

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia**

Lucas Brandolt Farias

**Análise das Alterações em Coroide e Retina em  
Pacientes com *Diabetes Mellitus* Tipo 2 e  
Microalbuminúria Utilizando Tomografia de Coerência  
Óptica de Domínio Espectral**

Porto Alegre, 2018

Lucas Brandolt Farias

**Análise das Alterações em Coroide e Retina em  
Pacientes com *Diabetes Mellitus* Tipo 2 e  
Microalbuminúria Utilizando Tomografia de Coerência  
Óptica de Domínio Espectral**

Tese apresentada para obtenção de título de Doutor em Medicina  
à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

Orientador: Prof. Dr. Daniel Lavinsky

Co-orientador: Prof. Dr. Luis Henrique Canani

Porto Alegre, 2018

## FICHA CATALOGRÁFICA

## CIP - Catalogação na Publicação

Farias, Lucas Brandolt

Análise das Alterações em Coroide e Retina em Pacientes com Diabetes Melittus Tipo 2 e Microalbuminúria Utilizando Tomografia de Coerência Óptica de Domínio Espectral / Lucas Brandolt Farias. - 2018.

96 f.

Orientador: Daniel Lavinsky.

Coorientador: Luis Henrique Canani.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Retinopatia diabética. 2. Microalbuminúria. 3. Tomografia de coerência óptica. 4. Coróide. 5. Neurodegeneração. I. Lavinsky, Daniel, orient. II. Canani, Luis Henrique, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**FOLHA DE APROVAÇÃO DA BANCA EXAMINADORA****Lucas Brandolt Farias****Análise de Alterações em Coroide e Retina em Pacientes com Diabetes Mellitus Tipo 2 e Microalbuminúria Utilizando Tomografia de Coerência Óptica de Domínio Espectral**

Tese apresentada para obtenção de título de Doutor em Medicina à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

**Porto Alegre, 17 de maio de 2018.**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese elaborada por Lucas Brandolt Farias, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Medicina.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Dr. Caio Vinicius Regatieri (EPM/ UNIFESP)

---

Prof. Dr. Fernando Gerchman (UFRGS)

---

Prof. Dr. Felipe Mallmann (HCPA)

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – análise de variância

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

DM – *Diabetes mellitus*

DM2 - *Diabetes mellitus* tipo 2

EDI – do inglês: *Enhancement Depth Imaging*

EPR – epitélio pigmentado da retina

ETDRS – do inglês: *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*

FIPE – Fundação de Incentivo à Pesquisa

HbA1c – hemoglobina glicada

ICG – Indocianina verde

OCT – tomografia de coerência óptica

RD – retinopatia diabética

SD-OCT – tomografia de coerência óptica de domínio espectral

VIGITEL – Sistema de vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico/ Ministério da Saúde

WHO – do inglês: *World Health Organization*

## SÍMBOLOS

%	porcentagem
<	menor
≤	menor ou igual
≥	maior ou igual
=	igual
±	mais ou menos
μm	micrômetros
mm	milímetros
mm <sup>2</sup>	milímetros quadrados (área)
mm <sup>3</sup>	milímetros cúbicos (volume)
vs.	<i>versus</i>

## DEDICATÓRIA

*À minha esposa Renata,  
Aos meus pais, Luciane e Lúcio,  
e aos meus irmãos Leonardo  
e João Vítor.*

## AGRADECIMENTOS

À minha linda e amada esposa, Renata, pela constante dedicação, carinho e paciência.

Aos meus pais, os primeiros e mais importantes orientadores da minha vida.

Aos meus orientadores e mestres Daniel Lavinsky e Luis Henrique Canani.

A Jacó Lavinsky, Marcelo Maestri, Diane Marinho, Jorge Esteves, João Borges Fortes Filho e todos os meus professores do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a quem devo minha formação em oftalmologia.

À equipe do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, fundamental na realização deste estudo.

À Camila Benfica, por sua ajuda fundamental na condução e revisão deste projeto.

À Mônica Oliveira, Wagner Schneider, Pedro Tetelbom pelo auxílio na organização de pacientes para avaliação.

Aos meus colegas residentes, Taís, Felipe e Bruno pela compreensão e apoio em todas as fases da minha formação.

Aos pacientes que participaram do estudo.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que me acolheu de portas abertas e me deu as ferramentas necessárias para meu desenvolvimento pessoal, acadêmico e assistencial.



*“Quanto mais aumenta nosso  
conhecimento, mais evidente fica a nossa  
ignorância”.*

*- John F. Kennedy*

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	iv
SÍMBOLOS.....	v
DEDICATÓRIA.....	vi
AGRADECIMENTO.....	vii
RESUMO.....	x
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 OBJETIVOS.....	8
1.2 JUSTIFICATIVA.....	9
<b>2 PUBLICAÇÕES.....</b>	<b>10</b>
2.1 CAPÍTULO 1.....	11
2.2 CAPÍTULO 2.....	18
2.3 CAPITULO 3.....	40
<b>3 DISCUSSÃO.....</b>	<b>62</b>
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>67</b>
A1. ABSTRACT - ARVO.....	68
A2. CARTA DE ACEITE PARA PUBLICAÇÃO - OSLI RETINA.....	73
A3. CARTA DE ACEITE PARA PUBLICAÇÃO - CLIN OPHTHALMOL.....	75
<b>REFERÊNCIAS:.....</b>	<b>76</b>

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar as alterações na coroide e na retina em pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) e microalbuminúria usando tomografia de coerência óptica de domínio espectral (SD-OCT).

**Métodos:** Estudo transversal realizado com SD-OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Alemanha) em pacientes divididos em 3 grupos: pacientes com diabetes e microalbuminúria, pacientes com diabetes e excreção urinária normal de albumina, e controles saudáveis. As medidas da espessura das camadas da retina na grade do ETDRS com segmentação automática foram realizadas em um grupo de 60 pacientes. A espessura e o volume da coroide foram medidas na grade do ETDRS após segmentação manual em 10 localidades abaixo da mácula, nasal e temporalmente, em um grupo de 58 pacientes.

**Resultados:** A espessura macular média da camada de células ganglionares apresentou um significativo afinamento localizado nos pacientes com microalbuminúria. A excreção urinária de albumina foi o único fator relacionado com essa redução em uma análise de regressão linear múltipla. A espessura e o volume médios da coroide entre pacientes com diabetes e microalbuminúria estavam reduzidos em todas as localidades medidas quando comparados aos controles. Uma redução setorizada da espessura e do volume da coroide foi demonstrada entre os grupos com microalbuminúria e com excreção urinária normal de albumina.

**Conclusões:** Houve uma perda seletiva das camadas da retina interna, e uma redução da espessura e do volume da coroide nos olhos com DM2 e microalbuminúria antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos da retinopatia diabética. A excreção urinária de albumina foi o único fator associado de maneira independente com o afinamento das camadas internas da retina.

## ABSTRACT

**Purpose:** To evaluate choroidal and retinal changes in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT).

**Methods:** A cross-sectional study was performed using the SD-OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Germany) in patients divided in three groups: diabetic patients with microalbuminuria, diabetic patients with normal urinary albumin excretion, and controls. Retinal thickness was evaluated by ETDRS grid automatic segmentation in 60 patients. Choroidal thickness and volume were mapped using the automated ETDRS grid with manual segmentation, and also measured at 10 locations under the macula, temporally and nasally, in 58 patients.

**Results:** The average and sectoral macular thicknesses of the ganglion cell layer were significantly thinner in the microalbuminuria group. Urinary albumin excretion was the only factor related to this reduction in a multiple linear regression analysis. Mean choroidal thickness and volume among patients with diabetes and microalbuminuria were reduced in all locations compared to controls. A sectoral decrease of choroidal thickness and volume was shown between microalbuminuric and normoalbuminuric groups.

**Conclusions:** A selective loss of inner retina and a reduction of the choroidal thickness and volume were present in type 2 diabetic patients before clinical development of retinopathy. Inner retinal thinning was independently associated with abnormal urinary albumin excretion.

## 1 INTRODUÇÃO

*Diabetes Mellitus* (DM) é a principal causa de morbidade e mortalidade nos Estados Unidos da América<sup>1</sup>. Nas últimas décadas, o DM progrediu de uma doença que afetava predominantemente pacientes dos países desenvolvidos para uma verdadeira epidemia mundial. A Organização Mundial de Saúde (WHO), em 1999, definiu DM como um estado de deficiência insulínica absoluta ou relativa, caracterizado por hiperglicemia e o risco de complicações micro e macrovasculares<sup>2</sup>. Foi estimado que em 2014 aproximadamente 422 milhões de pessoas em todo o mundo apresentavam DM, com a maioria sendo classificada como DM2 e síndrome metabólica. A prevalência global de diabetes entre adultos maiores de 18 anos aumentou de 4,7% em 1980 para 8,5% em 2014<sup>3</sup>. Este aumento ocorreu em grande parte nos países em desenvolvimento, especialmente devido a fatores como crescimento populacional, envelhecimento, dieta inadequada, obesidade e sedentarismo. Sua prevalência no Brasil é comparável à dos países mais desenvolvidos, em que é considerado o maior problema de saúde. Em nosso País, dados do Ministério da Saúde de 2016 do sistema de vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL), observou um aumento de 61,8% na prevalência de diabetes na última década. Nas capitais brasileiras há uma prevalência de diabetes autorreportada de 8,9%, sendo 7,8% em homens e 9,9% em mulheres<sup>4</sup>.

A retinopatia diabética (RD) é uma das principais complicações relacionadas ao DM e a principal causa de cegueira em pessoas com idade entre 20 e 74 anos<sup>5</sup>. É estimado que a RD afete até 35% de todos os pacientes com diabetes, sendo atualmente reconhecida como um importante problema de saúde pública ao redor do mundo<sup>6</sup>. Entre os fatores de risco não genéticos mais importantes se destacam a hiperglicemia sustentada, valores elevados de pressão arterial, longa duração do diabetes, nefropatia diabética, tabagismo e obesidade. Alterações vasculares retinianas, como dano endotelial, quebra da barreira hemato-retiniana, oclusões microvasculares e

isquemia tecidual retiniana crônica, são consideradas fundamentais na patogênese e na progressão da RD<sup>7</sup>. Entretanto, evidências recentes apontam que a coroide, a maior fonte de oxigênio e nutrientes da retina externa e a única responsável pelo suprimento metabólico para a região avascular da fóvea, também pode ter uma importante participação nesse processo<sup>7-11</sup>.

Devido a sua localização entre o epitélio pigmentado da retina (EPR) superiormente e a esclera com sua estrutura rígida e opaca inferiormente, a coroide é difícil de ser visualizada por métodos convencionais de imagem. Com o desenvolvimento de novas tecnologias, como a tomografia de coerência óptica (OCT) e softwares para realce da imagem nos últimos anos, tornou-se possível avaliar com maior detalhe e precisão as imagens da anatomia e topografia da coroide<sup>12</sup>.

Várias alterações na coroide foram descritas em pacientes com diabetes. O foco recente na literatura tem sido o estudo da espessura da coroide usando o OCT, que é significativamente diferente daquela em pacientes sem diabetes<sup>13-23</sup>. Entretanto, esses estudos têm produzido resultados divergentes. Uma explicação para essa variação de resultados pode ser a falta de evidência de dano microvascular na população estudada ou a presença concomitante de fatores de risco cardiovascular, como a microalbuminúria, que poderiam modular a disfunção vascular no diabetes.

Apesar da nefropatia diabética compartilhar similaridades na patogênese com a RD, elas podem não estar presentes simultaneamente em pacientes com diabetes. A ocorrência de microalbuminúria é considerada o primeiro sinal da nefropatia diabética e representa um marcador de disfunção endotelial generalizada<sup>24,25</sup>. Recentes estudos demonstraram que a microalbuminúria está associada a alterações na espessura da coroide em pacientes com diabetes e sem RD, podendo indicar uma manifestação clínica precoce do dano microvascular do diabetes no olho<sup>26</sup>.

Portanto, os resultados divergentes de estudos comparativos e a escassez de trabalhos na literatura nos motivou a avaliar as alterações precoces da coroide e da retina em pacientes com DM2 e com microalbuminúria.

## RETINOPATIA DIABÉTICA E MICROALBUMINÚRIA

A associação entre microalbuminúria e retinopatia em pacientes com DM2 é controversa. O fluxo de sangue na retina está reduzido em pacientes com doença renal diabética<sup>27</sup>. A microalbuminúria tem sido associada a um aumento na frequência dos estágios avançados da RD<sup>28</sup>, sugerindo inclusive que ela pudesse ser um marcador do desenvolvimento da RD proliferativa<sup>29,30</sup>. Entretanto, a sua relação com os estágios iniciais da retinopatia ainda não foi esclarecida. Foi demonstrado que um aumento na excreção urinária de albumina está associado ao aumento no risco de perda da camada de fibras nervosas retinianas em pacientes com DM2<sup>31</sup>.

## COROIDOPATIA DIABÉTICA

A coroide é um tecido pigmentado e ricamente vascularizado localizado entre a esclera e retina. É a principal fonte de nutrição para o EPR e as camadas mais externas da retina, recebendo aproximadamente 95% de todo fluxo sanguíneo ocular<sup>32</sup>. Investigações histológicas da coroide demonstraram que a sua espessura média é de 0,22 mm posteriormente e de 0,10 mm a 0,15 mm anteriormente, e compreende 5 camadas: membrana de Bruch, coriocapilar, camadas de Sattler e Haller, e supracoroide. A coroide é inervada pelas duas divisões do sistema nervoso autonômico, recebendo ainda fibras aferentes sensitivas primárias que se projetam para o gânglio trigeminal através do nervo oftálmico. O conceito de coroidopatia diabética foi descrito pela primeira vez por Hidayat & Fine em 1985<sup>33</sup> e incluem diversas anormalidades na demonstradas em estudos histopatológicos de olhos enucleados de pacientes com RD, incluindo obstrução da coriocapilar, degeneração vascular, aneurismas e neovascularização<sup>34,35</sup>. Exames complementares também demonstraram alterações na coroide em pacientes com diabetes.

A angiografia com indocianina verde (ICG), exame que permite a visualização dos vasos da coroide e do fluxo de sangue abaixo do EPR, revelou áreas de hiper e de hipofluorescência tardias correspondentes a áreas com lesões de retinopatia. Baseado nesses achados, foi descrito que essas alterações poderiam ser resultado de mudanças isquêmicas nos vasos da coroide<sup>36</sup>. Estudos avaliando alterações hemodinâmicas na coroide usando a dopplerfluxometria a laser revelaram uma redução no volume e no fluxo de sangue nos vasos da coroide na região foveal em pacientes com RD proliferativa e com edema macular<sup>37,38</sup>.

## AValiação da Coroide com OCT

Um entendimento clínico preciso das alterações na coroide pode proporcionar uma melhor avaliação de muitas doenças que acometem o segmento posterior do olho, entre elas a RD. Até pouco tempo atrás, a coroide só poderia ser avaliada pela angiografia com ICG, dopplerfluxometria a laser ou ultrassonografia. Embora estas técnicas sejam úteis para determinar anormalidades nos vasos ou alterações no fluxo sanguíneo coroidal, elas não fornecem informações anatômicas precisas sobre as camadas da coroide.

Atualmente, é possível obter imagens em corte transversal de alta resolução da coroide usando aparelhos de tomografia de coerência óptica de domínio espectral (SD-OCT). Este exame é um método de imagem não-invasivo que usa a reflectometria óptica, que envolve a medição do retroespalhamento da luz através de meios como tecidos oculares, para obter cortes seccionais da retina em escala micrométrica. Isto é conseguido medindo-se a intensidade e o tempo de atraso da luz que é dispersa a partir dos tecidos de interesse. Com a tecnologia de domínio espectral, a visualização das camadas da coroide através do OCT é feita através da atenuação da luz emitida pelo aparelho, o que diminui a sua reflexão pelo EPR, com compensação pelo software de realce da imagem (*Enhancement Depth Imaging* - EDI). Através de exames de SD-OCT utilizando a



modalidade EDI é possível mensurar a espessura da coroide com altas taxas de reprodutibilidade<sup>39</sup>. A medida da coroide é realizada manualmente utilizando o software do SD-OCT através de uma linha perpendicular que se estende da borda externa do EPR até o limite interno da esclera. Estudos recentes demonstraram medidas e exames da espessura da coroide com sucesso em olhos normais e com patologias usando diferentes aparelhos de SD-OCT<sup>40-42</sup>. Altas taxas de repetibilidade, elevado índice de concordância inter-observador e reprodutibilidade foram descritas com o uso do aparelho<sup>43</sup>.

A espessura normal da coroide foi descrita por Margolis et al.<sup>44</sup> utilizando o SD-OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha) e por Manjunath et al.<sup>45</sup> utilizando o Cirrus OCT (Carl Zeiss Meditec Inc, Dublin, CA). Ambos os grupos chegaram à conclusão que a coroide é mais espessa na região subfoveal afinando anteriormente mais na direção nasal do que temporal, com uma espessura média subfoveal de  $287 \pm 76 \mu\text{m}$  medida com o Spectralis em uma amostra de 30 pacientes, e de  $272 \pm 81 \mu\text{m}$  medida com o Cirrus em uma amostra de 34 pacientes. Também foi encontrada uma correlação negativa entre a espessura da coroide e a idade do paciente. Poucos estudos compararam as medidas da espessura da coroide em indivíduos normais usando diferentes aparelhos de SD-OCT<sup>46,47</sup>.

A possibilidade de visualização topográfica da coroide em 3D permite ainda a medida do volume da coroide no polo posterior usando segmentação manual. Barteselli et al.<sup>48</sup> examinaram 176 olhos de 114 indivíduos sem patologias oculares e encontraram um volume médio da coroide no anel central (dentro de 1,0 mm de diâmetro do centro da fóvea) de  $0,228 \pm 0,077 \text{ mm}^3$  e de  $7.374 \pm 2.181 \text{ mm}^3$  para a área total do grid do ETDRS. Houve uma correlação significativa do volume macular da coroide com a idade, o sexo e o diâmetro axial.

Apesar de achados clínicos e experimentais sugerirem que a coroidopatia diabética possa estar envolvida na patogênese da RD, não são muitos os estudos que avaliaram as alterações da coroide em pacientes com diabetes sem retinopatia usando SD-OCT. Esmaeelpour et al.<sup>49</sup> encontraram uma redução da espessura central da coroide em todos os olhos de pacientes com DM2, independentemente do grau da RD comparados com controles saudáveis. Sessenta e três olhos foram avaliados, e o mapeamento

da espessura da coroide em todos os pacientes com diabetes demonstrou afinamento central e inferior comparados com olhos normais (*unpaired t-test*;  $P < 0,001$ ). A espessura subfoveal da coroide nos olhos normais foi de  $327 \pm 74 \mu\text{m}$ , significativamente maior do que todos os olhos de pacientes com diabetes: olhos sem retinopatia  $214 \pm 55 \mu\text{m}$ ; olhos com microaneurismas,  $208 \pm 49 \mu\text{m}$ ; olhos com exsudatos  $205 \pm 54 \mu\text{m}$ , e olhos com edema macular  $211 \pm 76 \mu\text{m}$  (ANOVA,  $P < 0,001$ ; Tukey,  $P < 0,001$ ). Regatieri et al.<sup>50</sup> examinaram 49 pacientes com diabetes e 24 indivíduos saudáveis pareados para idade como controle usando Cirrus OCT, e encontrou que a média da espessura foveal da coroide foi mais fina em pacientes com edema macular diabético ( $170 \pm 15 \mu\text{m}$ ) e RD proliferativa tratada ( $163 \pm 7 \mu\text{m}$ ;  $P < 0,01$ ) comparados com indivíduos saudáveis ( $232 \pm 15 \mu\text{m}$ ) ou com aqueles com RD não-proliferativa ( $222 \pm 22 \mu\text{m}$ ). Querques et al.<sup>15</sup> avaliaram a espessura macular da coroide usando SD-OCT com modo EDI de 63 olhos de pacientes com diabetes comparados com 21 olhos de indivíduos saudáveis pareados para idade e sexo, demonstrando que existe um afinamento subfoveal da coroide em cada grupo com diabetes comparados com grupo controle ( $309.8 \pm 58.5 \mu\text{m}$ ;  $P < 0,001$ ), apesar de não encontrar diferença significativa entre os vários graus de RD. Vojosevic et al.<sup>51</sup> examinaram 102 pacientes com diabetes e 48 indivíduos normais e demonstraram que a espessura central da coroide reduz progressivamente com o aumento do nível da RD ( $P < 0,05$ ). Nenhuma diferença na espessura central da coroide foi encontrada entre os controles ( $330 \pm 65 \mu\text{m}$ ) e pacientes com diabetes e sem RD detectável ( $281 \pm 69 \mu\text{m}$ ). Em contraste com o estudo de Regatieri et al, edema macular diabético não influenciou a medida da espessura central da coroide. No estudo de base populacional Beijing Eye Study<sup>17</sup>, Xu et al examinaram 246 pacientes com diabetes, sendo que 23 deles apresentavam RD, e encontraram uma espessura subfoveal da coroide aumentada associada com DM usando SD-OCT. Entretanto, essa diferença não foi relacionada com a presença ou estágio da RD. A espessura subfoveal média da coroide não foi diferente entre os pacientes que tinham RD e aqueles sem RD ( $249 \pm 86 \mu\text{m}$  vs.  $262 \pm 104 \mu\text{m}$ ;  $P = 0,56$ ). Kim et al.<sup>19</sup> avaliaram 235 olhos de 145 pacientes com DM2 e RD, concluindo que a espessura subfoveal da coroide aumenta

significativamente com a gravidade da RD, estando maior naqueles olhos com edema macular diabético.

## NEURODEGENERAÇÃO DA RETINA

Além das alterações vasculares ocasionadas na retinopatia diabética, mudanças neurodegenerativas estruturais na retina como apoptose neuronal, perda do núcleo das células ganglionares, reatividade glial e redução da espessura das camadas da retina interna foram descritas nos estágios iniciais da retinopatia<sup>52-55</sup>. Essa perda de tecido neural concorda com estudos que demonstram um déficit funcional neuroretiniano em pacientes com diabetes, incluindo anormalidades no eletrorretinograma, redução da sensibilidade ao contraste, distúrbios da visão de cores e exame de microperimetria alterado<sup>56,57</sup>. A introdução do OCT permitiu a medida da espessura da retina com alta precisão, e diversos grupos demonstram que a espessura total da retina está reduzida em pacientes com diabetes antes mesmo das primeiras manifestações clínicas da retinopatia quando comparados com controles normais<sup>58-64</sup>. A alta resolução do exame de SD-OCT permitiu medidas de todas as camadas individuais da retina com auxílio de software de segmentação automatizado<sup>65,66</sup>.

## 1.1 OBJETIVOS

1. Analisar a espessura da coroide em pacientes com DM2 com e sem microalbuminúria usando SD-OCT comparados com controles sem diabetes.
2. Estudar alterações no volume da coroide no polo posterior usando a grade do ETDRS em pacientes com DM2.
3. Analisar alterações nas camadas retinianas em pacientes com DM2 com e sem microalbuminúria.

## 1.2 JUSTIFICATIVA

Um melhor entendimento das alterações na vascularização da coroide pode ser importante para avaliação da progressão da RD. Uma vascularização normal da coroide é fundamental para função adequada da retina. Anormalidades no volume de sangue da coroide e/ou comprometimento de seu fluxo poderiam resultar em disfunção e morte de fotorreceptores. A coroidopatia diabética poderia se desenvolver mesmo antes da RD em um subgrupo de pacientes. Usando novas tecnologias, como SD-OCT, poderíamos ser capazes de identificar aqueles pacientes com risco aumentado de desenvolver RD examinando a coroide.

Devido o provável envolvimento da coroide na patogênese da RD, a escassez de estudos na literatura avaliando a suas alterações usando SD-OCT e a possível relação entre os estágios iniciais da nefropatia diabética e a RD, o presente estudo se propõe a analisar a alterações estruturais da retina e da coroide em pacientes com DM2 com e sem microalbuminúria.

## 2 PUBLICAÇÕES





























---

---

---















































---

---

---



































### 3 DISCUSSÃO

Nesse projeto, nós avaliamos as medidas de espessura e de volume da coroide na região macular usando SD-OCT entre pacientes com DM2 com e sem microalbuminúria comparados com controles normais. Realizamos também as medidas da segmentação das camadas da retina entre esses grupos e verificamos sua relação com o grau de excreção urinária de albumina. Nossos resultados demonstram que o SD-OCT ajuda a identificar alterações precoces tanto na coroide quanto nas camadas internas da retina em pacientes com DM2. Houve uma redução geral nas medidas da coroide no grupo de pacientes com diabetes e microalbuminúria quando comparados com controles. A análise do volume macular da coroide também encontrou uma redução difusa nos valores do grupo com microalbuminúria comparado com o grupo controle. A redução da espessura e do volume da coroide entre os grupos com microalbuminúria e com excreção urinária de albumina normal foi encontrada apenas em pontos localizados, principalmente na região subfoveal e temporal à fóvea. Não houve diferença significativa nas medidas de espessura ou de volume da coroide entre o grupo com normoalbuminúria e os controles.

Com o advento do exame de OCT, as alterações na espessura da coroide em pacientes com diabetes tem sido estudadas, entretanto os resultados apresentados até então na literatura são divergentes. Existem estudos sugerindo espessamento da coroide, seu afinamento ou aqueles que não foram capazes de identificar qualquer diferença em pacientes com diabetes e sem retinopatia<sup>14-19, 49-51</sup>. Essa variabilidade de resultados na literatura pode ser devido a diferentes fatores que influenciam as medidas da coroide. Primeiramente, uma explicação para essa variabilidade de resultados é que nesses estudos, em geral, não existe qualquer evidência de dano microvascular nos pacientes com diabetes quando comparados com outros grupos. Nós hipotetizamos que os danos microvasculares são os principais responsáveis pelas alterações na coroide em pacientes com diabetes. Assumindo que a microalbuminúria seria um marcador da lesão endotelial difusa no diabetes, a utilizamos como fator determinante para

estabelecer os grupos de análise. Assim, dependendo do predomínio ou não desse mecanismo ação, poderíamos ter uma redução ou não das medidas da coroide.

A multiplicidade de protocolos utilizados para medida da coroide e o uso diferentes aparelhos de OCT é outra possível causa para essa diversidade de resultados. A medida manual dos limites da coroide expõe a necessidade do desenvolvimento de algoritmos de segmentação automática para obter medidas mais acuradas e reproduzíveis da estrutura da coroide. A localização aonde essas medidas são feitas seria outro fator. Existe uma diversidade grande de protocolos para medida da coroide. A comparação entre medidas realizadas em diferentes pontos da região macular limita a extrapolação dos resultados entre diferentes autores. No nosso estudo, geramos um mapa topográfico de espessura da coroide em todo polo posterior centrado na fóvea, realizamos 10 medidas lineares da espessura no *b-scan* que passava pela fóvea, além de realizar a medida de volume na grade do ETDRS. Essas medidas forneceriam informações mais abrangentes e confiáveis sobre as mudanças quantitativas na coroide, apesar de serem mais demoradas e trabalhosas.

Outras variáveis que influenciam a medida da espessura da coroide, seriam a presença concomitante de fatores de risco cardiovascular, como a hipertensão arterial ou a microalbuminúria, que poderiam modular a disfunção vascular no diabetes<sup>67</sup>. No nosso estudo, não houve diferença entre os grupos em relação às principais características sistêmicas avaliadas. Além disso, as medidas foram realizadas no mesmo período do dia, para reduzir os efeitos das variações diurnas nas medidas da coroide.

Nós podemos interpretar que uma coroide afinada poderia indicar uma redução geral no fluxo sanguíneo da coroide, a exemplo do que foi demonstrado previamente em exame de dopplerfluxometria e angiografia com ICG<sup>36-38</sup>. Assim, é provável que a redução na espessura da coroide possa estar relacionada com hipóxia do tecido retiniano, já que a coroide é a maior fonte de nutrição do EPR e das camadas mais externas da retina.

Quanto às medidas de segmentação das camadas da retina, encontramos um afinamento setorial significativo da camada de células ganglionares e da camada de fibras nervosas no grupo de pacientes com

diabetes e microalbuminúria. A camada de células ganglionares no grupo com microalbuminúria apresentou uma redução na sua espessura na região do anel macular interno da grade do ETDRS quando comparada com o grupo com excreção urinária normal de albumina e também com o grupo controle. A camada de fibras nervosas na região do anel macular externo da grade estava com espessura reduzida no grupo com microalbuminúria comparado com os controles. Ao contrário da avaliação da coroide, essas medidas foram realizadas automaticamente pelo software do aparelho de OCT, após conferência de segmentação adequada. A redução na espessura da camada de fibras nervosas poderia ser explicada pela progressiva perda de células ganglionares induzida pelo diabetes.

As camadas externas da retina não são significativamente influenciadas pelos estágios iniciais do diabetes, enquanto que as camadas internas são precocemente afetadas. O mecanismo responsável por essa neurodegeneração não está completamente esclarecido. A camada interna da retina, suprida pela circulação retiniana, é relativamente hipóxica comparada com as camadas da retina externa, isso torna a retina interna mais vulnerável ao estresse metabólico induzido pelo diabetes<sup>68</sup>. Na análise de regressão linear múltipla, o nível de excreção urinária de albumina foi associado com uma redução da espessura dessas duas camadas. Esses resultados sugerem que a microalbuminúria pode também estar relacionada com alterações precoces na estrutura da retina neurosensorial, independentemente da presença da retinopatia. A microalbuminúria é um importante marcador prognóstico da doença renal em pacientes com diabetes e hipertensão<sup>69</sup>. Além disso, é também um conhecido marcador de disfunção vascular endotelial, que indica a incapacidade do endotélio de manter a homeostase vascular adequada<sup>24</sup>. A disfunção endotelial, fortemente relacionada com o mecanismo de autorregulação, é particularmente importante para a circulação retiniana porque o fluxo sanguíneo na retina é controlado principalmente pela autorregulação vascular, ao contrário do controle autonômico da coroide<sup>70</sup>. Assim, parece que a disfunção renal inicial no diabetes e a neurodegeneração retiniana são causados por um mecanismo de ação em comum, que seria a insuficiência vascular e o dano na microcirculação.

Embora a microalbuminúria esteja associada com o afinamento da coroide e com a perda seletiva de camadas internas da retina em pacientes com diabetes e sem retinopatia, permanece incerto se essas mudanças têm papel preditivo, modulatório, causal ou independente para a retinopatia diabética. Pacientes com afinamento da coroide ou com redução da camada de células ganglionares e da camada de fibras nervosas da retina usando SD-OCT deveriam ser acompanhados com mais cuidado com relação a presença de nefropatia diabética inicial.

Nosso trabalho apresenta potenciais limitações que merecem ser comentadas. O desenho transversal do estudo apenas nos permite fazer associações, sem estabelecer relação de causa e efeito entre as variáveis investigadas. Análises longitudinais são necessárias para esclarecer o papel do afinamento da coroide e da perda seletiva das camadas da retina sensorial na progressão da retinopatia. Nossa amostra estudada foi relativamente pequena. Apesar disso, estabelecemos critérios de inclusão rígidos para evitar vieses de confusão e garantir a similaridade entre os grupos. Outra limitação foi a existência da possibilidade de erros nas medidas da coroide devido à medição manual realizada, mesmo que todas as medições tenham sido realizadas de maneira mascarada. Apesar disso, estudos recentes encontraram uma alta repetibilidade, elevada correlação interobservador e reprodutibilidade nas medidas da espessura da coroide. Atualmente, novos aparelhos de OCT com tecnologias mais recentes já incorporaram softwares de medida automatizada da estrutura da coroide. Finalmente, embora não tenhamos realizado exame de HbA1c em pacientes normais, apenas aqueles com história de glicemia normal foram escolhidos para reduzir as chances de incluir pacientes com diabetes não diagnosticados no grupo controle.

## 4 CONCLUSÕES

1. Pacientes com DM2 e com microalbuminúria apresentaram um afinamento significativo da coroide usando SD-OCT quando comparados com controles sem diabetes. A espessura da coroide também apresentou uma redução localizada comparada com o grupo de pacientes com DM2 e excreção urinária normal de albumina.
2. Pacientes com DM2 e com microalbuminúria apresentaram uma redução significativa do volume total da coróide na grade do ETDRS comparados com controles sem diabetes.
3. A espessura da camada de células ganglionares e da camada de fibras nervosas da retina apresentaram um afinamento setorizado na grade do ETDRS em pacientes com DM2 e com microalbuminúria comparado com o grupo de pacientes com DM2 e normoalbuminúria. Não houve diferença significativa na espessura das camadas da retina externa entre os grupos.

**ANEXOS**

**A1**

**Abstract**

**Macular Choroidal Thickness, Volume And Hemisphere Asymmetry In Patients With Diabetes And Microalbuminuria**

Abstract submitted to the 2017 ARVO Annual Meeting, held in Baltimore, MD, May 7-11, 2017.

**Authors:**

**Lucas Brandolt Farias<sup>1,3</sup>, Daniel Lavinsky<sup>1,3</sup>, Pedro Tetelbom<sup>1</sup>, Camila Zanella Benfica<sup>1,3</sup>, Luis Henrique Canani<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> Department of Ophthalmology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

<sup>2</sup> Department of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

<sup>3</sup> School of Medicine – Postgraduate Program in Medical Sciences:

Endocrinology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Correspondence:

Lucas Brandolt Farias

T-36 Street, 3400/1803.

CEP: 74223-052.

Goiânia/GO, Brazil

Email: lucas.bfarias@yahoo.com.br

Financial Support: this study received funds from the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

Authors declare there are no conflicting interests related to this work



**ABSTRACT:**

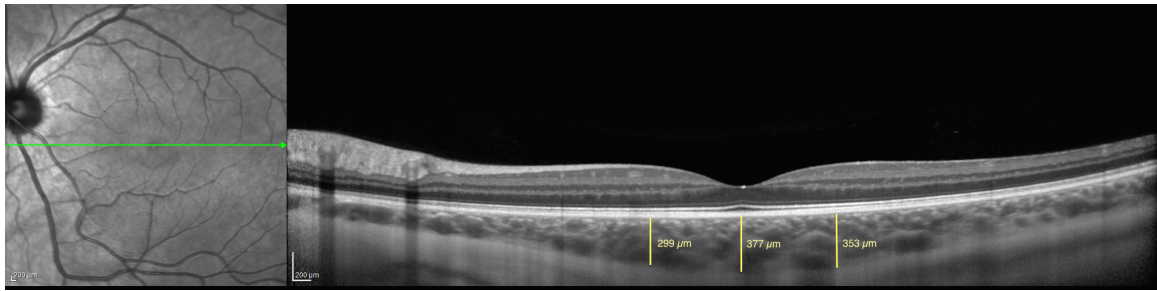
**Purpose:** We performed a prospective cohort clinical study to compare the macular choroidal thickness and volume measured by a spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) in patients with type 2 diabetes with absent or mild nonproliferative diabetic retinopathy without renal impairment (estimated glomerular rate,  $\geq 60$  ml/min per  $1.73 \text{ m}^2$ ).

**Methods:** We studied 62 eyes of 33 patients with type 2 diabetes without clinically significant diabetic retinopathy divided into two groups based on the presence of normal urinary albumin excretion or microalbuminuria. All patients underwent complete ophthalmic examination after pupil dilatation: indirect ophthalmoscopy, digital retinography and ocular coherence tomography. Eyes with spherical equivalent between  $\pm 3.0$  diopters were included, and any subject with other retinal or choroidal pathology was excluded. Patients were imaged with a SD-OCT (Spectralis, Heidelberg Engineering, Germany) using the enhanced depth-imaging mode. Choroidal thickness was measured from the outer edge of the hyperreflective retinal pigment epithelium to the inner sclera at the fovea, 500  $\mu\text{m}$  temporal and nasal to the fovea (Figure 1). Choroidal volume was mapped using the ETDRS grid (Figure 2A and 2B). To reduce the effects of diurnal variations, all examinations were performed within 3 hours on the same daytime.

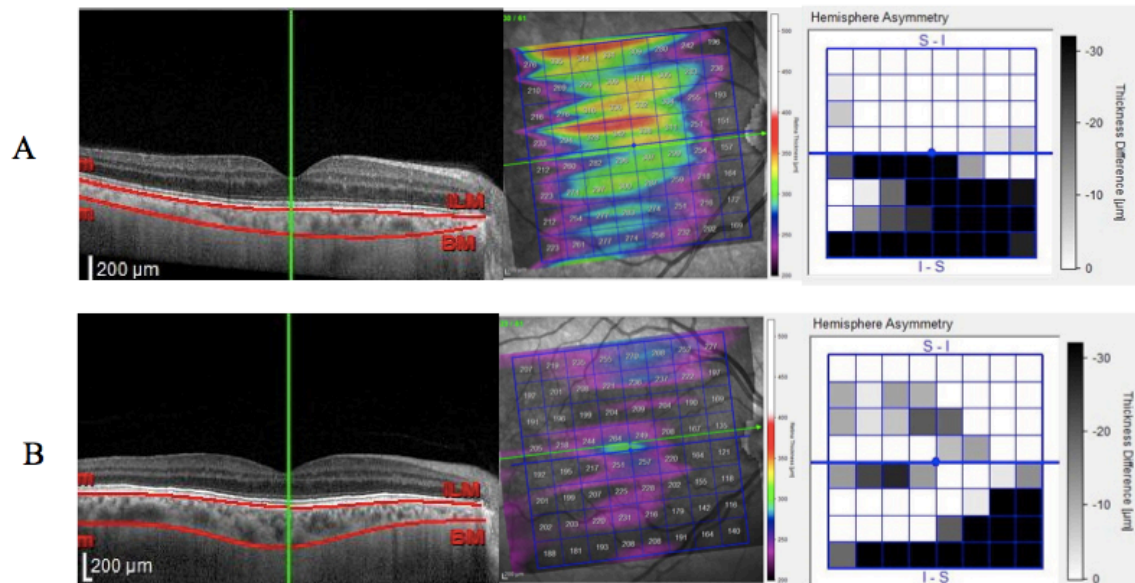
**Results:** There were no differences in baseline characteristics between groups ( $P > 0.05$ ). The choroid was significantly thinner in the group with microalbuminuria ( $284.03 \pm 12.56 \mu\text{m}$  vs.  $228.87 \pm 14.44 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.001$ ). The average total choroidal volume of the entire ETDRS area was  $7.63 \pm 2.24 \text{ mm}^3$  in patients with diabetes and normal urinary albumin excretion, and  $7.22 \pm 1.13 \text{ mm}^3$  in those with diabetes and microalbuminuria ( $p = 0.541$ ). Although the choroidal volume of the patients with microalbuminuria was similar in all subfields compared to the other group, there was an evident hemisphere asymmetry between both groups when we analyze each volume distribution separately.

**Conclusions:** Overall macular choroidal thickness in patients with diabetes and microalbuminuria was thinner than in those with diabetes and normal

albumin excretion. Comparing the choroidal volume distribution map, there was a hemisphere asymmetry between groups.



**Figura 1.** Optical coherence tomography scans showing choroidal thickness. A, Scanning laser ophthalmoscopy fundus image used by Spectralis for eye tracking. Green line indicates location and direction of the scan. B, An original choroidal image on Spectralis. Yellow lines indicate choroidal thickness measurements taken perpendicularly at the fovea, 500 μm temporal to the fovea and 500 μm nasal to the fovea.



**Figure 2.** Choroidal volume hemisphere asymmetry map in a patient with diabetes with (A) microalbuminuria and (B) normal urinary albumin excretion. Note there is a more pronounced difference between the upper and lower hemispheres in patients with microalbuminuria.







## REFERÊNCIAS

1. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet*. 2010;376(9735):124-36.
2. World Health Organization: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva, World Health Org., 1999.
3. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care*. 1998;21(9):1414-31.
4. Iser BP, Vigo Á, Duncan BB, Schmidt MT. Trends in the prevalence of self reported diabetes in Brazilian capital cities and the Federal District, 2006-2014. *Diabetol Metab Syndr*. 2016 Oct 13;8:70.eCollection 2016.
5. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2012 Mar 29;366(13):1227-39.
6. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, et al; Meta-Analysis for Eye Disease (META-EYE) Study Group. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012 Mar;35(3):556-64.
7. Cunha-Vaz J, Faria de Abreu JR, Campos AJ. Early breakdown of the blood-retinal barrier in diabetes. *Br J Ophthalmol*. 1975 Nov;59(11):649-56.
8. Hidayat AA, Fine BS. Diabetic choroidopathy. Light and electron microscopic observations of seven cases. *Ophthalmology*. 1985 Apr;92(4):512-22.
9. Cao J, McLeod S, Merges CA, Luttly GA. Choriocapillaris degeneration and related pathologic changes in human diabetic eyes. *Arch Ophthalmol*. 1998 May;116(5):589-97.
10. Fryczkowski AW, Sato SE, Hodes BL. Changes in the diabetic choroidal vasculature: scanning electron microscopy findings. *Ann Ophthalmol*. 1988 Aug;20(8):299-305.



11. Nagaoka T, Kitaya N, Sugawara R, Yokota H, Mori F, Hikichi T, Fujio N, Yoshida A. Alteration of choroidal circulation in the foveal region in patients with type 2 diabetes. *Br J Ophthalmol*. 2004 Aug;88(8):1060-3.
12. Schocket LS, Brucker AJ, Niknam RM, Grunwald JE, DuPont J, Brucker AJ. Foveolar choroidal hemodynamics in proliferative diabetic retinopathy. *Int Ophthalmol*. 2004 Mar;25(2):89-94.
13. Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*. 2008 Oct;146(4):496-500.
14. Esmaeelpour M, Považay B, Hermann B, et al. Mapping choroidal and retinal thickness variation in type 2 diabetes using three-dimensional 1060-nm optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Jul 15;52(8):5311-6.
15. Querques G, Lattanzio R, Querques L, et al. Enhanced depth imaging optical coherence tomography in type 2 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Sep 7;53(10):6017-24.
16. Shen ZJ, Yang XF, Xu J, et al. Association of choroidal thickness with early stages of diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Int J Ophthalmol*. 2017 Apr 18;10(4):613-618.
17. Xu J, Xu L, Du KF, et al. Subfoveal choroidal thickness in diabetes and diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 2013 Oct;120(10):2023-8.
18. Tavares Ferreira J, Vicente A, Proença R, et al. Choroidal thickness in diabetic patients without diabetic retinopathy. *Retina*. 2017 Mar 3. [Epub ahead of print]
19. Kim JT, Lee DH, Joe SG, et al. Changes in choroidal thickness in relation to the severity of retinopathy and macular edema in type 2 diabetic patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 May 9;54(5):3378-84.
20. Manaviat MR, Afkhami M, Shoja MR. Retinopathy and microalbuminuria in type II diabetic patients. *BMC Ophthalmol*. 2004 Jul 1;4:9

21. Chen H, Zheng Z, Huang Y, et al. A microalbuminuria threshold to predict the risk for the development of diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus patients. *PLoS One*. 2012;7(5):e36718.
22. Laíns I, Talcott KE, Santos AR, et al. Choroidal thickness in diabetic retinopathy assessed with swept-source optical coherence tomography. *Retina*. 2018 Jan;38(1):173-182.
23. Abadia B, Suñen I, Calvo P, et al. Choroidal thickness measured using swept-source optical coherence tomography is reduced in patients with type 2 diabetes. *PLoS One*. 2018 Feb 2;13(2):e0191977.
24. Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen K, Jensen T, Kofoed-Enevoldsen A. Albuminuria reflects widespread vascular damage. The Steno hypothesis. *Diabetologia*. 1989 Apr;32(4):219-26.
25. Stehouwer CD, Fischer HR, van Kuijk AW, Polak BC, Donker AJ. Endothelial dysfunction precedes development of microalbuminuria in IDDM. *Diabetes*. 1995 May;44(5):561-4.
26. Malerbi FK, Regatieri CV, de Sa JR, Morales PH, Farah ME, Dib SA. Microalbuminuria is associated with increased choroidal thickness in type 1 diabetes mellitus patients without diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2017 Jun 21.
27. Nagaoka T, Yoshida A. Relationship between retinal blood flow and renal function in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *Diabetes Care*. 2012:30.
28. Lunetta M, Infantone L, Calogero AE, Infantone E. Increased urinary albumin excretion is a marker of risk for retinopathy and coronary heart disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 1998 Apr;40(1):45-51.
29. Boelter MC, Gross JL, Canani LH, Costa LA, Lisboa HR, Três GS, Lavinsky J, Azevedo MJ. Proliferative diabetic retinopathy is associated with microalbuminuria in patients with type 2 diabetes. *Braz J Med Biol Res*. 2006 Aug;39(8):1033-9.
30. Manaviat MR, Afkhami M, Shoja MR. Retinopathy and microalbuminuria in type II diabetic patients. *BMC Ophthalmol*. 2004; 4: 9.

31. Choi JA, Ko SH, Park YR, Jee DH, Ko SH, Park CK. Retinal nerve fiber layer loss is associated with urinary albumin excretion in patients with type 2 diabetes. *Ophthalmology*. 2015 May;122(5):976-81.
32. Guyer DR, Schachat AP, Green WR. The choroid: structural considerations. In: Ryan SJ, ed-in-chief. *Retina*. vol1. 4th ed. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2006:33-4.
33. Hidayat AA, Fine BS. Diabetic choroidopathy. Light and electron microscopic observations of seven cases. *Ophthalmology*. 1985 Apr;92(4):512-22.
34. Cao J, McLeod S, Merges CA, Lutty GA. Choriocapillaris degeneration and related pathologic changes in human diabetic eyes. *Arch Ophthalmol*. 1998 May;116(5):589-97.
35. Fukushima I, McLeod DS, Lutty GA. Intrachoroidal microvascular abnormality: a previously unrecognized form of choroidal neovascularization. *Am J Ophthalmol*. 1997 Oct;124(4):473-87.
36. Weinberger D, Kramer M, Priel E, Gatton DD, Axer-Siegel R, Yassur Y. Indocyanine green angiographic findings in nonproliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 1998 Aug;126(2):238-47.
37. Nagaoka T, Kitaya N, Sugawara R, Yokota H, Mori F, Hikichi T, Fujio N, Yoshida A. Alteration of choroidal circulation in the foveal region in patients with type 2 diabetes. *Br J Ophthalmol*. 2004 Aug;88(8):1060-3.
38. Schocket LS, Brucker AJ, Niknam RM, Grunwald JE, DuPont J, Brucker AJ. Foveolar choroidal hemodynamics in proliferative diabetic retinopathy. *Int Ophthalmol*. 2004 Mar;25(2):89-94.
39. Ikuno Y, Maruko I, Yasuno Y, et al. Reproducibility of retinal and choroidal thickness measurements in enhanced depth imaging and high-penetration optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:5536-5540.
40. Regatieri CV, Branchini L, Fujimoto JG, Duker JS. Choroidal imaging

using spectral-domain optical coherence tomography. *Retina*. 2012;32(5):865-76.

41. Branchini LA, Adhi M, Regatieri CV, Nandakumar N, Liu JJ, Laver N, Fujimoto JG, Duker JS. Analysis of choroidal morphologic features and vasculature in healthy eyes using spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2013 Sep;120(9):1901-8.

42. Imamura Y, Fujiwara T, Margolis R, Spaide RF. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in central serous chorioretinopathy. *Retina*. 2009 Nov-Dec;29(10):1469-73.

43. Yamashita T, Yamashita Y, Shirasawa M, Arimura N, Terasaki H, Shakamoto T. Repeatability and reproducibility of subfoveal choroidal thickness in normal eyes of Japanese using different SD-OCT devices. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Mar;53(3):1102-7.

44. Margolis R, Spaide RF. A pilot study of enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in normal eyes. *Am J Ophthalmol*. 2009 May;147(5):811-5.

45. Manjunath V, Taha M, Fujimoto JG, et al. Choroidal thickness in normal eyes measured using Cirrus HD optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*. 2010;150:325-329.

46. Branchini L, Regatieri CV, Flores-Moreno I, Baumann B, Fujimoto JG, Duker JS. Reproducibility of choroidal thickness measurements across three spectral domain optical coherence tomography systems. *Ophthalmology*. 2012 Jan;119(1):119-23.

47. Yamashita T, Yamashita T, Shirasawa M, Arimura N, Terasaki H, Sakamoto T. Repeatability and reproducibility of subfoveal choroidal thickness in normal eyes of Japanese using different SD-OCT devices. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Mar 1;53(3):1102-7.

48. Barteselli G, Chhablani J, El-Emam S, Wang H, Chuang J, Kozak I, Cheng L, Bartsch DU, Freeman WR. Choroidal volume variations with age, axial length, and sex in healthy subjects: a three-dimensional analysis. *Ophthalmology*. 2012 Dec;119(12):2572-8.

49. Esmaeelpour M1, Považay B, Hermann B, Hofer B, Kajic V, Hale SL, North RV, Drexler W, Sheen NJ. Mapping choroidal and retinal thickness variation in type 2 diabetes using three-dimensional 1060-nm optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Jul 15;52(8):5311-6.

50. Regatieri CV, Branchini L, Carmody J, Fujimoto JG, Duker JS. Choroidal thickness in patients with diabetic retinopathy analyzed by spectral-domain optical coherence tomography. *Retina*. 2012 Mar;32(3):563-8.

51. Vujosevic S, Martini F, Cavarzeran F, Pilotto E, Midena E. Macular and peripapillary choroidal thickness in diabetic patients. *Retina*. 2012 Oct;32(9):1781-90.

52. Jackson GR, Barber AJ. Visual dysfunction associated with diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep*. 2010;10:380–384.

53. Barber AJ. A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003;27:283–290.

54. Barber AJ, Gardner TW, Abcouwer SF. The significance of vascular and neural apoptosis to the pathology of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:1156–1163.

55. Gardner TW, Abcouwer SF, Barber AJ, Jackson GR. An integrated approach to diabetic retinopathy research. *Arch Ophthalmol*. 2011;129:230–235.

56. Ghirlanda G, Di Leo MA, Caputo S, Cercone S, Greco AV. From functional to microvascular abnormalities in early diabetic retinopathy. *Diabetes Metab Rev.* 1997;13:15–35.

57. Van Dijk HW, Verbraak FD, Stehouwer M, et al. Association of visual function and ganglion cell layer thickness in patients with diabetes mellitus type 1 and no or minimal diabetic retinopathy. *Vision Res.* 2011;51:224–228.

58. Asefzadeh B, Fisch BM, Parenteau CE, Cavallerano AA. Macular thickness and systemic markers for diabetes in individuals with no or mild diabetic retinopathy. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2008;36:455–463.

59. Biallosterski C, van Velthoven ME, Michels RP, Schlingemann RO, DeVries JH, Verbraak FD. Decreased optical coherence tomography-measured pericentral retinal thickness in patients with diabetes mellitus type 1 with minimal diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol.* 2007;91:1135–1138.

60. Bronson-Castain KW, Bearse MA, Jr, , Neuville J, et al. Adolescents with type 2 diabetes: early indications of focal retinal neuropathy, retinal thinning, and venular dilation. *Retina.* 2009;29:618–626.

61. Nilsson M, von Wendt G, Wanger P, Martin L. Early detection of macular changes in patients with diabetes using rarebit fovea test and optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol.* 2007;91:1596–1598.

62. Oshitari T, Hanawa K, Adachi-Usami E. Changes of macular and RNFL thicknesses measured by stratus OCT in patients with early stage diabetes. *Eye.* 2009;23:884–889.

63. Van Dijk HW, Kok PH, Garvin M, et al. Selective loss of inner retinal layer thickness in type 1 diabetic patients with minimal diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:3404–3409.

64. Cabrera DD, Somfai GM. Early detection of retinal thickness changes in diabetes using optical coherence tomography. *Med Sci Monit.* 2010;

16:MT15–MT21.

65. Garvin M, Abramoff M, Wu X, Russell S, Burns T, Sonka M. Automated 3-D intraretinal layer segmentation of macular spectral-domain optical coherence tomography images. *IEEE Trans Med Imaging*. 2009;50:5778–5784.

66. Garvin MK, Abramoff MD, Kardon R, Russell SR, Wu X, Sonka M. Intraretinal layer segmentation of macular optical coherence tomography images using optimal 3-D graph search. *IEEE Trans Med Imaging*. 2008;27:1495–1505.

67. Kocasarac C, Yigit Y, Sengul E, Sakalar YB. Choroidal thickness alterations in diabetic nephropathy patients with early or no diabetic retinopathy. *Int Ophthalmol*. 2017 Apr 11. [Epub ahead of print]

68. Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, et al. Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes*. 2006;55:2401-11.

69. Singh A, Satchell SC. Microalbuminuria: causes and implications. *Pediatr Nephrol*. 2011 Nov;26(11):1957-65.

70. Tooke JE. Microvascular function in human diabetes. A physiological perspective. *Diabetes*. 1995;44:721-6.