR resorption, CMT improvement, and improved visual acuity. However, we did not find that time to treatment was an indicator of anatomic improvement after treatment. Chung et al. and Iacono et al. reported similar findings as they described that the duration of symptoms was not linked with subretinal fluid resolution [21, 22]. This could mean that retinal dysfunction in this disease may not be linked to the amount of time in which subretinal fluid is present and could be linked to other outer retinal changes that occur but are not time-dependent. It is possible that the biochemical characteristics of subretinal fluid may differ from patient to patient, and these differences may have different effects on the external retinal layers that have been described [2, 12, 21].

In our study, the R group had different baseline SD-OCTs from NR. They had a thicker ONL, and the ELM, EZ, and IZ were more frequently intact. However, in our binary regression model, we found that the ONL thickness was the only predictor of SRF resorption. The ONL is the innermost retinal layer of the variables in our study. The ONL is composed by the nuclei of photoreceptors. Thinning of this layer could be a marker of definite retinal damage that may predict a poor response to PDT. When the subretinal fluid is

present, the RPE is not able to absorb the tip of the outer segment. This may lead to both an elongation of photoreceptor outer segments and possibly photoreceptor cell apoptosis with subsequent thinning of ONL [9, 23, 24]. Other studies have reported that the ONL thickness could be an important predictor of visual acuity after one year of half-fluence PDT [8, 25]. However, these studies differ from the present studies because they had a lower number of eyes (22 and 36) and they used half-fluence PDT instead of half-dose PDT.

Other authors have reported other results but, in their studies, the ONL was not assessed, and therefore the importance of this layer could not be evaluated. A strong correlation between the disruption of the ellipsoid (previously denominated IS/OS) and low BCVA and a decrease in visual acuity when the ELM is disrupted was found in untreated chronic CSR [3]. One other study did not find any predictive factors with final BCVA, including ELM or the ellipsoid zone when low-fluence PDT was used [4]. When conventional PDT was used, a disruption of the EZ, longer duration of visual symptoms, and RPE atrophy negatively impacted on visual function [14]. Finally, Chung et al. used SRF resolution as a prognostic factor for visual acuity improvement for HD-PDT. They also observed that EZ was not a prognostic factor for SFR resorption, but they did not include other variables than the EZ as predictors [21]. These data suggest that evaluating the EZ as the sole predictive factor for visual function for chronic CSR might be reductionist and that all outer retinal structures, especially the ONL, should be taken into account as a predictive factor and in future evaluations of response to therapy.

Our study also has limitations. It is a retrospective study. There was an asymmetry between the number of patients in the two groups because the majority of patients had a good response. There were a significant number of patients who were followed-up for a long time, and other treatments have been performed before, which could explain the poorer results. Mean age was higher than usual, and it could be linked for the longer time of disease and due to 31.9% of patients that had cCSR linked to corticoid use. Patients were followed up in a regular clinical setting without strict follow-up protocols and treatment indications as clinical trials; however, it tries to reflect everyday clinical practice.

This is the first study to analyze the anatomic characteristics of all the outer retinal layers in a multivariable

TABLE 4: Univariate and multivariate binomial regression to estimate the probability of anatomic response.

Variable	Univariate analysis Exp(B)	Univariate analysis p-value, 95% CI	Multivariate analysis, Exp(B)	Multivariate analysis p-value, 95% CI
Baseline best-corrected visual acuity	0.151	$p = 0.04, 0.025 - 0.891^*$	0.49	$p = 0.49, 0.065 - 3.66$
Time until diagnosis	1.005	$p = 0.73, 0.976 - 1.035$	X	
Central macular thickness	1.001	$p = 0.76, 0.997 - 1.005$	X	
Outer nuclear layer	1.04	$p = 0.02, 1.01 - 1.07^*$	1.04	$p = 0.02, 1.007 - 1.071^*$
External limiting membrane	0.244	$p = 0.05, 0.059 - 1.008$	X	
Ellipsoid zone	0.267	$p = 0.04, 0.078 - 0.915^*$	1.27	$p = 0.76, 0.268 - 6.029$
Interdigitation zone	0.102	$p = 0.03, 0.012 - 0.839^*$	0.16	$p = 0.1, 0.018 - 1.43$
Choroidal thickness	1.005	$p = 0.28, 0.996 - 1.014$	X	
Subretinal fluid	1.001	$p = 0.71, 0.996 - 1.005$	X	

To estimate the probability of anatomic response of baseline variables, a univariate analysis of each variable to exclude possible confounders was performed initially, and subsequent multivariate analysis was performed. Only the outer nuclear layer was a significant predictor. *, statistically significant; X, not included.

model to try and identify predictors of SRF resorption in patients treated with HD-PDT for cCSR with one year of follow-up. Anatomic recovery is usually proportional to visual acuity improvement [10, 14, 21]. That was the main reason to study predictors that may influence anatomic recovery. Evaluation of the outer retinal layers especially the ONL may help predict which patients may have an anatomical response to HD-PDT. Treating patients with a thin ONL may not have a good anatomical response and therefore will not obtain significant visual benefits.

5. Conclusion

HD-PDT is one treatment option for cCSR. Multiple studies used assorted variables trying to predict a better result of PDT in cCSR [25]. Most studies have evaluated single retinal layers using SD-OCT. We analyzed all the outer retinal layers, and in our model, a thicker ONL was the best predictor for better anatomic results.

Data Availability

The data used to support the findings of this study are restricted by the Ethics Committee of Hospital de Braga in order to protect patient privacy. Data are available for researchers who meet the criteria for access to confidential data.

Ethical Approval

All procedures were in accordance with the ethical standards of the institutional, document number 132/2017, and National Research Committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards. All data were used based on anonymized data, and none of the presented results can identify any patient.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgments

The authors acknowledge Andreia Magalhães (OCT technique supervision); Gil Calvão-Santos, MD (proofreading

and data collection); Rita Gentil, MD (data collection data); Luís Mendonça, MD (data collection); Petra Gouveia, MD (writing assistance, technical editing, and proofreading); Nuno Gomes, MD (general supervision); Fernando Vaz, MD (general supervision).

References

- [1] J. Donald and M. Gass, "Pathogenesis of disciform detachment of neuroepithelium: II. Idiopathic central serous chorioretinopathy," *American Journal of Ophthalmology*, vol. 63, no. 3, pp. 587–615, 1967.
- [2] T. Nakamura, T. Ueda-Consolvo, T. Oiwake, and A. Hayashi, "Correlation between outer retinal layer thickness and cone density in patients with resolved central serous chorioretinopathy," *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, vol. 254, no. 12, pp. 2347–2354, 2016.
- [3] O. Yalcinbayir, O. Gelisken, B. Akova-Budak, G. Ozkaya, S. Gorkem Cevik, and A. A. Yucel, "Correlation of spectral domain optical coherence tomography findings and visual acuity in central serous chorioretinopathy," *Retina*, vol. 34, no. 4, pp. 705–712, 2014.
- [4] V. Matuskova, D. Vysloulzlova, and M. Uher, "Half-fluence photodynamic therapy for chronic central serous chorioretinopathy: predisposing factors for visual acuity outcomes," *Seminars in Ophthalmology*, vol. 33, no. 5, pp. 690–699, 2017.
- [5] T. Hasegawa, M. Okamoto, N. Masuda, T. Ueda, and N. Ogata, "Relationship between foveal microstructures and visual outcomes in eyes with resolved central serous chorioretinopathy," *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, vol. 253, no. 3, pp. 343–350, 2015.
- [6] R. F. Spaide and C. A. Curcio, "Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography," *Retina*, vol. 31, no. 8, pp. 1609–1619, 2011.
- [7] D. H. Ross, M. E. Clark, P. Godara et al., "RefMob, a reflectivity feature model-based automated method for measuring four outer retinal hyperreflective bands in optical coherence tomography," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 56, no. 8, pp. 4166–4176, 2015.
- [8] Y. Ohkuma, T. Hayashi, T. Sakai, A. Watanabe, and H. Tsuneoka, "One-year results of reduced fluence photodynamic therapy for central serous chorioretinopathy: the outer nuclear layer thickness is associated with visual prognosis," *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, vol. 251, no. 8, pp. 1909–1917, 2013.

- [9] H. Matsumoto, T. Sato, and S. Kishi, "Outer nuclear layer thickness at the fovea determines visual outcomes in resolved central serous chorioretinopathy," *American Journal of Ophthalmology*, vol. 148, no. 1, pp. 105–110, 2009.
- [10] F. C. Piccolino, R. R. de La Longrais, G. Ravera et al., "The foveal photoreceptor layer and visual acuity loss in central serous chorioretinopathy," *American Journal of Ophthalmology*, vol. 139, no. 1, pp. 87–99, 2005.
- [11] S. Kuroda, Y. Ikuno, Y. Yasuno et al., "Choroidal thickness in central serous chorioretinopathy," *Retina*, vol. 33, no. 2, pp. 302–308, 2013.
- [12] K. Fujita, K. Shinoda, Y. Imamura et al., "Correlation of integrity of cone outer segment tips line with retinal sensitivity after half-dose photodynamic therapy for chronic central serous chorioretinopathy," *American Journal of Ophthalmology*, vol. 154, no. 3, pp. 579–585, 2012.
- [13] H. Vasconcelos, I. Marques, A. R. Santos et al., "Long-term chorioretinal changes after photodynamic therapy for chronic central serous chorioretinopathy," *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, vol. 251, no. 7, pp. 1697–1705, 2013.
- [14] J. W. Moon, H. G. Yu, T. W. Kim, H. C. Kim, and H. Chung, "Prognostic factors related to photodynamic therapy for central serous chorioretinopathy," *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, vol. 247, no. 10, pp. 1315–1323, 2009.
- [15] S. Ganekal, U. K. Nair, M. Soman, and K. G. R. Nair, "Correlation of spectral domain optical coherence tomography findings in acute central serous chorioretinopathy with visual acuity," *Clinical Ophthalmology*, vol. 6, pp. 1949–1954, 2012.
- [16] T. Y. Y. Lay, W. M. Chan, H. Li, R. Y. K. Lai, D. T. L. Liu, and D. S. C. Lam, "Safety enhanced photodynamic therapy with half-dose verteporfin for chronic central serous chorioretinopathy: a short term pilot study," *British Journal of Ophthalmology*, vol. 90, no. 7, pp. 869–874, 2006.
- [17] J. I. Lim, A. R. Glassman, L. P. Aiello, U. Chakravarthy, C. J. Flaxel, and R. F. Spaide, "Collaborative retrospective macula society study of photodynamic therapy for chronic central serous chorioretinopathy," *Ophthalmology*, vol. 121, no. 5, pp. 1073–1078, 2014.
- [18] E. H. C. van Dijk, S. Fauser, M. B. Breukink et al., "Half-dose photodynamic therapy versus high-density subthreshold micropulse laser treatment in patients with chronic central serous chorioretinopathy: the place trial," *Ophthalmology*, vol. 125, no. 10, pp. 1547–1555, 2018.
- [19] V. Sheptulin, K. Purtshvanidze, and J. Roider, "Half-time photodynamic therapy in treatment of chronic central serous chorioretinopathy," *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, vol. 256, no. 11, pp. 2027–2034, 2018.
- [20] E. Özmert, S. Demirel, Ö. Yanık, and F. Batioğlu, "Low-fluence photodynamic therapy versus subthreshold micropulse yellow wavelength laser in the treatment of chronic central serous chorioretinopathy," *Journal of Ophthalmology*, vol. 2016, Article ID 3513794, 8 pages, 2016.
- [21] C. Y. Chung, Y. Y. Chan, and K. K. W. Li, "Angiographic and tomographic prognostic factors of chronic central serous chorioretinopathy treated with half-dose photodynamic therapy," *Ophthalmologica*, vol. 240, no. 1, pp. 37–44, 2018.
- [22] P. Iacono, M. Tedeschi, B. Boccassini, A. C. Valloti, M. Varano, and M. C. Parravano, "Chronic central serous chorioretinopathy: early and late morphological and functional changes after verteporfin photodynamic therapy," *Retina*, vol. 39, no. 5, pp. 980–987, 2018.
- [23] M. G. Ersoz, M. Karacorlu, S. Arf, M. Hocaoglu, and I. Sayman Muslubas, "Outer nuclear layer thinning in pachychoroid pigment epitheliopathy," *Retina*, vol. 38, no. 5, pp. 957–961, 2018.
- [24] I. Ozdemir, A. Eren, and G. Ersöz, "Outer nuclear layer thickness at the central fovea relation with symptom duration in central serous chorioretinopathy," *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, vol. 39, no. 6, pp. 1323–1328, 2018.
- [25] K. S. Asano, R. Asaoka, S. Asano, K. Azuma, T. Inoue, and R. Obata, "Elongated photoreceptor outer segment length and prognosis of chronic central serous chorioretinopathy," *Retina*, pp. 1–8, 2019.

532 NM SUBTHRESHOLD MICROPULSE LASER
FOR THE TREATMENT OF CHRONIC CENTRAL SEROUS
RETINOPATHY

532-nm Subthreshold Micropulse Laser for the Treatment of Chronic Central Serous Retinopathy

This article was published in the following Dove Press journal:
Clinical Ophthalmology

Keissy Sousa¹
Gil Calvão-Santos¹
Marina João²
Nuno Gomes¹
Manuel Falcão^{3,4}

¹Retina Department of Hospital de Braga, Braga, Portugal; ²Ophthalmology Department of Hospital de Braga, Braga, Portugal; ³Retina Department of Centro Hospitalar Universitário S. João, Porto, Portugal; ⁴Department of Surgery and Physiology of Faculty of Medicine of the University of Porto, Porto, Portugal

Introduction: Subthreshold micropulse laser treatment with a 532 nm (532-SML) wavelength has been suggested as a treatment option for the treatment of chronic central serous retinopathy (cCSR). The objective is to present its effects and complications.

Methods: We present a retrospective cohort study of cCSR patients submitted to 532-SML. Best-corrected visual acuity (BCVA) and spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) parameters – central macular thickness, subfoveal outer nuclear layer, external limiting membrane, ellipsoid band, interdigitation band, subretinal fluid and choroidal thickness – were evaluated before and 12 weeks after treatment. A power of 50%, a duty cycle of 5%, exposure time of 200 ms and a spot size of 160 µm were the applied laser parameters.

Results: We included 26 eyes. Overall there were no significant changes in visual acuity (median 0.20 (IQR 0) logMAR before and after treatment) or SD-OCT parameters. However, visual benefits occurred in 42.3% (n=11) of the patients and in half of the cases, subretinal fluid was completely reabsorbed. There were no complications.

Conclusion: In this study, 532-SML was overall ineffective on cCSR as it did not lead to significant changes in the overall median visual acuity and SD-OCT parameters. However, some patients may have benefited functionally and anatomically from the treatment; further investigation is necessary to understand the potential of 532-SML.

Keywords: central serous retinopathy, SD-OCT, subthreshold micropulse laser, 532 nm wavelength, outer retina bands

Introduction

Central Serous Retinopathy (CSR) is characterized by choroidal hyperpermeability, pigment epithelial detachment and retinal neurosensory detachment with subretinal fluid (SRF); when the fovea is involved central vision loss occurs. In acute CSR, sudden-onset loss of central vision occurs because of a single point of leakage in the retinal pigment epithelium (RPE); such cases tend to resolve spontaneously within several months. However, at least 15% of the patients have chronic SRF accumulation, with associated persistent vision loss and more extensive pathologic features of the retina and choroid.^{1,2}

Photodynamic Therapy (PDT) has been shown to be an effective treatment for chronic CSR (cCSR), both visually and anatomically.^{2,3} However, PDT is expensive and not always readily available in many centers. Potential side effects as secondary chorioretinal atrophy and reduction of contrast sensitivity have been described.⁴⁻⁶ Other available treatment options include mineralocorticoid antagonist (ie spironolactone and eplerenone), focal laser or anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) therapy.⁷⁻⁹ There is overall poor evidence for the use of

Correspondence: Manuel Falcão
Oftalmologia, Centro Hospitalar S. João,
Alameda Prof. Hernâni Monteiro, Porto
4200-319, Portugal
Tel +351 22 551 2100
Email falcão@med.up.pt

submit your manuscript | www.dovepress.com

Dovepress

<https://doi.org/10.2147/OPTH.S232202>

Clinical Ophthalmology 2020;14:525–531

525

© 2020 Sousa et al. This work is published and licensed by Dove Medical Press Limited. The full terms of this license are available at <https://www.dovepress.com/terms.php> and incorporate the Creative Commons Attribution – Non Commercial (unported, v3.0) License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>). By accessing the work you hereby accept the Terms. Non-commercial uses of the work are permitted without any further permission from Dove Medical Press Limited, provided the work is properly attributed. For permission for commercial use of this work, please see paragraph 4.2 and 5 of our Terms (<https://www.dovepress.com/terms.php>).

systemic and intravitreal medications; mineralocorticoid receptor antagonists may have the greatest potential from this class of treatments. Conventional thermal photocoagulation may be used in selected cases.⁸ Recently, sub-threshold micropulse laser treatment (SML) has been used for cCSR with variable results.^{2,7,10-13} SML is a laser delivery mode that involves a series of repetitive ultrashort laser pulses that more broadly treat RPE. Improved RPE function is proposed to result from the targeted cells' response to therapy.⁹ SML diminishes the risk of iatrogenic thermal damage of regular laser, does not induce ophthalmoscopically visible laser burns and can therefore be used to treat subfoveal or juxtafoveal focal and diffuse leaks.

Anatomic success rates were reported to be between 41% and 100% with 577 or 810 nm wavelength.² The average visual acuity improvement are around nine-letter ETDRS¹³ or remained within two lines of baseline.¹⁴ Potential advantages of SML over PDT include cost reduction and the elimination of the adverse effects associated with verteporfin and PDT.¹⁴ The use of 5% duty cycle has shown very mild or no visible RPE alterations secondary to local heating in fundus observation, infrared and autofluorescence imaging.^{10,12} For macular disorders, both green (495–570 nm) and yellow (570–590 nm) wavelengths are suitable as they are well absorbed by melanin and hemoglobin and only minimally by macular xanthophylls.¹⁵ There is scarce data using the 532 nm wavelength for cCSR. However, the theoretical principles of the other wavelengths used – 577 or 810 nm^{2,8,9,14} – could feasibly be applied to the 532 nm wavelength. Due to paucity of data relating to the effectiveness of 532-SML for CSR treatment, the main objective of the study was to present the effects of this laser wavelength (532-SML) using 5% duty cycle.

Methods

We analyzed medical records of patients who had the diagnosis of cCSR that were submitted to 532-SML between June 2017 and April 2019. All investigations were performed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Hospital de Braga. Inclusion criteria were patients ≥ 18 years with cCSR with at least 4 months of persistent subretinal fluid observed by spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT). It was determined a subretinal fluid height until 100 μm . The diagnosis of cCSR was confirmed by fluorescein angiography

(FA) (TRC-50DX, Topcon Medical Systems, Inc., Tokyo, Japan) and/or Indocyanine green angiography (ICG) (TRC-50DX, Topcon Medical Systems, Inc., Tokyo, Japan). Data were collected at just before and at 12 weeks after treatment. During these 12 weeks, no other treatment for cCSR was performed including mineralocorticoid receptor antagonists or laser or PDT. We excluded patients with myopia ≥ 6.0 diopters and macular disorders such as choroidal neovascularization, polypoidal choroidal vasculopathy, age-related macular degeneration, history of vitreomacular disease, cataract or optical media opacity that restricted the examination of ocular fundus. Patients with a history of treatment for their cCSR in the 6 months before the 532 nm MPL treatment (intravitreal anti-VEGF) treatment, laser photocoagulation or prior PDT) were also excluded. Visual acuity was not an inclusion/exclusion criteria.

All included participants underwent a comprehensive ophthalmologic examination, SD-OCT and FA and/or ICG evaluation. Demographic data included sex, age, time of diagnosis, laterality and previous treatments. Ophthalmologic examination included best-corrected visual acuity (BCVA) and slit-lamp biomicroscopy. BCVA was assessed using the decimal scale chart and converted to logarithm of the minimum angle of resolution (logMAR).

All patients performed a Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) to measure retinal thickness and evaluate the outer retinal layers. The OCT imaging technique consisted in obtaining a macular square (20 $\times$ 20°) composed of 25 horizontal B-scans, spaced at 240 μm . Each B-scan was averaged 9 times (ART 9). Additionally, for each case, a single horizontal and a single vertical B-scan using the Enhanced Depth Imaging mode, averaged 100 times (ART 100), and centered on the fovea was obtained. The SD-OCTs and BCVA measurements were performed immediately before treatment and 12 weeks later. The presumed foveal center was determined as the area lacking the inner retinal layers in the macular region. Data collected were central macular thickness (CMT) and the following foveal parameters – outer nuclear layer (ONL) thickness; continuity or disruption of external limiting membrane (ELM), ellipsoid band (EZ) and interdigitation band (IZ); subretinal fluid height (SRF) and choroidal thickness (CT). ONL was defined as the distance between the inner limiting membrane and the ELM at the central fovea. SRF was measured as the hyporeflective space from the IZ to the RPE. Choroidal

thickness was manually measured subfoveally with enhanced depth imaging, from the outer portion of the retinal pigment epithelium (RPE) to the inner surface of the sclera. A disruption of the foveal ELM, EZ and IZ bands was classified as absent; its preservation was classified as present. Two independent investigators (K.S. and M.J.) made all measurements and evaluations on the horizontal high-quality scans centered on the fovea. Any prominent difference between the two investigators was discussed with the senior author (M.F.) and the reconciled measurement was recorded.

SML was performed with a Quantel Medical Supra[®] 532 nm. A pattern of multiple confluent with no space laser spots were applied, covering the fluid seen on SD-OCT and/or the main leakage point in FA. The laser treatment was also applied on even if these areas did not coincide with visible leaking spots on the FA/ICG. All treatments were performed by the same surgeon (K.S.). The power was initially increased upward to the minimum threshold value to cause a barely visible burn on micropulse mode outside vascular area at the posterior pole and then it was reduced to 50%. A duty cycle of 5% was used, exposure time of 200 ms and a spot size of 160 μ m. A resorption of $\geq 50\%$ of SRF was considered a positive anatomical response.¹⁶

All statistical analysis was performed using SPSS software version 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) and p values < 0.05 were considered statistically significant. Non-parametric tests were applied after non-normality of the sample was confirmed by Shapiro-Wilk test. All values were presented as mean ($\pm$ standard-deviation (SD)) or median (interquartile range (IQR)) according to the normality test result. To compare the baseline and post-treatment BCVA, Wilcoxon signed-rank test was used.

Results

Twenty-six eyes of 22 patients were included. The mean age was 51.5 ± 12.1 years, in which 20 (90.9%) were male and 2 (9.1%) were female. Median time from diagnosis until treatment was 19 (20) months. Included previous treatments (≥ 6 months) for cCSR were 532-SML in 15.4% (n=4), aldosterone receptor antagonist (spironolactone) in 57.7% (n=15), half-dose PDT in 30.8% (n=8) and anti-VEGF (aflibercept) in 26.9% (n=7). Seven eyes (26.9%) were treatment naïve. Table 1 shows demographic features.

Concerning best-corrected visual acuity, the median BCVA remained at 0.20 (IQR 0) logMAR ($z(26) = -1.18$,

Table 1 Demographic Data

Age (years)		51.5 $\pm$ 12.1
Gender	Male Female	20 (90.9%) 2 (9.1%)
Time until treatment (months)		19 (20)
Previous treatments	None 532-SML Aldosterone receptor antagonist (spironolactone) HD-PDT	7 (26.9%) 4 (15.4%) 15 (57.7%) 8 (30.8%)

Notes: Data were presented as mean $\pm$ standard deviation in age; gender and previous treatments as n (%); time until treatment as median (interquartile range). **Abbreviations:** HD-PDT, half-dose photodynamic therapy; SML, subthreshold micropulse laser.

$p=0.24$) – Figure 1. An average increase of 0.16 ± 0.15 (minimum of -0.1 and a maximum of -0.6) logMAR BCVA was reported in 42.3% (n=11). An improvement of ≥ 2 lines occurred in 19.2% (n=5) and a decrease of ≥ 2 lines occurred in 15.4% (n=4). Nevertheless, 46.2% (n=12) had a baseline BCVA superior to $+0.2$ logMAR.

Overall, the SD-OCT parameters evaluated did not suffer any changes from baseline to 12 weeks after treatment (Table 2). Using SD-OCT for analysis of the macular layers, there was a decrease of CMT and SFR. There was an increase of ONL thickness, CT and a gain of IZ presence. None of these changes were statistically significant. Other external retinal bands (ELM and EZ) did not present any variation. However, 50% of the patients showed an SRF resorption. There was an increase of SRF in 23.1% (n=6). In the group of patients with visual acuity increase, 81.8% (n=9) had a complete anatomic response. In the group of patients treated in the first 12 months (n=8), 50% had a complete anatomical response, the same as the group treated later (n=18) (Spearman's rho, $p=1.00$).

We did not document any damage in any external retinal bands or other complications such as laser-induced macular neovascularization or scars during the study period.

Discussion

The main objective of our study was to analyze the efficacy of 532-SML in cCSR. Overall, the results were disappointing with no median change in visual acuity and SD-OCT parameters. Other wavelengths^{2,13,14}

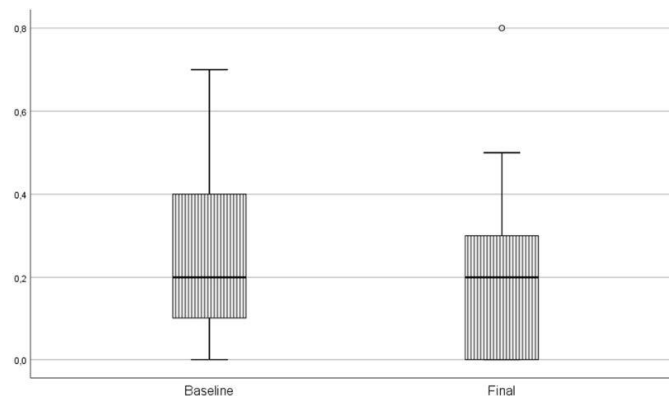


Figure 1 Baseline and 12 weeks after 532-SML treatment best-corrected visual acuity (logMAR). There was no significant difference between the two periods of evaluation. 532-SML: Subthreshold micropulse laser treatment with a 532 nm wavelength.

applied demonstrated slightly better results. SML has been used as an optional treatment for cCSR.^{8,9,13} Advantages over PDT are the availability, less invasive treatment, fewer side effects and economic issues. For example, in our department, SML is always available for treatment whilst PDT requires special approval due to its cost. We have evaluated the results of 532-SML in some cCSR patients concerning efficacy and complications. Overall, we had a 50% of anatomic response with no BCVA variation. Nevertheless, 42.3% (n=9) showed a BCVA increase in which 81.8% (n=9) had a complete anatomic response. No damage were collected in any external retinal bands and no complications or side effects were registered.

Some studies are well recognized and a review was performed by Wood et al¹³ in 2017. In this review, there

was a decrease in mean central macular thickness (80 μ m at 3 months). However, this decrease was not statistically significant. Mean best-corrected visual acuity increased about nine letters at 3 months and no study reported a decrease in visual acuity. No major retinal complications were observed. In our study, 42.3% of the patients had an increase in visual acuity (mean of 0.16 ± 0.15 (-0.1 to -0.6) logMAR) which is about nine ETDRS letters. On the other hand, our sample had a greater baseline BCVA: $> +0.2$ logMAR in 46.2% (n=12) of patients which could explain the non-improvement. There was no statistical difference in CMT which is in line with other papers with no clinically significant difference. In the review by Wood et al,¹⁷ the single study that used a 532nm laser was Behnia et al.¹⁷ However, the power titration was 20% instead of 50% used in our study and it was implemented in acute CSR

Table 2 SD-OCT Parameters at Baseline and After 532-SML Treatment

	Baseline	Final	p-value
Central macular thickness	290.5 μ m (IQR 78)	264.5 μ m (IQR 72)	0.20
Outer nuclear layer	59 μ m (IQR 49)	71.5 μ m (IQR 37)	0.10
External limiting membrane (presence)	26 (100%)	25 (96.2%)	1
Ellipsoid zone (presence)	21 (80.8%)	21 (80.8%)	1
Interdigitation zone (presence)	12 (46.2%)	15 (57.7%)	0.45
Subretinal fluid	26.5 μ m (IQR 69)	0 μ m (IQR 40)	0.12
Choroidal thickness	219 μ m (IQR 135)	228 μ m (IQR 70)	0.696

Notes: There was no statistically difference between any layer before and after 532-SML.
Abbreviation: IQR, interquartile range.

(<1 month). At the end of the follow-up period, BCVA was about the same and it was not reproducible for cCSR patients. Our study has a median time until treatment of 20 months which is a long waiting for treatment. However, anatomic response was not correlated with time until treatment as observed previously.^{3,16,18}

Most studies used a 577 nm or 810 nm wavelength and a 10–15% duty cycle. Five percent duty cycle were used by the PACORES group¹⁴ and Malik et al.¹⁰ The PACORES group presented 92 eyes treated with 577 nm SML and a 12-month follow-up. Malik et al used an 810 nm wavelength and included 11 eyes with an anatomic efficacy of 72.7% and varied follow-up duration. This wavelength was also used in the PLACE² trial which compared PDT with micropulse laser treatment. They kept a distance of 500 µm from the foveal center and repeated treatments were possible after 6 to 8 weeks. No significant differences between the two groups (SML versus PDT) were observed based on BCVA, retinal sensitivity and vision-related quality of life. OCT parameters were not evaluated. A greater visual acuity improvement and CMT reduction were observed during the first months after treatment in most of the studies.^{4,14,19,20}

For reference, 12 weeks seems to be enough to test the efficacy of this new wavelength in cCSR; this time frame has been used in other studies to understand the response and to weight other treatment options.^{2,4,8,9,14,20} In our study, there were no significant changes in BCVA which seem inferior than the other studies that evaluated micropulse laser for cCSR. Also, our patients did not have a significant change in mean CMT. Nevertheless, baseline CMT was better than other studies (290.5 µm vs 402 µm vs 326.5 µm vs 369 µm) which can explain the lower decrease in CMT.^{7,12,14} Ntomoka et al⁷ was the only study that evaluated macular layers besides CMT. In our study, SRF was also less severe than in other studies (26.5 µm vs 160.5 µm).

A cut-off of for the amount of SRF to be used to treat cCSR with SML has not been defined. As a first published work with 532 nm, we opted not to treat large volumes of SRF and limited our treatments to patients with an SRF height less than 100 µm. When compared to other studies, the presence of ELM and IS/OS (inner/outer segment) (which corresponds to our EZ) was better in our sample, which may be an indication of less severe disease. CSR as an RPE disease⁸ and IZ as the representation of the region of the distal portion of the cone's outer segment which indicated contact cylinder with the apposed RPE cell body

is expected that the regulation of the disease can be translated in more IZ presence by SML treatment.²¹ ONL has been described as a biomarker of better prognosis in CSR^{22–25} and 532-SML marginally increased the ONL thickness in our study, without statistically significant variation. Treatment was applied subfoveally if necessary.

The main limitation of our study is the size and heterogeneity of the sample (patients with a wide variety of previous treatments). A retrospective study has also well-known limitations.

Still, this is the first time that this wavelength is reported in cCSR. As a start for a bigger pilot study, these results could be explored. Even though we did not find statistically significant changes in overall visual acuity, 42% of the patients had visual improvements, in which 81.8% showed a complete anatomic response to treatment. This data suggests that there might be a subgroup of patients that may benefit from this treatment. However, our short sample does not allow a proper subgroup analysis. A prospective study with longer follow-up and more patients should be done to confirm the results and conclude which patients could have better outcomes. It is important to evaluate if this can be an option to PDT, especially because this may not be available in many centers. In our study, 532-SML was also used in less severe patients that were considered for treatment before great loss of visual acuity and irreversible damage. 532-SML, as an available treatment for cCSR, needs to be better evaluated before it can be recommended.

Conclusions

532-SML was ineffective on cCSR as it did not lead to significant changes in the overall median visual acuity and SD-OCT parameters. However, it might have a place in a subgroup of patients with cCSR. In our study, 42% of the patients improved anatomically and visually. Apparently, 532-SML is not harmful so it may be explored as an alternative therapy. It should be considered in further prospective studies to better evaluate its efficacy.

Summary

Photodynamic Therapy (PDT) remains the gold-standard of treatment for chronic central serous retinopathy but other treatment options have become available as 577 and 810 nm sub-threshold laser (SML), mineralocorticoid receptor antagonists and anti-VEGF intravitreal injections. Potential advantages of SML over PDT include cost

reduction and avoidance of the adverse effects associated with verteporfin and PDT. There is scarce data about subthreshold micropulse laser treatment with a 532 nm wavelength for the treatment of chronic Central Serous Retinopathy. Spectral-domain Optical Coherence Tomography is a non-invasive and useful tool to diagnose and follow-up these patients. The objective of our work is to show the results and adverse effects of 532 nm wavelength SML. The treatment was anatomically successful in half of the patients.

Abbreviations

532-SML, Subthreshold Micropulse Laser using wavelength 532 nm; BCVA, Best-corrected Visual Acuity; CSR, Central Serous Retinopathy; cCSR, Chronic Central Serous Retinopathy; CMT, Central Macular Thickness; CT, Choroidal Thickness; ELM, External Limiting Membrane; ETDRS, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study chart; EZ, Ellipsoid Zone; IS/OS, Inner Segment/Outer Segment Junction Layer; IZ, Interdigitation Zone; FA, Fluorescein Angiography; ICG, Indocyanine Green Angiography; IQR, Interquartile Range; logMAR, Logarithm of the Minimum Angle of Resolution; OCT, Optical Coherence Tomography; ONL, Outer Nuclear Layer; PDT, Photodynamic Therapy; RPE, Retinal Pigment Epithelium; SD, Standard-Deviation; SD-OCT, Spectral-domain Optical Coherence Tomography; SML, Subthreshold Micropulse Laser; SRF, Subretinal Fluid; VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor.

Ethics Approval and Informed Consent

All procedures were in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki. The ethical standards of the institutional, document number 132/2017, and national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards were accomplished. All data were performed based on anonymized data and none of the presented results can identify any patient.

Data Sharing Statement

The data used to support the findings of this study are restricted by the Ethics Committee of Hospital de Braga in order to protect patient privacy. Data are available for researchers who meet the criteria for access to confidential data.

Acknowledgment

Andreia Magalhães (Technician), Joana Pires (Collected Data); Carla Ferreira (Collected Data), Luís Mendonça (Collected Data), Rita Gentil (Collected Data), Petra Gouveia (Collected Data), Fernando Vaz (Ophthalmology Head Department).

Author Contributions

All authors contributed to data analysis, drafting and revising the article, gave final approval of the version to be published, and agree to be accountable for all aspects of the work.

Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

References

1. Daruich A, Matet A, Dirani A, et al. Central serous chorioretinopathy: recent findings and new physiopathology hypothesis. *Prog Retin Eye Res.* 2015;48:82–118. doi:10.1016/j.preteyeres.2015.05.003
2. EHCv D, Fauser S, Breukink MB, et al. Half-dose photodynamic therapy versus high-density subthreshold micropulse laser treatment in patients with chronic central serous chorioretinopathy: the place trial. *Ophthalmology.* 2018;125(10):1547–1555.
3. Chung CY, Chan YY, Li KKW. Angiographic and tomographic prognostic factors of chronic central serous chorioretinopathy treated with half-dose photodynamic therapy. *Ophthalmologica.* 2018;240(1):37–44. doi:10.1159/000484100
4. Scholz P, Ersoy L, Boon CJF, Fauser S. Subthreshold micropulse laser (577 nm) treatment in chronic central serous chorioretinopathy. *Ophthalmologica.* 2015;234:189–194. doi:10.1159/000439600
5. Schatz H, Yannuzzi LA, Gitter KA. Subretinal neovascularization following argon laser photocoagulation treatment for central serous chorioretinopathy: complications or misdiagnosis? *Retina.* 2012;32(suppl 1):OP893–OP906. doi:10.1097/IAE.0b013e318242fa2d
6. Khosla P, Rana S, Tewari H, Azad R, Talwar D. Evaluation of visual function following argon laser photocoagulation in central serous retinopathy. *Ophthalmic Surg Lasers.* 1997;28:693–697.
7. Ntomoka CG, Rajesh B, Muriithi GM, Goud A, Chhablani J. Comparison of photodynamic therapy and navigated microsecond laser for chronic central serous chorioretinopathy. *R Coll Ophthalmol.* 2017;32:1079–1086.
8. Goldhagen BE, Goldhardt R. Diagnosed a patient with central serous chorioretinopathy? Now what? Management of central serous chorioretinopathy. *Curr Ophthalmol Rep.* 2017;5(2):141–148. doi:10.1007/s40135-017-0133-4
9. Salehi M, Wenick AS, Law HA, Evans JR, Gehlbach P. Interventions for central serous chorioretinopathy: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;12.
10. Malik KJ, Sampat KM, Mansouri A, Steiner JN, Glaser BM. Low-intensity/high-density subthreshold micropulse diode laser for chronic central serous chorioretinopathy. *Retina.* 2015;35:532–536. doi:10.1097/IAE.0000000000000285
11. Ozmert E, Demirel S, Yanik O, Batioglu F. Low-fluence photodynamic therapy versus subthreshold micropulse yellow wavelength laser in the treatment of chronic central serous chorioretinopathy. *J Ophthalmol.* 2016;2016:1–8.

12. Arsan A, Kanar HS, Sonmez A. Visual outcomes and anatomic changes after sub-threshold micropulse yellow laser (577 nm) treatment for chronic central serous chorioretinopathy: long-term follow-up. *Eye (Lond)*. 2018;32:726–733. doi:10.1038/eye.2017.293
13. Wood EH, Karth PA, Sanislo SR, Moshfeghi DM, Palanker DV. Nondamaging retinal laser therapy for treatment of central serous chorioretinopathy. *Retina*. 2017;37:1021–1033. doi:10.1097/IAE.0000000000001386
14. Roca JA, Wu L, Fromow-Guerra J, et al. Yellow (577 nm) micropulse laser versus half-dose verteporfin photodynamic therapy in eyes with chronic central serous chorioretinopathy: results of the Pan-American Collaborative Retina Sturdy (PACORES) Group. *Br J Ophthalmol*. 2018;102(12):1696–1700. doi:10.1136/bjophthalmol-2017-311291
15. Yadav NK, Jayadev C, Rajendran A, Nagpal M. Recent developments in retinal lasers and delivery systems. *Indian J Ophthalmol*. 2014;62(1):50–54. doi:10.4103/0301-4738.126179
16. Sousa K, Viana AR, Pires J, Ferreira C, Queirós L, Falcão M. Outer nuclear layer as the main predictor to anatomic response to half dose photodynamic therapy in chronic central serous retinopathy. *J Ophthalmol*. 2019;2019:6. doi:10.1155/2019/5859063
17. Behnia M, Khabazkhoob M, Aliakbari S, Abadi AE, Hashemi H, Pourvahidi P. Improvement in visual acuity and contrast sensitivity in patients with central serous chorioretinopathy after laser macular subthreshold laser therapy. *Retina*. 2013;33:324–328. doi:10.1097/IAE.0b013e3182670fa3
18. Iacono P, Tedeschi M, Boccassini B, Valloti AC, Varano M, Parravano MC. Chronic central serous chorioretinopathy - early and late morphological and functional changes after verteporfin photodynamic therapy. *Retina*. 2018;1–8.
19. Russo A, Turano R, Morescalchi F, et al. Comparison of half-dose photodynamic therapy and 689 nm laser treatment in eyes with chronic central serous chorioretinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017;255(6):1141–1148. doi:10.1007/s00417-017-3626-9
20. Gawecki M, Jaszcuk-Maciejewska A, Jurska-Jasko A, Grzybowski A. Functional and morphological outcome in patients with chronic central serous chorioretinopathy treated by subthreshold micropulse laser. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017;255:2299–2306. doi:10.1007/s00417-017-3783-x
21. Spaide R, Curcio CA. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography. *Retina*. 2011;31(8):1609–1619. doi:10.1097/IAE.0b013e3182247535
22. Ozdemir I, Eren A, Ersoz G. Outer nuclear layer thickness at the central fovea relation with symptom duration in central serous chorioretinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018;39(6):1323–1328.
23. Matsumoto H, Sato T, Kishi S. Outer nuclear layer thickness at the fovea determines visual outcomes in resolved central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2009;148(1):105–110. doi:10.1016/j.ajo.2009.01.018
24. Ersoz MG, Karacorlu M, Arf S, Hocaoglu M, Muslubas IS. Outer nuclear layer thinning in paquychoroid pigment epitheliopathy. *Retina*. 2018;38:957–961. doi:10.1097/IAE.0000000000001655
25. Ohkuma Y, Hayashi T, Sakai T, Watanabe A, Tsuneoka H. One-year results of reduced fluence photodynamic therapy for central serous chorioretinopathy: the outer nuclear layer thickness is associated with visual prognosis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2013;251(8):1909–1917. doi:10.1007/s00417-013-2289-4

Clinical Ophthalmology

Dovepress

Publish your work in this journal

Clinical Ophthalmology is an international, peer-reviewed journal covering all subspecialties within ophthalmology. Key topics include: Optometry; Visual science; Pharmacology and drug therapy in eye diseases; Basic Sciences; Primary and Secondary eye care; Patient Safety and Quality of Care Improvements. This journal is indexed on PubMed

Central and CAS, and is the official journal of The Society of Clinical Ophthalmology (SCO). The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

Submit your manuscript here: <https://www.dovepress.com/clinical-ophthalmology-journal>

**BASELINE VISUAL ACUITY AND INTERDIGITATION
ZONE AS PREDICTORS FOR VISUAL ACUITY IN
IDIOPATHIC EPIRETINAL MEMBRANES – A
RETROSPECTIVE COHORT STUDY**



Original research article

EJO | European
Journal of
OphthalmologyEuropean Journal of Ophthalmology
1–8
© The Author(s) 2020
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/1120672120932094
journals.sagepub.com/home/ejo
SAGE

Baseline visual acuity and interdigitation zone as predictors in idiopathic epiretinal membranes: A retrospective cohort study

Tiago Filipe Fernandes^{1, #}, Keissy Sousa^{1, 2, #}, Inês Azevedo³,
Petra Gouveia¹, Gil Calvão-Santos¹, Nuno Gomes¹
and Manuel Falcão^{2, 4}

Abstract

Objective: Determine which functional and anatomical characteristics may be predictors of final visual acuity in patients with idiopathic ERM (iERM) submitted to pars plana vitrectomy (PPV) with ERM and internal and internal limiting membrane (ILM) peeling.

Design: Retrospective cohort study.

Subjects: Patients with iERM submitted to PPV between 2016 and 2017.

Methods: Data regarding the best-corrected visual acuity (BCVA) and the characteristics of the retinal layers observed in SD-OCT were collected preoperatively and until 12 months postoperatively. Central macular thickness (CMT), disorganization of the retinal inner layers (DRIL), outer nuclear layer (ONL) thickness, integrity of subfoveal external limiting membrane (ELM), ellipsoid zone (EZ), and interdigitation zone (IZ) were evaluated.

Results: A total of 128 eyes with iERM from 121 patients were included. BCVA improved significantly ($p < 0.001$). Significant improvement of BCVA, CMT, DRIL, ONL, ELM, and EZ were obtained. The final IZ was not different from baseline until the end of the study. A significant correlation was observed between the baseline BCVA, EZ, IZ, and the postoperative BCVA ($p < 0.001$). However, only the baseline BCVA and the integrity of the subfoveal baseline IZ were predictive factors for final BCVA ($p < 0.005$ and $p < 0.001$, respectively).

Conclusion: PPV provides a significant improvement of BCVA and retinal anatomy recovery in iERM eyes. Baseline IZ didn't change during the 12 months following surgery. Baseline BCVA and subfoveal IZ at baseline were prognostic factors for the final BCVA.

Keywords

Epiretinal membrane, retina, pars plana vitrectomy, vitreous/endophthalmitis, retinal pathology/research, anatomy/biochemistry/physiology

Date received: 21 January 2020; accepted: 10 May 2020

Introduction

Epiretinal membranes (ERM) is a common retinal condition resulting from the contractile fibrocellular proliferation over the inner limiting membrane (ILM).^{1,2} ERM can occur without history of any ocular pathology or previous surgery, being termed idiopathic or primary (iERM). Those associated with previous ocular conditions (i.e. central or branch retinal vein occlusion, diabetic retinopathy, uveitis or rhegmatogenous retinal defects), trauma or surgery are called secondary ERM.¹ A classification of severity of ERMs taking into account the reflection and the distortion of the retina surface was proposed by Gass, who described

¹Ophthalmology Department, Hospital de Braga, Rua das Sete Fontes, Braga, Portugal

²Faculdade de Medicina Universidade do Porto, Alameda Prof. Hernâni Monteiro, Porto, Portugal

³Escola de Medicina da Universidade do Minho, Campus de Gualtar, Braga, Portugal

⁴Ophthalmology Department, Centro Hospitalar S. João, Alameda Prof. Hernâni Monteiro, Porto, Portugal

[#]Both these authors should be considered as joint first authors.

Corresponding author:

Keissy Sousa, Ophthalmology Department, Hospital de Braga, Sete Fontes, S. Vitor, Braga 4710-243, Portugal.
Email: keissy.sousa@gmail.com

three stages: Stage 0 consists of a cellophane maculopathy with increased light reflex and few retinal distortions. As the membrane grows it can contract and create superficial retinal folds (stage 1) or develop massive folds that make the retina surface look opaque (stage 2).^{1,2} These fibrotic membranes can create tangential traction on the macula resulting in macular edema, metamorphopsias, and central vision impairment.^{1,2}

Multiple studies involving optical coherence tomography (OCT) confirmed it to be a quantitative, objective, and feasible tool in the non-invasive visualization of the anatomy of the retina. Spectral-domain OCT (SD-OCT) is widely used in the diagnosis and assessment of ERM. Over the years, several SD-OCT classification systems were proposed based on the patterns of retinal distortion caused by the ERM. On OCT, ERM appear as a highly reflective layer over the inner retinal surface. It can be associated with a loss of the foveal depression, disorganization of the retinal inner layers (DRIL), increased thickness of the external retina and/or central foveal area, disruption of the ellipsoid zone (EZ) and of the interdigitation zone (IZ).^{3,4}

Pars plana vitrectomy (PPV) with removal of the ERM with or without ILM peeling is the standard treatment, however, clinical outcomes vary. Many studies have addressed this issue, and several factors have been found to be associated with postoperative visual acuity, nevertheless, the results have not been consistent.^{1,3} The main purpose of this study was to characterize and assess the potential effect of baseline retinal layers and visual acuity in the post-surgery best-corrected visual acuity (BCVA) of patients diagnosed with ERM submitted to PPV.

Methods and materials

Participants

A retrospective and longitudinal study was conducted in the Ophthalmology Department of a tertiary hospital in Portugal. This study included 128 eyes from 121 patients that underwent PPV with peeling of the iERM and the ILM between January 2016 and December 2017. This study was approved by the Human Research Ethics Committee of the *Hospital de Braga* and adhered to the tenets of Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from the patient before the surgical procedure.

Procedures

All patients underwent a comprehensive non-invasive eye exam performed by ophthalmologists as standards of care. Data regarding age, gender, lens status, and past medical history were collected. Examination included protocol refraction BCVA on decimal scale, intraocular pressure measurement, slit-lamp, dilated fundus examination, and

SD-OCT examination at baseline, month 1, month 3, month 6, and month 12 post-operatively.

Optical tomography coherence analysis

Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) was used to measure retinal thickness and evaluate the retinal layers. The OCT imaging technique consisted in obtaining a macular square ($20 \times 20^\circ$) composed of 25 horizontal B-scans, spaced at $240 \mu\text{m}$ and an axial resolution of $5 \mu\text{m}$. Each B-scan was averaged nine times (ART 9). Additionally, two high-quality, horizontal and vertical line scans centered on the fovea were obtained for each eye. The presumed foveal center was determined as the area lacking the inner retinal layers in the macular region. Central macular thickness (CMT) was determined automatically by the software as the distance between ILM and inner surface of the RPE (retinal pigment epithelium) centered on the fovea. DRIL was defined as the horizontal extent in microns for which any boundaries between the ganglion cell–inner plexiform layer complex, inner nuclear layer, and outer plexiform layer could not be identified. The ONL thickness was measured manually at the fovea on the most hyporeflective external layer at the central fovea, between the outer plexiform layer and the external limiting membrane (ELM). If any disruption of any nature of the central foveal millimeter of the ELM, EZ, and IZ was observed, it was classified as absent while a complete integrity was considered as present.

Two independent graders (KS and TF), who were unaware of the patients' clinical information, performed all the measurements. When the two readers had different interpretations, a discussion was carried out by a third grader (MF) to reach a conclusion.

Inclusion/exclusion criteria

Adult patients (≥ 50 years-old) with a diagnosis of iERM with surgical treatment indication due to decreasing visual acuity or distortion were included. Exclusion criteria included concomitant retinal diseases, any other optic nerve or corneal pathology, poor image quality, lack of data to continue the study, and the occurrence of intra or post-operatively complications.

Surgical procedure

Patients were treated with 23G PPV using the CONSTELLATION Vision System (Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, TX, USA). A central vitrectomy was performed in all eyes. We used intravitreal triamcinolone (40 mg/dL , Kenalog) to facilitate visualization and removal of adherent posterior cortical vitreous. Triamcinolone was used to help to identify the ERM and Brilliant Blue R[®] was used to identify the ILM that were removed in all cases

with high-magnification visualization provided by contact lens. ERM was removed using end-gripping forceps (Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, TX, USA) from the central macula area up to the vascular arcades. All phakic eyes combined phacoemulsification with intraocular lens implantation.

Statistical analysis

Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software version 25.0 (IBM Corporation) was used to statistical analysis. Visual acuity was converted to the logarithm of minimum angle of resolution (logMAR) units for statistical analyses.⁵ The procedure assumption of normality was verified with Kolmogorov–Smirnov test. Continuous data were described as mean (M) $\pm$ standard-deviation (SD) or median (Mdn) and minimum to maximum values if it had normal or non-normal distribution, respectively. Paired sample *T*-test, Wilcoxon Signed Rank Test or McNemar Test were used to compare the previous and final results on BCVA and the retinal layers. Mann–Whitney *U* were applied to compare differences between groups. Spearman's rho evaluated correlations between final BCVA and different variables. Multiple linear regression using the backward conditional method to exclude possible confounders was used to figure out if any of the significant variables were predictors of visual acuity in ERM surgery. A *p*-value < 0.05 was considered statistically significant in these exploratory analyses and the effect power is always presented as possible.

Results

Between January 2016 and December 2017, a total of 232 PPV from 223 patients were coded as ERM. Sixty-two eyes were classified as secondary ERM and were therefore excluded. We excluded 42 eyes due to lack of intraoperative confirmation of diagnosis ($n=18$), data outside from the studied period ($n=6$), lack of appropriate follow-up ($n=12$), coexistence of optic nerve and corneal pathology ($n=3$), and post-operative complications such as retinal detachment ($n=1$), endophthalmitis ($n=1$), and anterior segment toxic syndrome ($n=1$).

The study protocol included 128 eyes of 121 patients. Table 1 showed demographic characteristics and clinical features of the studied population. A total of 74 (57.8%) eyes were phakic and were submitted to combined cataract surgery and PPV.

Isolated surgery versus combined surgery

In the group of pseudophakic patients at baseline, it was revealed a significant improvement from the initial BCVA of Mdn=0.5 (0.1–1.30) logMAR to Mdn=0.2 (0–0.7) final BCVA (Wilcoxon, $p < 0.001$). Similarly, in the combined

Table 1. Demographic and clinical features of the studied population.

Characteristics	Total of patients	<i>p</i> -value
Age (years)		
M (SD)	72.92 (± 7.252)	
Median (min, max)	73 (51.91)	
Gender		
Male— <i>n</i> (%)	61 (50.4%)	1
Female— <i>n</i> (%)	60 (49.6%)	
Total	121	
Characteristics	Total of eyes	<i>p</i> -value
Laterality		
OD— <i>n</i> (%)	66 (51.6%)	0.790
OS— <i>n</i> (%)	62 (48.4%)	
Phakic status		
Phakic— <i>n</i> (%)	74 (57.8%)	0.092
Pseudophakic— <i>n</i> (%)	54 (42.2%)	
Total	128	

M: mean; SD: standard deviation; *n*: absolute frequency; %: percentage; OD: right eye; OS: left eye.

surgery group there was an increase from the initial BCVA of Mdn=0.5 (0.1–1.30) logMAR to 0.2 (0–1.30) final BCVA (Wilcoxon, $p < 0.001$). No statistically significant differences were observed between the visual gains between the two groups (Mann–Whitney *U*; $p=0.93$) and both groups were combined for the following statistical analysis. When considering both groups, there was a significant recovery in BCVA from baseline to 12 months post-operatively from Mdn=0.50 (0.1–1.30) logMAR to Mdn=0.2 (0–1.30) logMAR (Wilcoxon, $p < 0.001$)—Table 2.

Anatomic behavior of retinal layers

There was a significant reduction of 84.5 μ m on CMT and of 13 μ m on the ONL. There was a significant improvement in DRIL from 69.1% to 33.9%, ELM from 80.2% to 90.9%, and EZ from 83.8% to 94.2%. It wasn't recorded any improvement from baseline IZ during the follow-up period (from 79.3% to 78.2%)—Table 2 and Figure 1.

Independent correlations between final BCVA and baseline variables

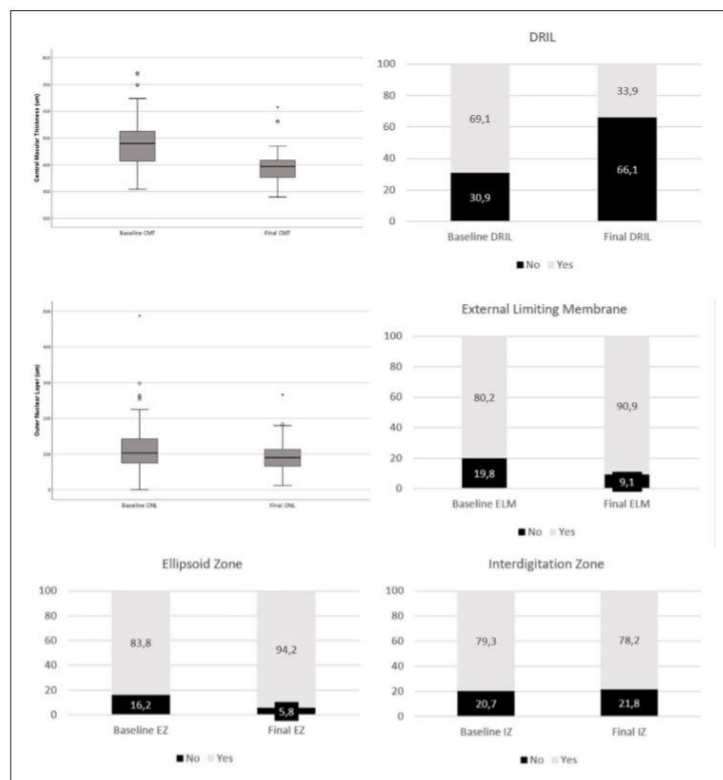
There was a negative, statistically significant correlation between BCVA and the baseline subfoveal integrity of EZ, $p < 0.001$. Also the baseline subfoveal status of the IZ correlated negatively with BCVA, $p < 0.001$. That means that the presence of EZ and IZ were correlated with better visual acuity. Baseline BCVA had a positive correlation with postoperative BCVA, $p < 0.001$. The other studied SD-OCT parameters didn't correlate with the final BCVA—Table 3.

Table 2. Best-corrected visual acuity and retinal layers at baseline and final evaluation.

	Baseline	Final	Statistical test, p-value
Best-corrected visual acuity (logMAR)	0.50 (0–1.30)	0.2 (0–1.30)	Wilcoxon, $p < 0.001^*$
Central macular thickness	476.1 ± 87.5	391.6 ± 53.9	Paired-samples t-test, 95% CI 69.2 to 99.8, $p < 0.001^*$
Disorganization of retinal inner layers (% absence)	30.9%	66.1%	McNemar, $p < 0.001^*$
Outer nuclear layer	103 (0–487)	90 (12–266)	Wilcoxon, $p < 0.001^*$
External limiting membrane (% presence)	80.2%	90.9%	McNemar, $p = 0.01^*$
Ellipsoid zone (% presence)	83.8%	94.2%	McNemar, $p = 0.03^*$
Interdigitation zone (% presence)	79.3%	78.2%	McNemar, $p = 0.68$

There was a significant improvement in all parameters with exception of interdigitation zone, which remains before and after epiretinal membrane surgery. Median and minimum and maximum values are presented in best-corrected visual acuity and outer nuclear layer. Mean $\pm$ standard-deviation are presented in central macular thickness.

*Statistically significant.

**Figure 1.** Baseline and final parameters of the evaluated retinal layers.

There was a significant reduction regarding the CMT and ONL. A significant DRIL, ELM, and EZ improvement were observed. IZ was maintained. Values from DRIL, ELM, EZ, and IZ are presented as percentage. CMT: central macular thickness; DRIL: disorganization of retinal inner layers; ELM: external limiting membrane; EZ: ellipsoid zone; IZ: interdigitation zone; ONL: outer nuclear layer.

Table 3. Results from correlation tests to assess a possible correlation between the studied variables at baseline and the final BCVA.

Correlation test		Final BCVA	
		Correlation coefficient	p-value
Pearson	Baseline CMT	0.129	0.199
Pearson	Baseline ONL	-0.092	0.360
Spearman's	Baseline DRIL	-0.124	0.217
Spearman's	Baseline ELM	-0.141	0.082
Spearman's	Baseline EZ	-0.327	<0.001*
Spearman's	Baseline IZ	-0.318	<0.001*
Spearman's	Baseline BCVA	0.410	<0.001*

Visual acuity were correlated negatively with baseline ellipsoid and interdigitation zone and positively with baseline BCVA. CMT: Central Macular Thickness; ONL: outer nuclear layer; DRIL: disorganization of retinal inner layers; ELM: external limiting membrane; EZ: ellipsoid zone; IZ: interdigitation zone; BCVA: best-corrected visual acuity.

*Statistically significant.

Predictors of final BCVA

A linear regression model was performed to identify if any of the variables that were independently correlated with better final visual acuity and were predictors in the univariate model were also predictors of final BCVA. Variables included were baseline BCVA, EZ, and IZ which contributed to 38%, $\text{adj } r^2=0.38$ ($p < 0.001^*$) of the final BCVA. Only two variables, an intact IZ and baseline BCVA were considered predictive factors. The presence of the interdigitation zone at baseline predicts a final visual acuity improvement of -1.10 logMAR, whilst in patients in which the interdigitation zone was absent, visual acuity only improved -0.14 logMAR ($p=0.005$). A baseline BCVA of 0.20 logMAR, predicts a final BCVA of 0.10 logMAR whilst a patient with an initial BCVA of $+1$ logMAR is predicted to have a final BCVA of 0.70 logMAR ($p < 0.001$). Of these two variables, baseline BCVA was the most important predictor (unstandardized B of -0.12 for baseline BCVA vs 0.53 for baseline IZ).

Discussion

The main purpose of this study was to identify predictive factors for final BCVA after iERM peeling. Multiple studies are available but the heterogeneity of the included variables and the different statistical analysis have made it difficult to compare the numerous and diverse results.^{3,5-19} In our study we included both functional—preoperative BCVA—and anatomic features—SD-OCT of the outer retinal layers. Analyzing all external retinal layers has the potential to help us identify which patients would benefit most from PPV. The decision on surgical treatment depends on symptoms and its duration, visual needs of the patient, age, fellow eye

status, and comorbidities.^{1,20} Different authors have evidenced the positive effect of PPV with ERM peeling in the recovery of visual acuity in patients with ERM.^{1,2,6,21-24} We have found an improvement in visual acuity from 0.5 logMAR to 0.2 logMAR, which corresponds to an increase of approximately three lines in the Snellen charts, which was similar to the results described by other authors in their analysis.^{9,25,26} This increase on BCVA was independent of the phakic status of the patient, because both phakic and pseudophakic eyes were considered in our sample and no significant differences were noted in both pre and post-operative BCVA (Mann-Whitney U ; $p=0.93$). Concomitant or subsequent cataract surgery was also proved to be the same in terms of refractive error, BCVA, or CMT.²⁷

Several studies have identified the association between baseline BCVA and postoperative BVCA as an independent correlator or as an univariate regression analysis.^{3,6,10,19,25} Our results are consistent with these studies showing a positive predictive value of baseline BCVA in final BCVA. Even if preoperative lower BCVA lead to a bigger improvement after PPV, a better baseline BCVA could lead to a better final vision.

Regarding the anatomical behavior of the retinal layers, there was an overall improvement in the evaluated retinal layers. CMT decreased by $84.5 \mu\text{m}$ until the end of follow-up time. This can arise from the removal of tangential force exerted by the ERM as noted from other authors.^{1,2,23,28,29} However, in this study the CMT was not proved to be neither a correlative or predictor of postoperative BCVA as previously observed.^{3,18} This suggests that the reduction of light transmission across a thickened retina is not causative of the decreased vision in ERM, but it results from morphologic changes in the retina as referred by Watanabe et al. and Massin et al.^{30,31}

The ONL contains the cellular bodies of the photoreceptors and changes in the ONL layer may result in transmission of the insult to the photoreceptors.³² This may be caused by the inner traction forces toward the vitreous that may lead to the formation of cysts in the ONL and cytoarchitectural changes at the level of the photoreceptors layer.³⁰ In our study there was an overall reduction of $13 \mu\text{m}$ in the thickness of the ONL until the end of the follow-up time. This may suggest a decrease in the size of the cysts as the tangential force exerted by the ERM decreases. However, ONL thickness was not an important predictor of final BCVA in our study as shown by other authors.^{17,30} ELM and EZ analysis revealed a global increase in about 10%–15% of patients during the study period as previously described by Inoue et al. and other authors.^{10,33,34} Neither one of these layers are predictors of final BCVA, despite several descriptions of more severe pathologies and of longer duration altering the entire external retina.^{3,13,17}

DRIL as defined as the disorganization of the inner retina represents the inability of transmission of information between photoreceptors and ganglion cells. The

presence of DRIL decreases in more than 50% of patients throughout the study period, suggesting that the remaining tissue has the ability to reorganize the inner retinal layers as suggested by other authors.^{14,35} However, this reorganization appears not to be totally effective since DRIL does not appear to correlate or predict final BCVA. Only the DREAM study tried to assess if DRIL would be a good predictor of visual acuity in primary ERM.¹⁴ This study stated that DRIL correlates with final BCVA and therefore can be used as a predictive factor of the postoperative BCVA.¹⁴ This disparity can result from the quantitative and qualitative measures that classify the regularity of the inner retinal layers and the discrimination between them.

Of all the retinal layers studied, the integrity of the subfoveal IZ at baseline was the most important factor in the visual recovery of the patients. The IZ is formed by the scattering from the tips of cone outer segments, which are shorter than rods outer segments, consisting of a sort of communication between photoreceptors outer segments and RPE cell processes. The disruption of the IZ is observed in several macular pathologies and is seen as an early sign of photoreceptor damage.^{36,37} Patients whose IZ was absent had no improvement of this layer after the surgery. This could be due to non-recovering of this layer or due to surgical manipulation of the ERM or persistent postoperative inflammation influencing the photoreceptors alignment as noted by Inoue et al. who described a temporary disruption of the IZ after surgery.³³ However, our study also showed that final BCVA is largely dependent on the integrity of the IZ: an intact subfoveal IZ at baseline correlates with better final BCVA. This suggests that the superficial tangential force generated by the ERM can alter the interface between the outer segments of the photoreceptors and the RPE but only in some cases, it is severe enough to damage the photoreceptors cell bodies. This could explain the stability or low progression of vision decrease in ERM. Shimozone et al. suggests a hierarchy of vulnerability between IZ, EZ, and ELM, with the IZ being the most susceptible to disruption when photoreceptor damage is present.⁵ This fact can be illustrated in more vision-threatening conditions such as age-related macular degeneration, where the IZ is frequently degenerated and EZ and ELM are not present in many cases,³⁸ or in the case of macular holes, where the disruption of the EZ is more common, whereas the ELM is frequently spared and IZ recovery is only observed in eyes with an intact EZ and ELM following surgery.⁴

Both the status of the baseline EZ, IZ, and the baseline BCVA revealed a correlation with the final BCVA. However, after an univariate analysis, we ran a multivariate regression analysis and baseline BCVA and the status of the initial IZ proved to be an effective predictor of final BCVA. Observing the initial visual acuity as the detailed imaging of the microstructures of the photoreceptors,

particularly of the IZ, obtained by SD-OCT can help us determine which patients with ERM would benefit from surgical treatment with PPV. Other authors have described the relevance of the IZ in predicting the results of ERM surgery.^{12,15}

Most studies have used independent correlations for determining the best predictors of final visual acuity.^{7,9,14,16} Most studies in the literature have analyzed the predictive value of the ellipsoid layer (previously described as the IS/OS (inner segment/outer segment) junction or the PROS (Photoreceptor Outer Segment) length (defined as the distance from the inner surface of IS/OS band to the inner surface of RPE). Most papers described that the presence of this SD-OCT band has predictive value for a better final visual acuity. However, we believe that the sole evaluation of IS/OS junction or PROS length can be superficial as pathological abnormalities of the photoreceptors may affect various retinal bands and not only the ellipsoid layer. The interaction between all the different layers may probably help us predict better the final visual acuity of an iERM patient than the individual analysis of one layer. From our study, we concluded that if a patient had a present ellipsoid layer but a poor interdigitation zone, then his visual prognosis would be worse than a patient with an intact interdigitation zone. On the other hand, multiple studies included analysis of the inner retina but excluded the external retinal bands. These division of predictive factors can induce errors in the decision to perform PPV to iERM peeling.^{7,10,13,16,17,22,30,33,34,39,40} A strength of our study is that we used a multivariate analysis with all individualized outer retinal layers and we included the functional features. However we acknowledge several limitations due to its retrospective nature and patients were submitted to PPV by different surgeons; still it tries to reflect the everyday clinical practice.

Conclusion

In conclusion, this study confirms that PPV allows reversal of the anatomical alterations induced by the tractional forces of the ERM. BCVA and all retinal layers, except IZ showed an improvement 12 months after ERM peeling. In patients where the IZ was not present, there wasn't an improvement due to macular surgery. This could mean that it is not expected to recover anatomically and this may have implications on the visual recovery of the patient. Furthermore, the baseline BCVA and the integrity of the subfoveal IZ were shown to be predictors of final BCVA suggesting that this biomarker could help us determine which patients would benefit the most from PPV.

Declaration of conflicting interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

ORCID iDs

Keissy Sousa  <https://orcid.org/0000-0002-8209-6901>

Petra Gouveia  <https://orcid.org/0000-0003-0524-068X>

Manuel Falcão  <https://orcid.org/0000-0003-4718-0910>

References

- Flaxel CJ, Adelman RA, Bailey ST, et al. Idiopathic ERM and VMT PPP. *Am Acad Ophthalmol*. Epub ahead of print 25 September 2019. DOI: 10.1016/j.ophtha.2019.09.022.
- Bu S-C, Kuijjer R, Li X-R, et al. Idiopathic epiretinal membrane: a systematic review. *Acta Ophthalmol Scand* 2015; 93(3): 203–212.
- Scheerlinck LME, Valk R and Leewen R. Predictive factors for postoperative visual acuity in idiopathic epiretinal membrane: a systematic review. *Acta Ophthalmol Scand* 2015; 93(3): 203–212.
- Mitamura Y, Mitamura-Aizawa S, Katome T, et al. Photoreceptor impairment and restoration on optical coherence tomographic image. *J Ophthalmol* 2013; 2013: 518170.
- Shimozono M, Oishi A, Hata M, et al. The significance of cone outer segment tips as a prognostic factor in epiretinal membrane surgery. *Am J Ophthalmol* 2012; 153(4): 698–704.
- Song SJ, Kuriyan AE and Smiddy WE. Results and prognostic factors for visual improvement after pars plana vitrectomy for idiopathic epiretinal membrane. *Retina* 2015; 35(5): 866–872.
- Kim JH, Kim YM, Chung EJ, et al. Structural and functional predictors of visual outcome of epiretinal membrane surgery. *Am J Ophthalmol* 2012; 153(1): 103–110.
- Tranos P, Wickham L, Derveniz N, et al. The role of membrane-inner retina adherence in predicting simultaneous internal limiting membrane peeling during idiopathic epiretinal membrane surgery. *Eye* 2017; 31(4): 636–642.
- Barth T, Zeman F, Helbig H, et al. Value of preoperative optical coherence tomography for predicting visual outcome after epiretinal membrane surgery. *Int Ophthalmol* 2014; 34(4): 773–779.
- Suh MH, Seo JM, Park KH, et al. Associations between macular findings by optical coherence tomography and visual outcomes after epiretinal membrane removal. *Am J Ophthalmol* 2008; 147(3): 473–480.
- Sheales MP, Kingston ZS and Essex RW. Associations between preoperative OCT parameters and visual outcome 3 months postoperative in patients undergoing vitrectomy for idiopathic epiretinal membrane. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2016; 254(10): 1909–1917.
- Itoh Y, Inoue M, Rii T, et al. Correlation between foveal cone outer segment tips line and visual recovery after epiretinal membrane surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(12): 7302–7308.
- Oster SF, Mojana F, Brar M, et al. Disruption of the photoreceptor inner segment/outer segment layer on spectral domain-optical coherence tomography is a predictor of poor visual acuity in patients with epiretinal membranes. *Retina* 2010; 30(5): 713–718.
- Zur D, Iglicki M, Feldinger L, et al. Disorganization of retinal inner layers as a biomarker for idiopathic epiretinal membrane after macular surgery—the DREAM study. *Am J Ophthalmol* 2018; 196: 129–135.
- Hosoda Y, Ooto S, Hangai M, et al. Foveal photoreceptor deformation as a significant predictor of postoperative visual outcome in idiopathic epiretinal membrane surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56(11): 6387–6393.
- Cho KH, Park SJ, Cho JH, et al. Inner-retinal index predicts postoperative visual prognosis in idiopathic epiretinal membrane. *Am J Ophthalmol* 2016; 168: 139–149.
- Shiono A, Kogo J, Klose G, et al. Photoreceptor outer segment length: a prognostic factor for idiopathic epiretinal membrane surgery. *Ophthalmology* 2013; 120(4): 788–794.
- Jeon S, Jung B and Lee WK. Long-term prognostic factors for visual improvement after epiretinal membrane removal. *Retina* 2019; 39(9): 1786–1793.
- Laban KG, Scheerlinck LME and van Leeuwen R. Prognostic factors associated with visual outcome after pars plana vitrectomy with internal limiting membrane peeling for idiopathic epiretinal membrane. *Ophthalmologica* 2015; 234(3): 1119–1126.
- Fraser-Bell S, Guzowski M, Rohtchina E, et al. Five-year cumulative incidence and progression of epiretinal membranes: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2003; 110(1): 34–40.
- Romano MR, Cennamo G, Schiesser S, et al. Deep and superficial OCT angiography changes after macular peeling: idiopathic vs diabetic epiretinal membranes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017; 255: 681–689.
- Inoue M, Arakawa A, Yamane S, et al. Long-term outcome of preoperative disrupted inner/outer segment junctions assessed using spectral-domain optical coherence tomography in patients with idiopathic epiretinal membrane. *Ophthalmologica* 2012; 228(4): 222–228.
- Lee P-Y, Cheng K-C and Wu W-C. Anatomic and functional outcome after surgical removal of idiopathic macular epiretinal membrane. *Kaohsiung J Med Sci* 2011; 27(7): 268–275.
- Pesin SR, Olk J, Grand G, et al. Vitrectomy for premacular fibroplasia. *Ophthalmology* 1991; 98(7): 1109–1114.
- Dawson S, Shunmugam M and Williamson T. Visual acuity outcomes following surgery for idiopathic epiretinal membrane: an analysis of data from 2001 to 2011. *Eye* 2014; 28(2): 219–224.
- Hardin JS, Gauldin DW, Soliman MK, et al. Cataract surgery outcomes in eyes with primary epiretinal membrane. *JAMA Ophthalmol* 2018; 136(2): 148–154.
- Hamoudi H, Christensen UC and Cour ML. Epiretinal membrane surgery: an analysis of 2-step sequential- or combined phacovitrectomy surgery on refraction and macular anatomy in prospective trial. *Acta Ophthalmologica* 2018; 96(3): 243–250.
- Tranos P, Koukoulas S, Charteris DG, et al. The role of internal limiting membrane peeling in epiretinal membrane surgery: a randomized controlled trial. *Br J Ophthalmol* 2016; 101(6): 719–724.
- Diaz-Valverde A and Wu L. To peel or not to peel the internal limiting membrane in idiopathic epiretinal membranes. *Retina* 2018; 38: S5–S11.

30. Watanabe K, Tsunoda K, Mizuno Y, et al. Outer retinal morphology and visual function in patients with idiopathic epiretinal membrane. *JAMA Ophthalmol* 2013; 131(2): 172–177.
31. Massin P, Allouch C, Haochine B, et al. Optical coherence tomography of idiopathic macular epiretinal membranes before and after surgery. *Am J Ophthalmol* 2000; 130(6): 732–739.
32. Falkner-Radler CI, Glittenberg C, Hagen S, et al. Spectral-domain optical coherence tomography for monitoring epiretinal membrane surgery. *Ophthalmology* 2010; 117(4): 798–805.
33. Inoue M, Morita S and Watanabe Y. Inner segment/outer segment junction assessed by spectral-domain optical coherence tomography in patients with epiretinal membrane. *Am J Ophthalmol* 2010; 150(6): 834–839.
34. Hashimoto Y, Saito W, Saito M, et al. Retinal outer layer thickness increases after vitrectomy for epiretinal membrane, and visual improvement positively correlates with photoreceptor outer segment length. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013; 252(2): 219–226.
35. Mimouni M, Segev O, Dori D, et al. Disorganization of the retinal inner layers as a predictor of visual acuity in eyes with macular edema secondary to vein occlusion. *Am J Ophthalmol* 2017; 184: 190–191.
36. Spaide R and Curcio CA. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography. *Retina* 2011; 31(8): 1609–1619.
37. Filho MAB and Witkin AJ. Outer retinal layers as predictors of vision loss. *Rev Ophthalmol* 2015.
38. Oishi A, Hata M, Shimozone M, et al. The significance of external limiting membrane status for visual acuity in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2010; 150(1): 27–32.e1.

OUTROS TRABALHOS

APRESENTAÇÕES EM CONGRESSOS NACIONAIS E INTERNACIONAIS

- Coriorretinopatia Central Serosa Crónica: Resultados da Terapia Fotodinâmica. **Sousa K**, Leite R, Falcão M, Queirós L. 2ª Reunião Científica do Grupo de Estudos da Retina de Portugal. Março 2017. [Poster]
- Central Serous Retinopathy: Photodynamic Therapy and Real-life Results. **Sousa K**, Costa J, Falcão M, Calvão-Santos G, Queirós L. 17th EVRS Meeting. Setembro 2017. [Comunicação Oral]
- Outer Retinal Layers as Predictors of Visual Acuity in Retinitis Pigmentosa: a cross-sectional study. Fernandes T, **Sousa K**, Gentil R, Mendonça L, Falcão M. 18º EURETINA Congress. Setembro 2018. [Comunicação Oral]
- A Retina Externa como Preditor da Acuidade Visual na Terapia Fotodinâmica *Half-Dose* em Doentes com Coriorretinopatia Serosa Central Crónica. Queirós T, Viana AR, Queirós L, Falcão M, **Sousa K**. Retina Iberica. Novembro 2018. [Poster – 2º Prémio]
- Resultados Anatomo-Funcionais na Terapia Fotodinâmica na Coriorretinopatia Serosa Central Crónica. Oliveira E, Queirós T, Viana AR, Queirós L, Falcão M, **Sousa K**. 61º Congresso Português de Oftalmologia. Dezembro 2018. [Comunicação Oral]
- Fatores Preditivos da Tomografia de Coerência Ótica no tratamento da Terapia Fotodinâmica na Coriorretinopatia Serosa Central. Oliveira E, Queirós T, Viana AR, Queirós L, Falcão M, **Sousa K**. 61º Congresso Português de Oftalmologia. Dezembro 2018. [Comunicação Oral]
- Significado Funcional da Presença de Tecido Ectópico Foveal em pacientes com MER. Costa J, João M, Calvão-Santos G, Gomes N, Mendonça L, Guimarães S, Gentil R, **Sousa K**. 61º Congresso Português de Oftalmologia. Dezembro 2018. [Comunicação Oral]

- Resultados Anatomofuncionais do Laser Micropulsado 532 nm na Coriorretinopatia Serosa Central Crónica. João M, Costa J, Queirós L, Falcão M, **Sousa K**. 61º Congresso Português de Oftalmologia. Dezembro 2018. [Comunicação Oral]
- Simetria Interocular da Integridade das Camadas Externas da Retina avaliadas por Tomografia de Coerência Ótica em doentes com Retinopatia Pigmentar. Fernandes T, **Sousa K**, Falcão M. 61º Congresso Português de Oftalmologia. Dezembro 2018. [Comunicação Oral]
- Zona Elipsóide como Preditora da Acuidade Visual nas Membranas Epirretinianas Idiopáticas submetidas a Vitrectomia Via Pars Plana. Fernades T., **Sousa K**, Azevedo I, Calvão-Santos G, Guimarães S, Gentil R, Mendonça L, Gomes N, Falcão M. 4ª Reunião Científica do Grupo de Estudos de Retina de Portugal. Fevereiro 2019. [Poster]
- Predictive SD-OCT features in Idiopathic Epiretinal Membranes. **Sousa K**, Azevedo I, Gouveia P, Mendonça L, Gentil R, Calvão-Santos G, Gomes N, Falcão M. 19th EVRS Meeting. Junho 2019. [Comunicação Oral]

▪ ATIVIDADE ACADÉMICA

- Orientação da tese de Mestrado Integrado em Medicina da aluna Ana Rita Marques Viana – “A Retina Externa Como Preditor Da Acuidade Visual Na Terapia Fotodinâmica *Half-Dose* Em Doentes Com Coriorretinopatia Serosa Central Crónica.” [Ano Letivo 2018-2019]¹¹³
- Orientação da tese de Mestrado Integrado em Medicina da aluna Inês Alexandra Azevedo – “Análise Das Diferentes Camadas Da Retina Na Acuidade Visual Nas Membranas Epirretinianas Idiopáticas Submetidas A Vitrectomia Via Pars Plana.” [Ano Letivo 2018-2019]¹¹⁴
- Orientação da tese de Mestrado Integrado em Medicina do aluno Luís Carlos Gomes Ferreira – “O Efeito da Pelagem da Membrana Limitante Interna na Taxa de Redescolamentos nos Descolamentos da Retina com *Mácula off*.” [Ano Letivo 2019-2020]

- Orientação da tese de Mestrado Integrado em Medicina da aluna Rafaela Gomes Novera – **“Buraco Macular Idiopático: Resultados nas Diferentes Técnicas Cirúrgicas.”** [Ano Letivo 2019-2020]
- Orientação da Tese de Mestrado Integrado em Medicina do aluno Pedro Daniel Perdigão Gomes – **“A Tomografia de Coerência Ótica na Retinopatia Pigmentar.”** [Ano Letivo 2019-2020]
- Orientação da tese de Mestrado Integrado em Medicina da aluna Filipa Ferreira – **“Lente Intraocular de Afaquia: via escleral vs via corneana.”** [Ano Letivo 2020-2021]
- Orientação da tese de Mestrado Integrado em Medicina da aluna Filipa Figueiredo – **“Fatores Preditivos no Sucesso Anatômico e Funcional na Cirurgia do Buraco Macular.”** [Ano Letivo 2020-2021]

■ OUTROS ARTIGOS CIENTÍFICOS

- **Sousa K**, Calvão-Santos G, Costa J, Ferreira L, Mendonça L, Gentil R, Gomes N. Anatomic and Functional Results of ILM Peeling vs Non-Peeling in Macula-off Primary Retinal Detachments. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 258, 2105–2110 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00417-020-04775-9>.
- Pinto C, Novera R, Fernandes T, Mendonça L, Calvão-Santos G, Gentil R, Gomes N, **Sousa K**. Buraco Macular Idiopático: Resultados Anatômicos e Funcionais a 12 meses nas Diferentes Técnicas Cirúrgicas. Revista da Sociedade Portuguesa de Oftalmologia, 44(3), 2020.

DISCUSSÃO

O OCT macular é atualmente um dos meios complementares de diagnóstico mais amplamente utilizados na consulta de oftalmologia. A observação de forma não-invasiva da anatomia microscópica da retina tornou possível um estudo mais detalhado das camadas da retina, nomeadamente das bandas externas da retina, com os equipamentos mais recentes de alta-resolução.^{8, 10, 27} Tendo em conta os elevados recursos humanos e financeiros inerentes à patologia retiniana, o seu estudo mais aprofundado pode otimizar o diagnóstico, seguimento e tratamento dos doentes, sendo uma mais-valia para o trabalho diário. Assim, este projeto tem como objetivo avaliar o impacto das bandas externas da retina no prognóstico das doenças maculares.

As doenças escolhidas para alvo de estudo têm mecanismos fisiopatológicos subjacentes diferentes entre si. A MER, uma patologia da retina interna que provoca tração vitreomacular, a RP como patologia dos fotorreceptores e a RSC como patologia da coróide e da retina externa abrangem localizações diferenciadoras entre si.^{8, 29, 51, 79} Foi um desafio poder contar uma história relativa a estas patologias que, ao mesmo tempo, se diferenciam e se unem entre si. O resultado dos trabalhos realizados mostrou que diferentes camadas da retina externa podem ser prognósticas nas distintas patologias.¹¹⁵⁻¹¹⁷

No âmbito da RP foram realizados dois trabalhos.^{116, 118} O primeiro, foi um estudo transversal com 48 olhos de 22 doentes com RP com o objetivo de avaliar a associação das bandas externas da retina analisadas por SD-OCT com a MAVC (logMAR). Ambos os olhos demonstraram uma boa correlação na MAVC ($rs(22)=.95$, $p<0.001$), pelo que para a restante análise foram utilizados os dados do OE. De todas as camadas analisadas a ZE é a que mais frequentemente está ausente (79.2% na ZE versus 70.8% na ZI e 45.8% na MLE). No que respeita às correlações independentes, está correlacionado de forma positiva com o tempo de diagnóstico ($rs(20)=0.45$, $p=0.04$) e história familiar ($rs(19)=0.44$, $p=0.048$). Todas as camadas do SD-OCT analisadas demonstram uma correlação negativa com a MAVC (logMAR) - CNE ($rs(22)=-0.63$, $p=0.001$), MLE

($rs(24)=-0.78, p<0.001$), ZE ($rs(22)=-0.72, p<0.001$) e ZI ($rs(22)=-0.48, p=0.02$). A análise de regressão linear demonstrou que a ZE tem uma associação com a MAVC ($B=-1.23, p=0.002$ (CI 95% -2.25 a -0.20). Isto indica que nas mesmas condições, a presença isolada da ZE melhora 0.37 logMAR a MAVC, comparativamente a outro doente sem ZE.

Foi também realizado um estudo transversal com 58 olhos de 29 doentes com o objetivo de analisar a simetria das camadas externas da retina, observável por SD-OCT. A simetria interocular nesta patologia já estava descrita como característica fundoscópica e reproduzível na alteração campimétrica, autofluorescência e estudo eletrofisiológico.³³⁻³⁵ No entanto, a simetria no SD-OCT não estava descrita. Verificou-se boa correlação da MAVC entre ambos os olhos ($r=0.899, p<0.001$). Relativamente às camadas avaliadas por SD-OCT verificou-se concordância em todas as analisadas, em que a ZE é a que se apresenta com maior simetria – CNE ($rs=0.881; p=0.001$), MLE simétricas em 79.3%, ZE em 89.7% e ZI em 75.9%. O número de camadas afetadas é também simétrico entre ambos os olhos. Por último, verificou-se uma associação entre a simetria na MAVC e a simetria nas bandas externas da retina.

Assim, a ZE mostrou-se como preditora da acuidade visual na RP. Pensa-se que esta camada é formada essencialmente por mitocôndrias da camada elipsoide da porção externa dos segmentos internos dos fotorreceptores ou pelas ligações dos segmentos internos e externos dos fotorreceptores.^{10, 119} A RP é uma patologia lentamente progressiva em que a degeneração dos fotorreceptores e do EPR levam a uma baixa visão.²⁷ A perda dos fotorreceptores centrais é característica do OCT.²⁷ A medição do comprimento da linha IS/OS (atual ZE) já tinha sido descrita para estimar a visão central residual.²⁷ A sua diminuição é acompanhada da diminuição da sensibilidade retiniana e do agravamento funcional destes doentes.²⁷ Histologicamente, o encurtamentos dos segmentos externos dos fotorreceptores são o primeiro sinal de disfunção, além da densificação citoplasmática, alongamento axonal e morte celular. Estas alterações são concordantes com alterações no OCT. Em diversas patologias retinianas (como na DMI) demonstrou-se desorganização da linha COST, seguida da linha IS/OS (atual ZE) e finalmente da

MLE.²⁷ Contudo, o nosso trabalho mostrou a ZE como a camada mais ausente em 79.2% dos casos, seguida da ZI em 70.8% e por último a MLE em 45.8%.¹¹⁶ Apesar da linha IS/OS ser a correspondente à atual ZE, a verdade é que a ZI contém também as células dos segmentos externos dos fotorreceptores o que pode explicar os nossos resultados. Além disso, Battu et al. não encontrou correlação entre a afetação da linha COST e a alteração da sensibilidade campimétrica nos doentes com RP, o que leva a equacionar-se que neste caso o mecanismo de afetação tomográfico e das bandas externas da retina pode ser diferente da maioria das patologias retinianas.²⁴ Apesar da ZE ser a preditora da MAVC, esta também está associada ao número de camadas afetadas o que demonstra que a progressão da patologia pode estar associada aos achados neste meio complementar de diagnóstico, que são também simétricos, como descritos no nosso estudo e em Matsuo et al.^{43, 118} Além disso, a correlação do tempo de diagnóstico com a MAVC foi de 8.3% ($p=0.04$).¹¹⁶ Seria interessante no futuro poder integrar estes achados com resultados de outros meios complementares de diagnóstico como a avaliação campimétrica, autofluorescência ou estudo eletrofisiológico.^{24, 42, 44, 120} Tendo em conta que o diagnóstico da população estudada foi clínico, poderia também ser interessante confrontar os resultados com os estudos genéticos. Um estudo prospetivo e com seguimento mais prolongado poderia também suportar os achados e adicionar novas informações.

No âmbito da RSC foram publicados dois trabalhos.^{115, 121} No primeiro, foi realizado um estudo coorte retrospectivo que incluiu 61 olhos de 42 doentes com o objetivo de analisar a associação entre as bandas externas da retina e a resposta anatómica após tratamento com HD-PDT. A resposta anatómica foi definida como a reabsorção de $\geq 50\%$ do FSR, observado em 75.4% dos olhos. A acuidade visual final foi estatisticamente significativa melhor no grupo de resposta ao tratamento (R), comparativamente ao grupo não-respondedor (NR) ($U=156, z=-3.08, p=0.002$). Relativamente às variáveis iniciais, a CNE mostrou-se mais espessa no grupo R (43.5 ± 22.9 vs $23.9 \pm 32.2 \mu m, p=0.01$) e as bandas externas da retina demonstraram maior presença no mesmo grupo. Estas camadas demonstraram correlação independente com a resposta anatómica. No

modelo de análise univariada para análise da resposta anatômica, foram incluídas as seguintes variáveis iniciais: MAVC, CNE, ZE e ZI. No modelo de análise multivariada, a CNE foi a única que demonstrou ser preditora da resposta anatômica ($B=1.04$, $p=0.02$, CI 95% 1.007 a 1.071). Estes dados indicam que por cada aumento de 10 μm na CNE, existe um aumento de 45.7% de probabilidade na resposta anatômica ao tratamento com HD-PDT.

Ainda no âmbito da RSC, foi publicado um estudo coorte retrospectivo que incluiu 26 olhos com o objetivo de avaliar a eficácia do LMP de 532 nm no tratamento da RSC crônica. Sendo inexistente a informação publicada com o LMP com este comprimento de onda, foi realizada primariamente a análise da eficácia, antes de se proceder à avaliação de possíveis fatores preditores. Não se verificaram melhorias da MAVC após 12 semanas de tratamento e não se observaram alteração das camadas da retina avaliadas por SD-OCT: espessura da ECM, CNE, FSR e EC, assim como a integridade ou ruptura da MLE, ZE e ZI. A resposta anatômica foi comprovada em 50% dos olhos e em 42.3% verificou-se um ganho de MAVC médio de 0.16 ± 0.15 logMAR. Assim, o LMP 532 nm na RSC crônica, comprovou-se ineficaz, no entanto, tendo em conta o baixo número e as características dos doentes envolvidos poderá haver lugar para um subgrupo de pacientes que poderá beneficiar deste tratamento.

Na análise das diferentes camadas retinianas realizada neste projeto, a CNE foi a que se mostrou preditora da resposta anatômica na RSC crônica tratada com HD-PDT.¹¹⁵ Vários foram os estudos que mostraram que o tratamento, independentemente do protocolo escolhido, não afeta a CNE e que esta se correlaciona de forma negativa com a MAVC.^{52, 55, 58, 61, 63} A diminuição da espessura indica que os fotorreceptores estão diminuídos pela apoptose.^{61, 122} A desintegração dos segmentos externos e a fagocitose pelos macrófagos ou as células microgliais levam a desestruturação dos fotorreceptores e à diminuição da espessura da ZE.⁵⁶ Especula-se que a redução contínua da espessura da CNE advém da morte das células dos fotorreceptores após o descolamento neurosensorial, através da apoptose, necroptose, autofagia e infiltração

microglial e dos macrófagos.⁵⁶ Por outro lado, Ersoz et al descreveram que a diminuição da espessura da CNE começa antes da acumulação de FSR devido à isquemia proveniente da coriocapilar.⁵⁹ Deste modo, faz sentido que a CNE seja preditora da resposta anatómica ao tratamento, já que esta pode ser premonitória da resposta visual, não estando no entanto diretamente correlacionada.^{115, 122-124}

Por outro lado, a resposta visual foi também analisada noutro trabalho realizado.¹¹³ A MLE, a ZE e a EC mostraram-se preditores da MAVC, além da CNE.¹¹³ A integridade primariamente da MLE e depois da ZE indicam que o ciclo de destruição dos fotorrecetores não está concluído e que a MAVC após o tratamento poderá ser superior.¹¹³ Shimizu et al constataram que a distância que inclui as bandas externas da retina está reduzida nos doentes submetidos a HD-PDT e HF-PDT e que esta medida se correlaciona com a MAVC.⁵⁷ Rijssen et al. mostraram também que a CNE, MLE e ZE estariam correlacionadas com a MAVC.⁶² Por outro lado, a EC apresentou um impacto negativo na MAVC final. Tal como referido previamente, pensa-se que esta patologia está ligada à hiperpermeabilidade dos vasos coroídeos, cuja disrupção da circulação leva à descompensação do EPR com subsequente passagem de fluido para o espaço subretiniano.^{8, 51-53} Assim, uma maior EC pode estar ligada a uma maior alteração deste mecanismo fisiopatológico e a uma pior MAVC final. É de realçar que estes resultados foram obtidos a partir da utilização da terapêutica em meia-dose. A amostra também mostrou uma idade média superior às publicações existentes. A maioria dos trabalhos publicados são apresentados com a dose convencional ou em meia-fluência. No futuro, poderá ser desejável realizar a terapêutica antes de ser observável o dano retiniano aparentemente irreversível que provoca alterações anatómicas e funcionais. A comparação dos doentes cuja toma de corticoide está associada, assim como o estudo de um subgrupo de doentes naïve poderá ser benéfico para comprovar estes dados.

No âmbito da MER, foi realizado um estudo coorte retrospectivo que incluiu 128 olhos de 121 doentes submetidos a VPP por MER idiopática, com o objetivo de analisar a associação entre as

diferentes camadas da retina – ECM, DRIL, CNE, MLE, ZE e ZI - e a MAVC de base como fatores preditivos da MAVC final.¹¹⁷ Após 12 meses do tratamento cirúrgico, observou-se uma melhoria da MAVC e de todas as camadas da retina, exceto a ZI que se manteve como previamente. Na análise de correlação independente, verificou-se que a presença da ZE ($p < 0.001$) e da ZI ($p < 0.001$) está correlacionado com uma MAVC final e que existe uma associação positiva entre a MAVC inicial ($p < 0.001$) e final. No entanto, a análise multivariada mostra que a ZI ($p = 0.005$) e a MAVC iniciais ($p < 0.001$) são os biomarcadores para uma melhor visão após a VPP. Assim, a presença da ZI prediz uma melhoria da MAVC de $-1.10 \log\text{MAR}$, comparativamente à ausência desta camada que prediz uma melhoria de $-0.14 \log\text{MAR}$. Se um paciente tiver uma MAVC inicial de $0.20 \log\text{MAR}$, pode estimar-se uma MAVC final de $0.03 \log\text{MAR}$, comparativamente a uma MAVC inicial de $0.8 \log\text{MAR}$ que se estima uma MAVC final de $0.29 \log\text{MAR}$.

A ZI foi a camada retiniana preditora das MER. Nesta patologia, as forças tracionais geradas por esta podem alterar a interface entre o topo dos segmentos externos dos fotorreceptores e o EPR (correspondente à zona ZI) sem dano severo dos fotorreceptores.²⁷ São inúmeros os trabalhos publicados em que se tentam mostrar os fatores preditivos na cirurgia de MER.¹⁰⁹ A MAVC prévia é a mais consistentemente encontrada.^{91, 100, 107, 108} No entanto, as variáveis estudadas não englobam o estudo de toda a área macular como o realizado neste projeto.

Shiono et al. demonstrou que a distância dos segmentos externos dos fotorreceptores (PROS) - que inclui a ZE e a ZI - é preditora da MAVC aos 6 meses em doentes submetidos a cirurgia macular por MER, excluindo a MAVC prévia.¹⁰⁹ No entanto, esta medida é menos específica do que a utilizada no nosso trabalho em que se particularizaram as diferentes bandas da retina externa. Jeon et al. e Cho et al. mostraram uma associação da retina interna com a MAVC após VPP. No entanto, a medida utilizada para avaliar a retina externa foi horizontal na área subfoveal e numa avaliação em que correlacionava o comprimento da CPI com o EPR.^{91, 108} No entanto é curioso que se verificou uma correlação independente com a integridade da ZI e a MAVC.^{91, 108} A falta de

coerência na forma de avaliação das bandas externas, o número de doentes envolvidos, o período de seguimento e o equipamento escolhido para análise poderá ser o principal fator para a diferença dos resultados obtidos.¹⁰⁷

Vários autores já descreveram uma maior recuperação visual quando existe a presença de ZE observada no TD-OCT na cirurgia do buraco macular.^{27, 125} Na mesma cirurgia, foi descrita que a recuperação das bandas externas dá-se da região interna para a externa (MLE, ZE e ZI) observável no SD-OCT.²⁷ Na transposição dos resultados para a cirurgia de MER, esta pode ser a justificação para que a ZI tenha sido a única banda preditora da MAVC final nos doentes operados a MER. Por outro lado, em cirurgia macular por edema macular diabético, existem estudos que mostram a MLE como maior preditora da MAVC.¹²⁶ Neste caso, a presença das células de Muller nesta camada e a sua função como barreira são explicativas deste resultado. Por outro lado, as grandes alterações estruturais retinianas devido ao edema macular severo, pode ocultar a observação das bandas mais externas, o que poderá enviesar os resultados finais.¹²⁶

No que respeita ao impacto cirúrgico nas camadas da retina, verificamos que existe um ganho em todos os parâmetros incluídos, exceto na ZI. É de esperar que os doentes que tenham ausência da integridade foveal da ZI, não a recuperem depois da cirurgia e que o a MAVC final seja menor. Hashimoto et al mostraram existir um ganho na distância de PROS após VPP por MER idiopática. Tal como referido previamente, a inclusão da ZE e da ZI na mesma camada pode enviesar estes resultados.¹⁰³

Seria interessante poder integrar os resultados tomográficos com outros meios complementares de diagnóstico, como a autofluorescência, microperimetria e estudo eletrofisiológico.^{94, 99, 127} A comparação das medidas de PROS com a avaliação específica das bandas externas, assim como um maior detalhe na classificação das mesmas, poderia ser interessante para comprovar estes resultados.

CONCLUSÃO

O projeto realizado envolveu uma análise retrospectiva de três patologias retinianas com mecanismos fisiopatológicos distintos. A análise retrospectiva tem as desvantagens conhecidas como a limitação dos dados disponíveis mas tem a vantagem do reconhecimento da prática clínica realizada diariamente. Para cada uma das patologias apresentadas, demonstrou-se que as bandas externas da retina podem estar envolvidas como biomarcadores de prognóstico.

Parece compreensível que a RP como patologia que se inicia pela degeneração dos fotorreceptores e do EPR tenha a ZE, formada essencialmente por mitocôndrias da camada elipsoide da porção externa dos segmentos internos dos fotorreceptores ou pelas ligações dos segmentos internos e externos dos fotorreceptores, como fator preditivo principal. Por outro lado, a RCS como patologia de hiperpermeabilidade dos vasos coroideus e disrupção do EPR apresenta a CNE como fator preditor de resposta anatômica ao tratamento com HD-PDT. Neste âmbito, é de notar que a isquemia proveniente da coriocapilar, assim como a permanência do FSR levem a uma redução contínua da espessura da CNE através da apoptose, necroptose, autofagia e infiltração microglial e dos macrófagos. Por último, a MER é uma patologia da interface vitreoretiniana que pode levar a alterações de toda a citoarquitetura retiniana pela força tangencial da mesma. Assim, a ZI como biomarcador prognóstico pode ser explicado pela afetação da interface entre o topo dos segmentos externos dos fotorreceptores e o EPR (correspondente à zona ZI) causada pela MER.

É de realçar que a retina como estrutura altamente complexa, organizada por camadas, cada uma com uma função específica na transformação do estímulo luminoso em um impulso nervoso pode ser globalmente afetada mesmo quando as patologias parecem afetar áreas específicas da mesma. As bandas da retina externa têm sido relacionadas com a função visual em diversas patologias.^{119, 128} Pelo trabalho desenvolvido observa-se que as diferentes patologias afetam de forma diferente as bandas da retina externa. É importante ressaltar que as bandas da retina externa pertencem a um complexo fotorreceptor neurónio altamente diferenciado e que querer

apontar o processo fisiopatológico a uma só banda é com certeza redutor. Uma análise cuidada das mesmas pode trazer-nos benefício na orientação terapêutica dos doentes.

REFERÊNCIAS

1. Schubert HD, Atebara NH, Kaiser RS, et al. Retina and Vitreous, 2014-2015.
2. Agarwal A. Gass's Atlas of Macular Diseases, 5th ed. Elsevier: Elsevier.
3. Pulido JS. The Requisites in Ophthalmology: Retina, Choroid and Vitreous: Mosby, 2002.
4. Nischal K, Pearson A. Kanski, Jack J - Clinical Ophthalmology: a systematic approach: Elsevier, 2011.
5. Levine LM, Brar VS, Goldstein MH, et al. Neural Retina - The Photoreceptors. Fundamentals and Principles of Ophthalmology: Basic and Clinical Science Course: American Academy of Ophthalmology, 2015.
6. Gregg RG, Singer J, Kamermans M, McCall MA, Massey SC. Basic Science and Translation to Therapy: Function and Anatomy of the Mammalian Retina: Elsevier, 2018.
7. Chen J, Sampath AP. Structure and Function of Rod and Cone Photoreceptors. Ryan's Retina: Elsevier, 2018.
8. Waheed NK, Kashani AH, Filho CA, Duker JS, Rosenfeld PJ. Optical Coherence Tomography, 6th ed. In: Schachar AP, editor. Ryan's Retina: Elsevier Inc., 2018:102-112.
9. Saxena S, Srivastav J, Cheung CM, Ng JY, Lai TY. Photoreceptor inner segment ellipsoid band integrity on spectral domain optical coherence tomography. Clinical Ophthalmology 2014;8:2507-2522.
10. Spaide R, Curcio CA. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography. Retina 2011;31:1609-1619.
11. Tao LW, Wu Z, Guymer RH, Luu CD. Ellipsoid Zone on Optical Coherence Tomography: a review. Clinical and Experimental Ophthalmology 2016;44:422-430.
12. Tick S, Rossant F, Ghorbel I, et al. Foveal Shape and Structure in a Normal Population. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011;52:5105-5110.
13. Staurengi G, Sadda S, Chakravarthy U, Spaide RF. Proposed Lexicon for Anatomic Landmarks in Normal Posterior Segment Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. Ophthalmology 2014;121:1572-1578.
14. Seixas M. Principios Gerais do OCT. In: Carneiro A, editor. OCT: Sociedade Portuguesa de Oftalmologia, 2016:21-30.
15. Fujimoto JG, Brezinski ME, Tearney GJ, Boppart SA, Bouma B, Hee MR. Optical biopsy and imaging using optical coherence tomography. Nat Med 1995;1:970-972.
16. Wotjtkowski M. High-speed optical coherence tomography: basics and applications. Appl Opt 2010;49:D30-61.
17. Adhi M, Duker KS. Optical coherence tomography - current and future applications. Curr Ophthalmol 2013;24:213-21.
18. Sull AC, Vuong LN, Srinivasan VJ, et al. The Evolution of Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. Retina Today, 2008:39-44.
19. Mori K, Kanno J, Gehlbach PL. Retinochoroidal morphology described by wide-field montage imaging of spectral domain optical coherence tomography. Retina 2016;36:375-384.
20. Dhoot DS, Huo S, Yuan A, et al. Evaluation of choroidal thickness in retinitis pigmentosa using enhanced depth imaging optical coherence tomography. Br J Ophthalmol 2013;97:66-9.
21. Falcão M. "Swept-Source". OCT: Sociedade Portuguesa de Oftalmologia, 2016:31-32.
22. Huang D, Swanson EA, Lin CP. Optical coherence tomography. Science 1991;254:1178-1181.
23. Aizawa S, Mitamura Y, Baba T, Hagiwara A, Ogata K, Yamamoto S. Correlation between visual function and photoreceptor inner/outer segment junction in patients with retinitis pigmentosa. Eye (Lond) 2009;23:304-8.
24. Battu R, Khanna A, Hegde B, Berendschot TT, Grover S, Schouten JS. Correlation of structure and function of the macula in patients with retinitis pigmentosa. Eye (Lond) 2015;29:895-901.
25. Oster SF, Mojana F, Brar M, Yuson RMS, Cheng L, Freeman WR. Disruption of the Photoreceptor Inner Segment/Outer Segment Layer on Spectral Domain Optical Coherence

- Tomography is a Predictor of Poor Visual Acuity in Patients with Epiretinal Membranes. *Retina* 2010;30:713-718.
26. Drexler W, Sattmann H, Hermann B. Enhanced visualization of macular pathology with the use of ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 2003;121:695-706.
 27. Mitamura Y, Mitamura-Aizawa S, Katome T, et al. Photoreceptor impairment and restoration on optical coherence tomographic image. *J Ophthalmol* 2013;2013:518170.
 28. Murthy RK, Haji S, Sambhav K, Grover S, Chalam KV. Clinical applications of spectral domain optical coherence tomography in retinal diseases. *Biomedical Journal* 2016;39:107-120.
 29. Gregory-Evans K, Weleber RG, Pennesi ME. Retinitis Pigmentosa and Allied Disorders. In: Schachat AP, editor. *Ryan's Retina*: Elsevier:861-917.
 30. Berson EL, Sandberg MA, Rosner B, Birch DG, Hanson AH. Natural Course of Retinitis Pigmentosa Over a Three-Year Interval. *American Journal of Ophthalmology* 1985;99:240-251.
 31. Verbakel SK, vanHuet RA, Boon CJ, et al. Non-syndromic retinitis pigmentosa. *Prog Retin Eye Res* 2018;66:157-186.
 32. Szlyk JP, Seiple W, Xie W. Symmetry Discrimination in Patients with Retinitis Pigmentosa. *Vision Res* 1995;35:1633-1640.
 33. Bellingrath J-S, Ochakovski GA, Seitz IP, et al. High Symmetry of Visual Acuity and Visual Fields in RPGR-Linked Retinitis Pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58:4457-4466.
 34. Massof RW, Finkelstein D, Starr SJ, Kenyon KR, Fleischman JA, Maumenee IH. Bilateral Symmetry of Vision Disorders in Typical Retinitis Pigmentosa. *Br J Ophthalmol* 1979;63:90-96.
 35. Sujirakul T, Davis R, Erol D, et al. Bilateral Concordance of the Fundus Hyperautofluorescent Ring in Typical Retinitis Pigmentosa Patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;36:113-122.
 36. Garcia-Martin E, Pinilla I, Sancho E, et al. Optical Coherence Tomography in Retinitis Pigmentosa. *Retina* 2012;X:1-11.
 37. Gerald A Fishman RJA, Peter Lourenço. Prevalence of Posterior Subcapsular Lens Opacities in Patients with Retinitis Pigmentosa. *Br J Ophthalmol* 1985;69:263-266.
 38. Apushkin MA, Fishman GA, Janowicz MJ. Monitoring cystoid macular edema by optical coherence tomography in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 2004;111:1899-904.
 39. Gorovoy IR, Gallagher DS, Eller AW, Mayercik VA, Friberg TR, Schuman JS. Cystoid macular edema in retinitis pigmentosa patients without associated macular thickening. *Semin Ophthalmol* 2013;28:79-83.
 40. Braimah IZ, Sumpala S, Chhablani J. Outer Retinal Tubulation in Retinal Dystrophies. *Retina* 2017;37:578-584.
 41. Sandberg MA, Brockhurst RJ, Gaudio AR, Berson EL. The association between visual acuity and central retinal thickness in retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3349-54.
 42. Oishi A, Ogino K, Makiyama Y, Nakagawa S, Kurimoto M, Yoshimura N. Wide-field fundus autofluorescence imaging of retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 2013;120:1827-34.
 43. Matsuo T, Morimoto N. Visual acuity and perimacular retinal layers detected by optical coherence tomography in patients with retinitis pigmentosa. *Br J Ophthalmol* 2007;91:888-90.
 44. Lupo S, Grenga PL, Vingolo EM. Fourier-domain optical coherence tomography and microperimetry findings in retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 2011;151:106-11.
 45. Liu G, Li H, Liu X, Xu D, Wang F. Structural analysis of retinal photoreceptor ellipsoid zone and postreceptor retinal layer associated with visual acuity in patients with retinitis pigmentosa by ganglion cell analysis combined with OCT imaging. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e5785.
 46. Menghini M, Lujan BJ, Zayit-Soudry S, Duncan JL. Correlation of Outer Nuclear Layer Thickness with Cone Density Values in Patients with Retinitis Pigmentosa and Healthy Subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:372-381.
 47. Bakthavatchalam M, Lai FHP, Rong SS, Ng DS, Brelen ME. Treatment of cystoid macular edema secondary to retinitis pigmentosa: a systematic review. *Surv Ophthalmol* 2017.

48. Huang Q, Chen R, Lin X, Xiang Z. Efficacy of carbonic anhydrase inhibitors in management of cystoid macular edema in retinitis pigmentosa: A meta-analysis. *PLoS One* 2017;12:e0186180.
49. Dias MF, Joo K, Kemp JA, et al. Molecular Genetics and Emerging Therapies for Retinitis Pigmentosa: Basic Research and Clinical Perspectives. *Prog Retin Eye Res* 2017;63:107-131.
50. Fahim A. Retinitis Pigmentosa: recent advances and future directions in diagnosis and management. *Curr Opin Pediatr* 2018;30:725-733.
51. Lam D, Das S, Liu S, Lee V, Lu L. Central Serous Chorioretinopathy. In: Schachat AP, editor. *Ryan's Retina*: Elsevier, 2018:1465-1483.
52. Ruiz-del-Tiempo MP, Calvo P, Ferreras A, Leciñena J, Pablo L, Ruiz-Moreno O. Anatomical Retinal Changes after Photodynamic Therapy in Chronic Central Serous Chorioretinopathy. *Journal of Ophthalmology* 2018;2018:1-4.
53. Salehi M, Wenick AS, Law HA, Evans JR, Gehlbach P. Interventions for central serous chorioretinopathy: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Re* 2016;12.
54. Nicholson BP, Idris AMA, Bakri SJ. Central Serous Chorioretinopathy: Clinical Characteristics Associated with Visual Outcomes. *Semin Ophthalmol* 2018;33:804-807.
55. T Hasegawa MO, N Masuda, T Ueda, N Ogata. Relationship between foveal microstructures and visual outcomes in eyes with resolved central serous retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2015;253:343-350.
56. Yu J, Jiang C, Xu G. Correlations Between Changes in Photoreceptor Layer and Other Clinical Characteristics in Central Serous Chorioretinopathy. *Retina* 2018;0:1-7.
57. Asano KS, Asaoka R, Asano S, Azuma K, Inoue T, Obata R. Elongated Photoreceptor Outer Segment Length and Prognosis of Chronic Central Serous Chorioretinopathy. *Retina* 2019;0:1-8.
58. Ozdemir I, Eren A, Ersoz G. Outer Nuclear Layer Thickness at the Central Fovea Relation with symptom duration in Central Serous Chorioretinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018;39:1323-1328.
59. Ersoz MG, Karacorlu M, Arf S, Hocaoglu M, Muslubas IS. Outer Nuclear Layer Thinning in Paquychoroid Pigment Epitheliopathy. *Retina* 2018;38:957-961.
60. Matsumoto H, Kishi S, Otani T, Sato T. Elongation of photoreceptor outer segment in central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2008;145:162-168.
61. Matsumoto H, Sato T, Kishi S. Outer nuclear layer thickness at the fovea determines visual outcomes in resolved central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2009;148:105-10 e1.
62. Rijssen TJv, Mohabati D, Dijkman G, et al. Correlation between redefined optical coherence tomography parameters and best-corrected visual acuity in non-resolving central serous chorioretinopathy treated with half-dose photodynamic therapy. *PLoS One* 2018;13:e0202549.
63. Ohkuma Y, Hayashi T, Sakai T, Watanabe A, Tsuneoka H. One-year results of reduced fluence photodynamic therapy for central serous chorioretinopathy: the outer nuclear layer thickness is associated with visual prognosis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;251:1909-17.
64. Goldhagen BE, Goldhardt R. Diagnosed a Patient with Central Serous Chorioretinopathy? Now What? Management of Central Serous Chorioretinopathy. *Curr Ophthalmol Rep* 2017;5:141-148.
65. Group TS. Photodynamic Therapy of Subfoveal Choroidal Neovascularization in Age-related Macular Degeneration with Verteporfin: one-year results of 2 randomized clinical trials - TAP Report. *Arch Ophthalmol* 2000;118:488.
66. Chan WM, Lim T-H, Pece A, Silva R, Yoshimura N. Verteporfin PDT for non-standard indications - a review of current literature. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010;248:613-626.
67. Sheptulin V, Purtshvanidze K, Roider J. Half-time photodynamic therapy in treatment of chronic central serous chorioretinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018.
68. Wood EH, Karth PA, Sanislo SR, Moshfeghi DM, Palanker DV. Nondamaging Retinal Laser Therapy for Treatment of Central Serous Chorioretinopathy. *Retina* 2017;37:1021-1033.

69. Malik KJ, Sampat KM, Mansouri A, Steiner JN, Glaser BM. Low-intensity/High-density Subthreshold Micropulse Diode Laser for Chronic Central Serous Chorioretinopathy. *Retina* 2015;35:532-536.
70. Arsan A, Kanar HS, Sonmez A. Visual Outcomes and Anatomic Changes after Subthreshold Micropulse Yellow Laser (577 nm) treatment for Chronic Central Serous Chorioretinopathy: long-term follow-up. *Eye (Lond)* 2018;32:726-733.
71. Ntomoka CG, Rajesh B, Muriithi GM, Goud A, Chhablani J. Comparison of Photodynamic Therapy and Navigated Microsecond Laser for Chronic Central Serous Chorioretinopathy. *The Royal College of Ophthalmologists* 2017;32:1079-1086.
72. Scholz P, Ersoy L, Boon CJF, Fauser S. Subthreshold Micropulse Laser (577 nm) Treatment in Chronic Central Serous Chorioretinopathy. *Ophthalmologica* 2015;234:189-194.
73. Gawecki M, Jaszczuk-Maciejewska A, Jurska-Jasko A, Grzybowski A. Functional and Morphological Outcome in Patients with Chronic Central Serous Chorioretinopathy treated by subthreshold micropulse laser. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017;255:2299-2306.
74. Dijk EHCv, Fauser S, Breukink MB, et al. Half-Dose Photodynamic Therapy versus High-Density Subthreshold Micropulse Laser Treatment in Patients with Chronic Central Serous Chorioretinopathy: The Place Trial. *Ophthalmology* 2018;0.
75. Russo A, Turano R, Morescalchi F, et al. Comparison of half-dose photodynamic therapy and 689 nm laser treatment in eyes with chronic central serous chorioretinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017;255:1141-1148.
76. Ozmert E, Demirel S, Yanik O, Batioglu F. Low-Fluence Photodynamic Therapy versus Subthreshold Micropulse Yellow Wavelength Laser in the Treatment of Chronic Central Serous Chorioretinopathy. *Hindawi Publishing Corporation - Journal of Ophthalmology* 2016:1-8.
77. Roca JA, Wu L, Fromow-Guerra J, et al. Yellow (577 nm) micropulse laser versus half-dose verteporfin photodynamic therapy in eyes with chronic central serous chorioretinopathy: results of the Pan-American Collaborative Retina Sturdy (PACORES) Group. *Br J Ophthalmol* 2018;102:1696-1700.
78. Behnia M, Khabazkhoob M, Aliakbari S, Abadi AE, Hashemi H, Pourvahidi P. Improvement in Visual Acuity and Contrast Sensitivity in Patients with Central Serous Chorioretinopathy after Laser Macular Subthreshold Laser Therapy. *Retina* 2013;33:324-8.
79. Wickman L, Konstandinidis L, Wolfensberger TJ. Epiretinal Membranes, Vitreoretinal Traction, and Cystoid Macular Edema. In: Schachat AP, editor. *Ryan's Retina*: Elsevier, 2018:2194-2212.
80. Emptage NP, Mizuiri D, Bagley L, Lum FC. Idiopathic Epiretinal Membrane and Vitreomacular Traction. In: Garratt S, editor. *Preferred Practice Pattern: American Academy of Ophthalmology*, 2015:152-181.
81. Agarwal A. Macular Dysfunction caused by Vitreous and Vitreoretinal Interface Abnormalities. In: Elsevier, editor. *Gass's Atlas of Macular Diseases*: Elsevier:629-712.
82. Donati S, Caprani SM, Semeraro F, et al. Morphological and Functional Retinal Assessment in Epiretinal Membrane Surgery Seminars in Ophthalmology 2016:1-8.
83. Mitchell P, Smith W, Chey T, Wang JJ, Chang A. Prevalence and associations of epiretinal membranes. The Blue Mountains Eye Study, Australia. *Ophthalmology* 1997;104:1033-40.
84. Klein R, Klein BE, Wang Q, Moss SE. The epidemiology of epiretinal membranes. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1994;92:403-30.
85. Fraser-Bell S, Guzowski M, Rochtchina E, Wang JJ, Mitchell P. Five-year cumulative incidence and progression of epiretinal membranes: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2003;110:34-40.
86. Bu S-C, Kuijjer R, Li X-R, Hooymans JMM, Los LI. Idiopathic Epiretinal Membrane. *Retina* 2014;34:2317-2335.
87. 2018-2019 RVPPP. Idiopathic ERM and VMT PPP. *American Academy of Ophthalmology: Elsevier*, 2019.

88. Inoue M, Morita S, Watanabe Y. Inner segment/outer segment junction assessed by spectral-domain optical coherence tomography in patients with epiretinal membrane. *Am J Ophthalmol* 2010;150:834-9.
89. Michalewski J, Michalewska Z, Cisiecki S, Nawrocki J. Morphologically functional correlations of macular pathology connected with epiretinal membrane formation in spectral optical coherence tomography (SOCT). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:1623-31.
90. Watanabe A, Arimoto S, Nishi O. Correlation between metamorphopsia and epiretinal membrane optical coherence tomography findings. *Ophthalmology* 2009;116:1788-93.
91. Jeon S, Jung B, Lee WK. Long-term Prognostic Factors for Visual Improvement after Epiretinal Membrane Removal. *Retina* 2018;0:1-8.
92. Watanabe K, Tsunoda K, Mizuno Y, Akiyama K, Noda T. Outer Retinal Morphology and Visual Function in Patients with Idiopathic Epiretinal Membrane. *JAMA Ophthalmol* 2013;131:172-177.
93. Arichika S, Hangai M, Yoshimura N. Correlation Between Thickening of the Inner and Outer Retina and Visual Acuity in Patients with Epiretinal Membrane. *Retina* 2010;30:503-508.
94. Brito PN, Gomes NL, Vieira MP, et al. Possible Role for Fundus Autofluorescence as a Predictive Factor for Visual Acuity Recovery after Epiretinal Membrane Surgery. *Retina* 2014;34:273-280.
95. Ahn SJ, Ahn J, Woo SJ, Park KH. Photoreceptor Change and Visual Outcome after Idiopathic Epiretinal Membrane Removal with or without additional Internal Limiting Membrane Peeling. *Retina* 2014;34:172-181.
96. Azuma K, Ueta T, Eguchi S, Aihara M. Effects of Internal Limiting Membrane Peeling combined with Removal of Idiopathic Epiretinal Membrane. *Retina* 2017;37:1813-1819.
97. Díaz-Valverde A, Wu L. To Peel or Not to Peel the Internal Limiting Membrane in Idiopathic Epiretinal Membranes. *Retina* 2018;38:S5-S11.
98. Obata S, Fujikawa M, Iwasaki K, et al. Changes in Retinal Thickness After Vitrectomy for Epiretinal Membrane with and without Internal Limiting Membrane Peeling. *Ophthalmic Res* 2017;57:135-140.
99. Kim JH, Kim YM, Chung EJ, Lee SY, Koh HJ. Structural and Functional Predictors of Visual Outcome of Epiretinal Membrane Surgery. *Am J Ophthalmol* 2012;153:103-110.
100. Song SJ, Kuriyan AE, Smiddy WE. Results and Prognostic Factors for Visual Improvement after Pars Plana Vitrectomy for Idiopathic Epiretinal Membrane. *Retina* 2015;35:866-872.
101. Scheerlinck LM, Valk Rvd, Leewen Rv. Predictive factors for postoperative visual acuity in idiopathic epiretinal membrane: a systematic review. *Acta Ophthalmol Scand* 2015;93:203-212.
102. Sheales MP, Kingston ZS, Essex RW. Associations Between Preoperative OCT Parameters and Visual Outcome 3 months postoperative in Patients undergoing vitrectomy for Idiopathic Epiretinal Membrane. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2016;254:1909-1917.
103. Hashimoto Y, Saito W, Saito M, et al. Retinal outer layer thickness increases after vitrectomy for epiretinal membrane, and visual improvement positively correlates with photoreceptor outer segment length. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;252:219-226.
104. Inoue M, Arakawa A, Yamane S, Kadonosono K. Long-term Outcome of Preoperative Disrupted Inner/Outer Segment Junctions Assessed Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography in Patients with Idiopathic Epiretinal Membrane. *Ophthalmologica* 2012;228:222-228.
105. Lee EK, Yu HG. Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer Thickness after Epiretinal Membrane Surgery. *Ophthalmology* 2014;121:1579-1587.
106. Treumer F, Wacker N, Junge O, Hedderich J, Roeder J, Hillenkamp J. Foveal Structure and Thickness of Retinal Layers Long-term after Surgical Peeling of Idiopathic Epiretinal Membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:744-750.
107. Laban KG, Scheerlinck LME, Leewen Rv. Prognostic Factors Associated with Visual Outcome after Pars Plana Vitrectomy with Internal Limiting Membrane Peeling for Idiopathic Epiretinal Membrane. *Ophthalmologica* 2015;234:1119-126.

108. Cho KH, Park SJ, Cho JH, Woo SJ, Park KH. Inner-retinal Index Predicts Postoperative Visual Prognosis in Idiopathic Epiretinal Membrane. *Am J Ophthalmol* 2016.
109. Shiono A, Kogo J, Klose G, et al. Photoreceptor Outer Segment Length: A Prognostic Factor for Idiopathic Epiretinal Membrane Surgery. *Ophthalmology* 2013;120:788-794.
110. Hosoda Y, Ooto S, Hangai M, Oishi A, Yoshimura N. Foveal Photoreceptor Deformation as a Significant Predictor of Postoperative Visual Outcome in Idiopathic Epiretinal Membrane Surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:6387-6393.
111. Itoh Y, Inoue M, Rii T, Hirota K, Hirakata A. Correlation Between Foveal Cone Outer Segment Tips Line and Visual Recovery After Epiretinal Membrane Surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:7302-7308.
112. Zur D, Iglicki M, Feldinger L, et al. Disorganization of Retinal Inner Layers as a Biomarker for Idiopathic Epiretinal Membrane after Macular Surgery - The DREAM Study. *Am J Ophthalmol* 2018;196:129-135.
113. Viana AR, Queirós T, Sousa K. A retina externa como preditor da acuidade visual na terapia fotodinâmica em half-dose em doentes com coriorretinopatia serosa central crónica. *ReportoriUM: Escola de Medicina da Universidade do Minho*, 2018-2019.
114. Azevedo I, Queirós T, Sousa K. Análise das Diferentes Camadas da Retina na Acuidade Visual nas Membranas Epirretinianas Idiopáticas submetidas a Vitrectomia Via Pars Plana. *Projeto Opção 6. RepositoriUM: Escola de Medicina da Universidade do Minho*, 2018/2019.
115. Sousa K, Viana AR, Pires J, Ferreira C, Queirós L, Falcão M. Outer Nuclear Layer as the Main Predictor to Anatomic Response to Half Dose Photodynamic Therapy in Chronic Central Serous Retinopathy. *Journal of Ophthalmology* 2019;2019:6 pages.
116. Sousa K, Fernandes T, Gentil R, Mendonça L, Falcão M. Outer Retinal Layers as Predictors of Visual Acuity in Retinitis Pigmentosa: a cross-sectional study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018;257:265-271.
117. Fernandes T, Sousa K, Azevedo I, et al. Baseline Visual Acuity and Interdigitation Zone as Predictors in Idiopathic Epiretinal Membranes: A Retrospective Cohort Study. *European Journal of Ophthalmology* 2020:1-8.
118. Fernandes T, Sousa K, Falcão M. Simetria Interocular da Integridade das Camadas Externas da Retina Avaliadas por Tomografia de Coerência Ótica em Doentes com Diagnóstico Clínico de Retinopatia Pigmentar. *Oftalmologia: Revista da Sociedade Portuguesa de Oftalmologia* 2019;43.
119. Turgut B, Demir T. The new landmarks, findings and signs in optical coherence tomography. *New Frontiers in Ophthalmology* 2016;2:131-136.
120. Bertolotto M, Borgia L, Lester M. Hyperautofluorescence in Outer Retinal Layers Thinning. *Journal of Ophthalmology* 2014;2014.
121. Sousa K, Calvão-Santos G, João M, Gomes N, Falcão M. 532-nm Subthreshold Micropulse Laser for the Treatment of Chronic Central Serous Retinopathy. *Clin Ophthalmol* 2020;14:525-531.
122. Piccolino FC, de la Longrais RR, Ravera G, et al. The foveal photoreceptor layer and visual acuity loss in central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2005;139:87-99.
123. Chung CY, Chan YY, Li KKW. Angiographic and Tomographic Prognostic Factors of Chronic Central Serous Chorioretinopathy Treated with Half-Dose Photodynamic Therapy. *Ophthalmologica* 2018;240:37-44.
124. Moon JW, Yu HG, Kim TW, Kim HC, Chung H. Prognostic factors related to photodynamic therapy for central serous chorioretinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247:1315-23.
125. Baba T, Yamamoto S, Arai M, et al. Correlation of visual recovery and presence of photoreceptor inner/outer segment junction in optical coherence images after successful macular hole repair. *Retina* 2008;28:453-8.

126. Chhablani JK, Kim JS, Cheng L, Kozak I, Freeman W. External limiting membrane as a predictor of visual improvement in diabetic macular edema after pars plana vitrectomy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012;250:1415-20.
127. Hibi N, Ueno S, Ito Y, Piao C-H, Kondo M, Terasaki H. Relationship Between Retinal Layer Thickness and Focal Macular Electroretinogram Components after Epiretinal Membrane Surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:7207-7214.
128. A M, Filho B, Witkin AJ. Outer Retinal Layers as Predictors of Vision Loss Review of Ophthalmology, 2015.

ANEXOS

- Parecer da Comissão de Ética para a Saúde do Hospital de Braga



Comissão de Ética para a Saúde

Data: 16-10-2017

Nossa referência: 132/2017

Relator: Juan R Garcia

Reunido
em 21.10.2017
Ass.
A. F. J. do
F. L. G. L.
30/10/17

Parecer emitido em reunião ordinária de 17 de outubro 2017

Nos termos dos Nº 1 e 6 do Artigo 16º da Lei Nº 21/2014, de 16 de Abril, a Comissão de Ética para a Saúde do Hospital de Braga (CESHB), emite o seguinte parecer relativo ao estudo "A Tomografia de Coerência Ótica: Implicações da Integridade das Bandas da Retina Externa", de que é investigador principal Keissy Joselin de Jesus Sousa, Assistente hospitalar de Oftalmologia, orientador o Prof. Dr. Manuel Alberto Almeida Sousa Falcão, Assistente Hospitalar do Centro Hospitalar de S. João; e coorientador o Dr. Fernando Vaz, Diretor do Serviço de Oftalmologia do Hospital de Braga e que decorrerá no mesmo Serviço.

A Tomografia de Coerência Ótica é uma tecnologia não-invasiva que utiliza a luz para a obtenção da imagem, através da refletividade diferente, de acordo com os tecidos analisados. Com os equipamentos atuais tem-se vindo a aprimorar a análise qualitativa (morfologia e refletividade) e quantitativa (espessura, mapeamento e volume) da arquitetura retiniana. Os estudos realizados tentam correlacionar os parâmetros qualitativos e quantitativos com as diversas patologias retinianas. Ultimamente, a análise da camada de fotorreceptores demonstrou ter uma maior correlação com a acuidade visual que a espessura retiniana, o que a torna como um melhor preditor das doenças que afetam a mácula.

Com este estudo pretende-se realizar uma tese doutoramento, baseada na Tomografia de Coerência Ótica e na Retina Externa da área macular. As patologias envolvidas no estudo são três entidades com fisiopatologia totalmente diferentes, cujo atingimento comum é a mácula. São a Membrana Epirretiniana (MER), a Coriorretinopatia Serosa Central (CSC) e a Retinopatia Pigmentar (RP).

Pág. 1 / 3

**Comissão de Ética para a Saúde**

Objetivos do estudo: Avaliar os fatores prognóstico e correlacionar a acuidade visual com as diferentes camadas da retina externa em diferentes patologias retinianas, através do OCT.

O desenho é de estudo observacional com análise retrospectiva dos doentes do Serviço de Oftalmologia mediante consulta do Processo clínico dos doentes: submetidos a vitrectomia via pars plana por Membrana Epirretiniana em 2016 e 2017; submetidos a Terapia Fotodinâmica (PDT) e laser micropulsado (LMP) por Coriorretinopatia Serosa Central, desde 2015 inclusive; e doentes com Retinopatia Pigmentar, com seguimento mínimo de 5 anos na consulta de Oftalmologia.

Os critérios de inclusão e exclusão são adequados e suficientes para os objetivos propostos, nomeadamente exclusão de outras patologias retiniana, corneana, glaucoma ou neuropatia ótica, e necessidade de OCT macular no pré e pós-operatório.

A amostragem será consecutiva. O cálculo de nº de amostragem estatisticamente significativo foi: para a MER $n=246$; para a CSC $n=50$, e para a RP $n=17$.

As variáveis a registar dizem respeito a sexo, idade, e patologias prévias nomeadamente de caráter oftalmológico.

Todo o projeto será realizado com anonimização de modo a garantir a confidencialidade dos dados em estudo.

A análise estatística será realizada no programa SPSS® Statistics v24, corresponderá à adequada para estudos observacionais, e o $p<0.005$ será considerado estatisticamente significativo.

A cronologia do Estudo será o seguinte: em 2017, colheita de dados relativos aos doentes com MER em 2016; em 2018, relativos aos doentes com CSC desde 2015 e dos doentes com MER em 2016; em 2019, colheita de dados dos doentes com RP. Paralelamente, serão enviados para publicação, em revista especializada, artigos referentes as patologias contempladas.

De sublinhar a informação do Diretor do Serviço, que afirma “a importância deste trabalho na área da retina médica e cirúrgica, com implicações futuras no prognóstico e na orientação diagnóstica e terapêutica das patologias envolvidas”.



Comissão de Ética para a Saúde

O estudo cumpre com as regras de boas práticas de investigação clínica, e foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde.

O Presidente da CESHB

(Dr. Juan R. Garcia)