



UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

SCUOLA DI MEDICINA
DIPARTIMENTO DI MEDICINA TRASLAZIONALE
**Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in
Medicina e Chirurgia**

Tesi di Laurea

**Studio Angio-OCT del danno microvascolare associato
alla presenza di microaneurismi maculari nella
retinopatia diabetica non proliferante**

Relatore:

Chiar.mo Prof. Stefano DE CILLÀ

Correlatore:

Dott.ssa Caterina TOMA

Candidata:

Paola VARANO

Matricola 20023564

Anno Accademico 2023/2024

Alle mie Stelle

Indice

<i>Indice</i>	1
<i>Abbreviazioni e acronimi</i>	2
<i>Abstract</i>	3
<i>CAPITOLO PRIMO – INTRODUZIONE</i>	4
1.1 LA RETINOPATIA DIABETICA	4
1.1.1 EPIDEMIOLOGIA	4
1.1.2 FATTORI DI RISCHIO	5
1.1.3 STORIA NATURALE E SINTOMATOLOGIA	6
1.1.4 ISTOLOGIA	6
1.1.5 CLASSIFICAZIONE	7
1.1.6 COMPLICANZE	9
1.1.7 DIAGNOSI	11
1.1.8 SCREENING E TRATTAMENTO	11
1.2 LA DIAGNOSTICA NON INVASIVA	13
1.2.1 OCT: TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA.....	13
1.2.2 OCT-A: ANGIOGRAFIA-OCT	17
1.2.3 I PARAMETRI VALUTABILI CON L'OCT-A	19
1.2.4 I PARAMETRI QUANTITATIVI OCT-A NELLA RD	24
1.2.5 L'OCT-A E LA FLUOROANGIOGRAFIA.....	24
1.3 I MICROANEURISMI	25
1.3.1 COME IDENTIFICARE I MICROANEURISMI	26
1.3.2 MECCANISMI PATOGENETICI E FISIOPATOLOGIA	28
1.3.3 MORFOLOGIA DEI MICROANEURISMI.....	31
1.3.4 L'USO DELL'OCT-A NELLA RICERCA DEI MICROANEURISMI	33
1.4 L'ISCHEMIA NELLA RETINOPATIA DIABETICA	33
1.4.1 ISCHEMIA MACULARE DIABETICA	34
1.4.2 L'ASSOCIAZIONE TRA L'ISCHEMIA E I MICROANEURISMI.....	39
<i>CAPITOLO SECONDO – OBIETTIVO DELLO STUDIO</i>	41
<i>CAPITOLO TERZO – MATERIALI E METODI</i>	42
3.1 TIPOLOGIA DI STUDIO E POPOLAZIONE	42
3.1.1 CRITERI DI INCLUSIONE E DI ESCLUSIONE	42
3.2 PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE DELLE IMMAGINI	44
3.2.1 VALUTAZIONE OCT	45
3.2.2 VALUTAZIONE OCT-A	46
3.3 ANALISI STATISTICA	48
<i>CAPITOLO QUARTO – RISULTATI</i>	49
<i>CAPITOLO QUINTO – DISCUSSIONE E CONCLUSIONE</i>	54
<i>BIBLIOGRAFIA</i>	62
<i>Ringraziamenti</i>	69

Abbreviazioni e acronimi

ANG-2 = Angiopietina-2	NVD = Neovascolarizzazione del Disco Ottico
BMI = Body Mass Index	NVE = Neovascolarizzazione Retinica
BVCA = Best-Corrected Visual Acuity	OCT = Tomografia a Coerenza Ottica
CC = Plesso Coriicapillare	OCT-A = Angiografia con Tomografia a Coerenza Ottica
CFP = Circularity Index	ONL = Outer Nuclear Layer
CMT = Central Macular Thickness	OPL = Outer Plexiform Layer
DCP = Plesso Capillare Profondo	OR = Outer Retina
DM = Diabete Mellito	PD = Perfusion Density
DME = Edema Maculare Diabetico	PIGF = Placental Growth Factor
DMI = Ischemia Maculare Diabetica	PRN = Pro Re Nata
DRIL = Disorganization of the Retinal Inner Layers	PRP = Pan Retinal Photocoagulation
DRN = Neuropatia Retinica Diabetica	RD = Retinopatia Diabetica
ELM = Membrana Limitante Interna	RDNP = Retinopatia Diabetica Non Proliferante
EPR = Epitelio Pigmentato Retinico	RDP = Retinopatia Diabetica Proliferante
ERG = Elettroretinografia	RNFL = Retinal Nerve Fiber Layer
EZ = Ellipsoid Zone	RPE = Retinal Pigment Epithelium
FA = Angiografia con Fluoresceina	SCP = Plesso Capillare Superficiale
FAZ = Zona Avascolare Foveale	SD = Deviazione Standard
FD = Fractal Dimension	SRF = Fluido Sottoretinica Subfoveale
GCL = Ganglion Cell Layer	SS = Swept Source
HRF = Foci Intraretinici Iperriflettenti	TGF-beta = Transforming Growth Factor-beta
ICP = Plesso Capillare Intermedio	TR = Total Retina
INL = Inner Nuclear Layer	VA = Acuità Visiva
IPL = Inner Plexiform Layer	VD = Vessel Density
IQR = Intervallo Interquartile	VDI = Vessel Diameter Index
IR = Inner Retina	VEGF = Vascular Endothelial Growth Factor
IRMA = Anomalie Microvascolari Intraretiniche	VLD = Vessel Length Density
MA = Microaneurismi	VRI = Vitreoretinal Interface
NPA = Non Perfusion Area	

Abstract

DISEGNO DELLO STUDIO. Studio prospettico, trasversale e comparativo caso-controllo.

OBIETTIVO. Valutare e confrontare diversi biomarcatori quantitativi non invasivi della retina relativi al danno microvascolare e alla neurodegenerazione in pazienti affetti da retinopatia diabetica non proliferante (RDNP) lieve e moderata, con o senza microaneurismi (MA) che coinvolgono i 3 mm centrali della macula.

METODI. Sono stati inclusi nello studio 97 occhi con RDNP, 48 con MA centrali (gruppo MA) e 49 senza MA centrali (gruppo noMA). Questi sono stati sottoposti a un esame oculistico completo, fotografia del fondo a colori (EIDON, CenterVue, Padova, Italia) e tomografia a coerenza ottica (OCT) e OCT-angiografia (OCT-A) con strumento swept-source (DRI OCT Triton plus, Topcon Medical Systems Europe, Milano, Italia). I principali criteri di esclusione sono stati: qualsiasi malattia oculare diversa dalla RDNP lieve/moderata, edema maculare diabetico concomitante (DME) e scarsa qualità dell'immagine. Tramite OCT sono stati valutati lo spessore maculare centrale, lo spessore dello strato delle fibre nervose retiniche (RNFL), dello strato delle cellule gangliari (GCL+) e del complesso NFL+GCL+ (GCL++). Tramite OCT-A 3×3 mm dei plessi capillari superficiale e profondo (SCP/DCP) sono stati valutati: area, perimetro e indice di circolarità della FAZ (utilizzando ImageJ); perfusion density e vessel density (PD/VD) e dimensione frattale (FD) (tramite MATLAB). Tutte le valutazioni sono state effettuate sull'immagine completa e dopo suddivisione in 4 quadranti (superiore, temporale, inferiore e nasale). L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il test di Mann–Whitney U.

RISULTATI. Nel gruppo MA, sono stati rilevati un totale di 77 MA (17 (22%) nel SCP, 36 (46.8%) nel DCP e 24 (31.2%) che coinvolgevano sia SCP che DCP). Il gruppo MA ha mostrato: un aumento dell'area e del perimetro della FAZ ($p=0.0079$, $p=0.0045$) e una riduzione del CI ($p=0.0336$) nel SCP; un aumento dell'area e del perimetro FAZ ($p=0.0172$, $p=0.017$) nel DCP. Inoltre, sono stati riscontrati una riduzione di VD e FD nel SCP ($p=0.0003$, $p=0.0083$) e una riduzione di PD, VD, FD nel DCP ($p=0.0047$; $p=0.0006$; $p=0.0022$) rispetto al gruppo noMA. Dopo la suddivisione nei 4 quadranti si è trovata una riduzione di VD e FD in SCP ($p=0.022$, $p=0.058$) e DCP ($p=0.0415$, $p=0.0278$) nel quadrante inferiore e una riduzione di VD nel SCP ($p=0.0568$) nel quadrante nasale. Non sono state rilevate differenze statisticamente significative tra i due gruppi nei parametri OCT di neurodegenerazione.

CONCLUSIONI. Il presente studio ha evidenziato un danno microvascolare maculare più pronunciato nelle fasi iniziali della retinopatia diabetica in associazione alla presenza di MA centrali. L'ischemia in questi occhi sembra essere correlata ad una perdita dei piccoli rami vascolari terminali, come indicato dalla riduzione della dimensione frattale; l'ischemia potrebbe favorire la formazione di MA nella macula degli occhi con RD. Sono necessari ulteriori studi, più ampi e con un disegno longitudinale, per comprendere meglio la relazione tra MA e ischemia maculare e la loro correlazione con lo sviluppo di DME.

CAPITOLO PRIMO – INTRODUZIONE

1.1 LA RETINOPATIA DIABETICA

La retinopatia diabetica (RD) è una delle più importanti complicanze del diabete mellito (DM) sia di tipo 1 che di tipo 2.¹ Sebbene storicamente sia sempre stata classificata come una complicanza puramente microvascolare del diabete, le evidenze scientifiche degli ultimi anni hanno portato ad una ridefinizione della malattia che oggi viene considerata una patologia infiammatoria di basso grado coinvolgente tutti gli elementi cellulari presenti a livello retinico: cellule vascolari, neuronali e gliali.²

Queste cellule costituiscono quella che viene definita l'unità neurovascolare della retina e sono strettamente connesse nel formare la cosiddetta barriera emato-retinica, la quale regola l'ambiente cellulare al fine di garantire un corretto apporto di ossigeno, nutrienti e una corretta trasmissione sinaptica.³ Nel paziente affetto da DM, l'integrità di questa struttura anatomica e funzionale viene meno a seguito di uno stato di iperglicemia cronica.

Questo porta all'attivazione di diverse vie metaboliche a livello retinico che portano a disfunzione endoteliale, infiammazione e neurodegenerazione.^{1,3,4}

1.1.1 EPIDEMIOLOGIA

La retinopatia diabetica è un'importante e frequente complicanza del diabete mellito di tipo 1 e 2, interessando circa un terzo della popolazione diabetica, nonché la complicanza oculistica più frequente.¹ È la principale causa di perdita visiva irreversibile nei paesi industrializzati in pazienti di età compresa tra 20 e 64 anni ed è responsabile del 10% dei nuovi casi di cecità ogni anno;⁵ il rischio di cecità nei pazienti diabetici è circa 25 volte maggiore rispetto a quello del resto della popolazione.¹

La prevalenza varia dal 30% al 45% tra i pazienti con diabete, con numeri simili negli uomini e nelle donne, più alti negli afroamericani e più bassi negli asiatici.¹

L'aumento osservato negli ultimi anni e la diversità tra le etnie potrebbero avere diverse ragioni: l'aumento dell'obesità, l'aumento dell'assunzione di zuccheri raffinati, la diagnosi

più precisa e precoce del disturbo metabolico glicemico, l'aumento dell'aspettativa di vita della popolazione generale e del paziente con DM.¹

Nei prossimi anni, come conseguenza di una maggiore aspettativa di vita e quindi di una popolazione che tenderà ad invecchiare, l'impatto della disabilità visiva associata alla retinopatia diabetica è destinato ad aumentare ulteriormente. Si prevede, infatti, che il diabete mellito aumenterà rapidamente in tutto il mondo, in quanto la prevalenza aumenterà di circa il 25% entro il 2030 e del 51% entro il 2045, e che rappresenterà la principale causa di cecità nella popolazione anche nei paesi in via di sviluppo.¹

1.1.2 FATTORI DI RISCHIO

I fattori di rischio della retinopatia diabetica sono strettamente correlati e trovano corrispondenza in quelli considerati anche per il diabete mellito.

Si possono distinguere in due macrocategorie: i fattori di rischio primari e secondari.

Tra i fattori di rischio primari, i principali sono:

- l'età;
- il sesso, se ad esordio giovanile la frequenza di RD è più elevata nei maschi, mentre se l'esordio è più tardivo non sono state riscontrate differenze;
- la durata di esposizione alla malattia;
- uno scarso controllo glicemico;
- l'ipertensione arteriosa mal controllata.¹

Tra i fattori di rischio secondari, i principali sono:

- un elevato BMI;
- la dislipidemia;
- la pubertà;
- la gravidanza;
- la nefropatia;
- la chirurgia della cataratta, in quanto provoca uno stimolo infiammatorio che può favorire una più facile evoluzione della malattia.¹

1.1.3 STORIA NATURALE E SINTOMATOLOGIA

La retinopatia diabetica può rimanere asintomatica fino a fasi avanzate della malattia qualora non vi sia un coinvolgimento della macula, porzione retinica centrale responsabile dell'acuità visiva. In questi casi risultano fondamentali i programmi di screening della RD eseguiti mediante esame del fondo oculare, al fine di individuare precocemente casi di malattia che risulterebbero altrimenti misconosciuti. Al contrario, con l'interessamento della macula (che si può verificare a qualunque stadio di malattia), anche la sintomatologia si può presentare in stadi più iniziali di malattia.²

I pazienti senza interessamento maculare potrebbero comunque avvertire alterazioni della sensibilità al contrasto e del campo visivo che comporterebbero difficoltà in attività comuni della vita quotidiana, come la guida e la lettura.

Altri sintomi riscontrabili nei pazienti affetti da retinopatia diabetica possono essere: miodesopsie, descritte come macchie scure che si muovono con il movimento degli occhi, visione offuscata, metamorfopsie (visione distorta delle immagini), discromatopsia (alterata percezione dei colori).¹

1.1.4 ISTOLOGIA

Dal punto di vista istologico, le manifestazioni della retinopatia diabetica sono:

1. La disfunzione dell'endotelio vascolare

Si riferisce alla perdita della capacità dell'endotelio di svolgere funzioni fisiologiche come fibrinolisi, vasodilatazione e anti aggregazione piastrinica.

L'iperglicemia è la principale causa di alterazione della funzione endoteliale ma, nonostante il ripristino dell'ambiente biochimico a uno stato normoglicemico, la disfunzione dell'endotelio può comunque progredire a causa di meccanismi diversi come:

- stress ossidativo;
- cascate infiammatorie localizzate;
- deplezione dei livelli di ossido nitrico;

2. La formazione del microaneurisma diabetico

3. L'ischemia retinica.^{1,2,6}

1.1.5 CLASSIFICAZIONE

La classificazione attualmente in uso della RD si basa sulla concezione storica di malattia come complicanza microvascolare del DM e si basa pertanto sulla visualizzazione delle alterazioni vascolari all'esame del fondo oculare.⁷

La RD si divide in due grandi gruppi in base alla presenza o meno di proliferazioni neovascolari a partenza dal disco ottico o dalla retina e aggettanti nel corpo vitreo: distinguiamo quindi una più precoce RD non proliferante e la più grave RD proliferante:¹

- ***Retinopatia diabetica non proliferante (RDNP)***

Nella retinopatia diabetica non proliferante il danno principale consiste nella lesione endoteliale, la quale a sua volta porta alla formazione del primo segno clinicamente visibile della malattia: i microaneurismi.

La retinopatia diabetica non proliferante viene a sua volta definita con una sotto classificazione:

- assente, se non sono presenti segni di retinopatia diabetica;
- lieve, con presenza di soli microaneurismi;
- moderata, con presenza di emorragie;
- grave, con più di 20 emorragie in ciascuno dei quattro quadranti e/o vene a corona di rosario in più di due quadranti e/o anomalie microvascolari intraretiniche (IRMA) in almeno un quadrante, seguendo la “regola del 4-2-1”.^{1,7}

International classification of diabetic retinopathy (American Academy of Ophthalmology)

Stage	Dilated Ophthalmoscopy Observable Findings	Severity
I	No abnormalities	No DR
II	Micro-aneurysms only	Mild non-proliferative DR
III	Any of the following: - micro-aneurysms - retinal dot and blot haemorrhages - hard exudates or cotton wool spots No signs of severe non-proliferative diabetic retinopathy	Moderate non-proliferative DR
IV	Any of the following: - more than 20 intra-retinal hemorrhages in each of 4 quadrants - definite venous beading in 2 or more quadrants - prominent intra-retinal microvascular abnormality (IRMA) in 1 or more quadrants No signs of proliferative retinopathy	Severe non-proliferative DR
V	One or both of the following: - Neovascularization - Vitreous/pre-retinal hemorrhage	Proliferative DR

Le lesioni principali che si possono riscontrare nella retinopatia diabetica non proliferativa sono:

- i microaneurismi → lesioni puntiformi di colore rosso con diametro tra 25 e 100 micron, caratterizzate da dilatazione sacciforme della parete capillare a seguito della perdita di periciti. Il loro numero e il tasso di turnover correlano con il rischio di progressione della malattia;⁶
- le emorragie → con conformazione puntiforme e a macchia se intraretiniche, a fiamma se situate nello strato delle fibre nervose;
- gli essudati duri → lesioni giallastre a margini netti costituite prevalentemente da lipoproteine e macrofagi infarciti da lipidi;
- i noduli cotonosi → lesioni biancastre a margini sfumati conseguenti a fenomeni ischemici a livello dello strato delle fibre nervose;
- le anomalie microvascolari intraretiniche (IRMA) → shunt artero-venosi che decorrono dalle arteriole alle venule per bypassare il letto capillare, adiacenti ad aree di non perfusione;
- l'ischemia retinica.

- ***Retinopatia diabetica proliferante (RDP)***

La retinopatia diabetica proliferante è caratterizzata dalla presenza di neovasi, distinguibili in due sottotipi a seconda della loro localizzazione:

- neovascolarizzazione sul disco ottico o intorno a questo (NVD);
- neovascolarizzazione in qualsiasi altro punto della retina (NVE)

e/o dalla presenza di emorragie vitreali o preretiniche.^{1,7}

1.1.6 COMPLICANZE

Le complicanze della retinopatia diabetica derivano principalmente dalla forma proliferante non trattata o non ben controllata. Si tratta principalmente di:

- ***Emorragie vitreali (emovitreo)***

Le emorragie vitreali sono sanguinamenti che si verificano a causa della fragilità dei neovasi tipici della RDP e a cui consegue una sintomatologia che varia in base all'entità dell'emorragia stessa.¹

Se di entità modesta, il paziente lamenterà di vedere punti o macchie nere mobili (miodesopsie), mentre se più estesa, la visione sarà fortemente compromessa; solitamente non causa dolore.

La diagnosi di emovitreo si avvale dell'esame del fondo oculare associato a Fluoroangiografia al fine di identificare l'origine del sanguinamento.

Qualora questi esami non fossero eseguibili a causa dell'importante opacità vitreale, sarà necessario eseguire un'ecografia oculare per la conferma diagnostica e per valutare il piano retinico.¹

- ***Distacco di retina trazionale***

Si definisce distacco di retina la separazione della retina neurosensoriale dall'epitelio pigmentato retinico (EPR), con accumulo di liquido sotto la retina.

Nella retinopatia diabetica proliferante il meccanismo patogenetico principale che porta ad un distacco di retina è la trazione che avviene in seguito a contrazioni delle membrane vitreo-retiniche generalmente in assenza di lacerazioni.¹

- ***Glaucoma neovascolare (NVG)***

Si tratta di una forma grave di glaucoma secondario causato dalla formazione di neovasi sull'iride e nell'angolo di drenaggio dell'occhio. È spesso associato alla RDP in quanto correlata a condizioni che causano ischemia o mancanza di flusso adeguato alla retina. Altre cause possono essere l'occlusione della vena e/o dell'arteria centrale retinica e alte condizioni ischemiche. Provoca dolore oculare per aumento di pressione intraoculare, visione offuscata, rossore oculare e, nei casi più gravi e non trattati, può portare a perdita della vista. La diagnosi prevede, a seguito dell'esame clinico con osservazione diretta dei neovasi, la misurazione della pressione intraoculare con il tonometro, la gonioscopia per la valutazione dell'angolo di drenaggio e la fluoroangiografia retinica. Il trattamento si avvale di iniezioni di farmaci anti-VEGF per ridurre la formazione di neovasi, il controllo della pressione intraoculare (con terapia medica, laser o chirurgica a seconda dei casi), la gestione della causa sottostante.¹

- ***Edema maculare diabetico (DME)***

È una delle principali complicanze della retinopatia diabetica, può insorgere in qualunque stadio della malattia ed è la principale causa di riduzione dell'acuità visiva in corso di malattia. Si sviluppa come conseguenza della rottura della barriera emato-retinica interna a livello maculare. In base all'entità dell'edema e alla presenza di essudati duri vicino alla macula si definisce la gravità della maculopatia diabetica.⁸

Questa può essere:

- lieve, con ispessimento retinico o essudati duri distanti dal centro della macula;
- moderata, con ispessimento retinico o essudati duri vicino al centro della macula, senza coinvolgerlo;
- grave, ispessimento retinico o essudati duri coinvolgenti il centro della macula (fovea).

1.1.7 DIAGNOSI

La diagnosi è clinica, mediante l'esame del fondo oculare in condizioni di midriasi farmacologica: se durante quest'esame si evidenziano segni di retinopatia diabetica e in particolare se si sospetta la presenza di ischemia retinica, neovascolarizzazione o edema maculare, il paziente dovrà essere sottoposto a esami strumentali aggiuntivi:¹

- la tomografia a coerenza ottica (OCT) → per la valutazione e la quantificazione del coinvolgimento maculare e del nervo ottico;
- la Fluoroangiografia → in cui si effettua un'iniezione endovenosa di fluoresceina sodica per valutare la vascolarizzazione retinica. Evidenzia fenomeni di essudazione (*leakage*) vascolare e l'eventuale presenza di aree ischemiche e neovasi che necessitano di trattamento.
- l'angio-OCT → permette la visualizzazione 3D del microcircolo perifoveale senza necessità di iniezione di colorante in vena, valutando le alterazioni a carico del microcircolo e discriminando tra plesso superficiale e plesso profondo.
- l'ecografia bulbare → se la visualizzazione del fondo oculare risultasse difficoltosa per la presenza di opacità dei mezzi diottrici (cataratta o emovitreo), è la tecnica che può evidenziare se la retina non è aderente, tipico di un distacco trazionale.

1.1.8 SCREENING E TRATTAMENTO

Per un paziente diabetico è fondamentale seguire i protocolli di screening con la cadenza definita dal diabetologo e/o dall'oculista, in quanto il maggior fattore di rischio per lo sviluppo della RD è proprio la durata di esposizione alla malattia. Purtroppo, questa patologia è molto spesso "silenziosa" e rimane a lungo senza sintomi.¹

Per il diabete mellito di tipo 1, è necessario effettuare lo screening a 5 anni dall'esordio del diabete, mentre per il diabete mellito di tipo 2 lo screening parte al momento della diagnosi.^{1,5} Per quanto riguarda la frequenza dei controlli, sarà valutata di caso in caso sulla base della gravità della situazione e sulla necessità di trattamento.

Il trattamento dipende dallo stadio di malattia e dalla presenza di edema maculare: ^{1,4}

- per la forma non proliferante ci si limita al controllo dei fattori di rischio quali il compenso glicometabolico (Hb glicata), i valori pressori e i livelli ematici dei lipidi;
- per la forma proliferante si può effettuare la fotocoagulazione laser (PRP, panretinal photocoagulation) con cui si rende la retina necrotica tramite l'ustione termica del laser, in modo tale che non venga più prodotto il VEGF che rappresenta lo stimolo proliferativo per i neovasi.

In caso di emovitreo severo che non si riassorba spontaneamente in 15-30 giorni o in caso di distacco di retina trazionale, si ricorre alla chirurgia vitreo-retinica tramite vitrectomia che consiste nell'asportazione del vitreo e delle membrane tramite l'uso del vitrectomo e con l'utilizzo di sostanze tamponanti di varia natura per mantenere la retina accollata.

- per l'edema maculare diabetico il trattamento di scelta è quello che utilizza i farmaci anti-VEGF e, in seconda battuta, gli steroidi intravitreali con schemi terapeutici ben precisi.

I farmaci anti-VEGF al momento disponibili per il trattamento dell'edema maculare diabetico sono: Bevacizumab (off label), Ranibizumab, Aflibercept, Brolucizumab e Faricimab.

Il protocollo prevede una loading phase di quattro o cinque iniezioni (a seconda del farmaco) con cadenza ogni 4-6 settimane, a distanza di un mese una dall'altra, seguita da una fase di mantenimento con tre possibili regimi:

- schema fisso, con iniezioni mensili o bimestrali;
- regime PRN (pro re nata), al bisogno, ovvero al riattivarsi della patologia sulla base della valutazione clinica al controllo tenendo conto principalmente dell'acuità visiva e dell'essudazione presente all'OCT;
- regime treat and extend, con il quale si cerca di avere schemi fissi ma con iniezioni distanziate l'una dall'altra il più possibile, al fine di definire una tempistica personalizzata di trattamento.

Se prevale la componente infiammatoria, un'altra opzione è quella di utilizzare gli steroidi intravitreali: il desametasone con impianto a lento rilascio in camera vitrea della durata di circa 4-6 mesi, oppure il fluocitilone acetone con impianto a lento rilascio in camera vitrea della durata di circa 1-3 anni, indicato in particolare per DME cronico non responsivo ad altri trattamenti.

Questi farmaci steroidei danno però possibili complicanze, tra cui la cataratta e il glaucoma per aumento della pressione intraoculare.⁹

1.2 LA DIAGNOSTICA NON INVASIVA

1.2.1 OCT: TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA

L'OCT è una metodica diagnostica tomografica che permette la valutazione qualitativa e quantitativa delle strutture oculari, generando immagini in sezione trasversale. È una metodica non invasiva e permette di ottenere immagini ad alta risoluzione con le quali è possibile analizzare in vivo gli strati retinici.¹⁰

In base al diverso modo di funzionare, le due tipologie attualmente in uso sono le seguenti **(Figura 1)**:

- Spectral Domain (SD) → utilizza un diodo superluminescente nello spettro degli infrarossi e uno spettrometro come rilevatore;
- Swept Source (SS) → utilizza un laser a scansione e un singolo fotodiodo come rilevatore.

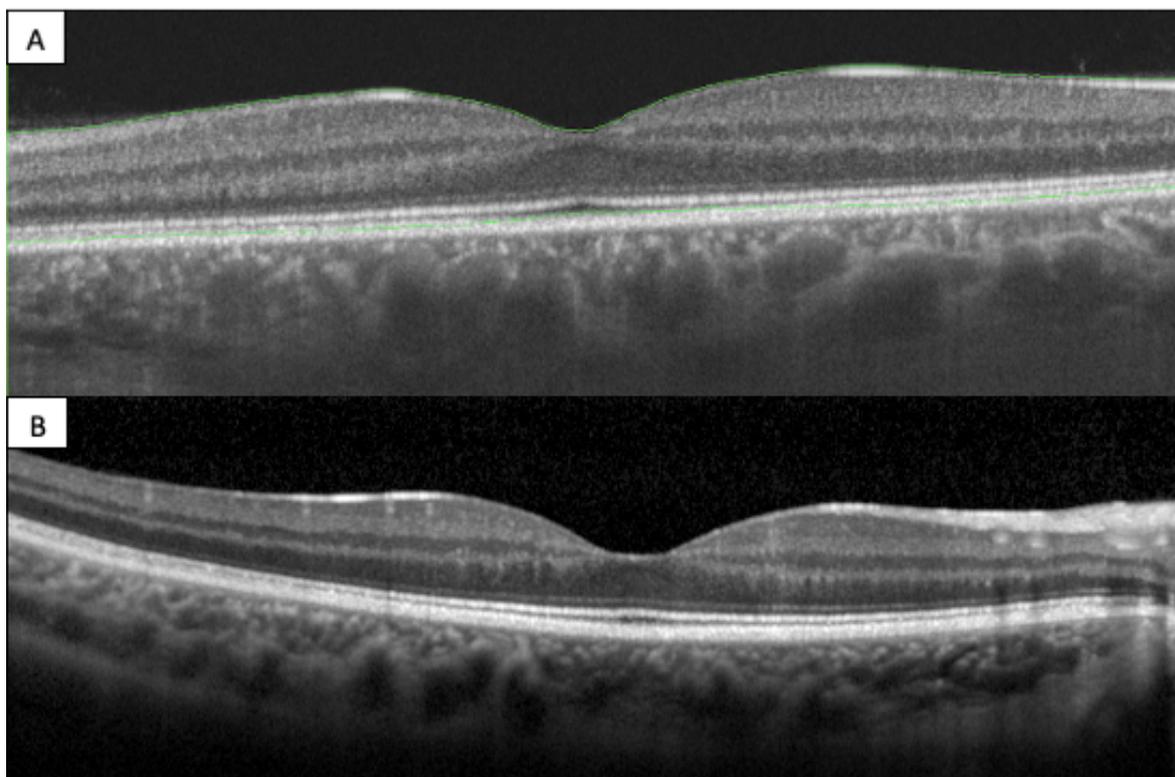


Figura 1. Immagini SS-OCT con Topcon (A) e SD-OCT con Heidelberg (B) di una macula normale.

La differenza principale tra le due metodiche risiede nella diversa lunghezza d'onda: gli strumenti SS utilizzano lunghezze d'onda più lunghe (da 1040 a 1060 nm) rispetto agli strumenti SD (circa 840 nm) e questo permette di ridurre l'attenuazione dovuta alle opacità oculari aumentando allo stesso tempo la profondità di risoluzione. In questo modo, gli OCT SS sono in grado di fornire simultaneamente una buona visualizzazione del vitreo, della retina e della coroide, con una velocità di scansione doppia rispetto a quella dei dispositivi SD-OCT, consentendo quindi da una parte un minor tempo di acquisizione e dall'altra riducendo potenziali artefatti di movimento. Recentemente, la tecnologia SS è stata estesa anche all'OCT-A consentendo un imaging non invasivo e ben definito della microvascolarizzazione retinica e coroideale.¹²

Ad oggi, l'OCT rappresenta uno strumento fondamentale per l'imaging delle malattie della macula, nella retinopatia diabetica e nel glaucoma.

Il principio sfruttato dall'OCT è quello dell'interferometria, in cui vi è un raggio che emette una luce a bassa coerenza: in questo modo viene studiato il ritardo e l'intensità della luce riflessa dalle strutture che vengono analizzate, ricreando un'immagine digitale (**Figura 2**). Per fare ciò viene utilizzato un laser o una luce a diodo superluminescente.^{10,12}

Viene spesso paragonato agli ultrasuoni in quanto entrambe le tecniche dirigono le onde verso il tessuto in esame, le onde echeggiano su questo tessuto e vengono retroflesse, analizzando successivamente il loro ritardo tramite un interferometro (per mezzo di misurazioni di riferimento). L'OCT utilizza però la luce infrarossa, che viaggia più velocemente degli ultrasuoni.

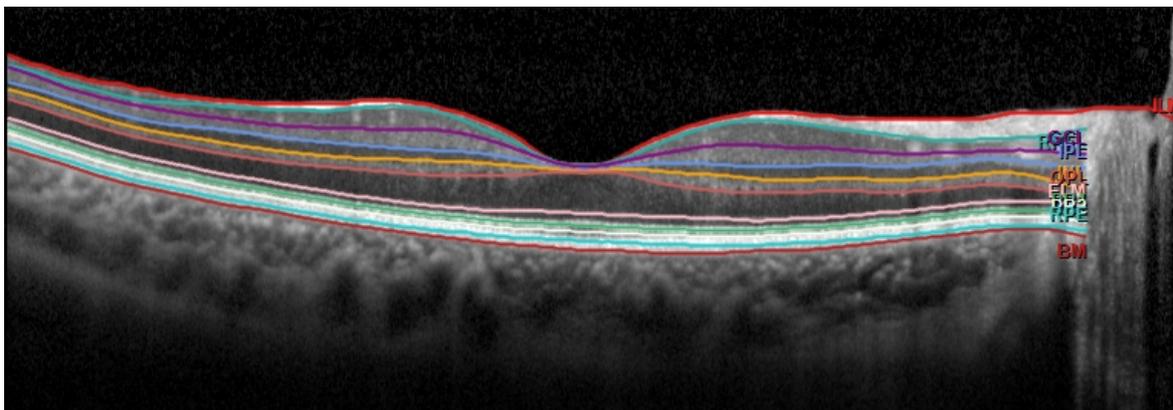


Figura 2. Immagine OCT di una macula normale che mostra la segmentazione dei diversi strati retinici. RNFL - Retinal Nerve Fiber Layer (dalla membrana limitante interna ILM a RNFL), GCL - Ganglion Cell Layer (da RNFL a GCL), IPL - Inner Plexiform Layer (da GCL a IPL), INL - Inner Nuclear Layer (da IPL a INL), OPL - Outer Plexiform Layer (da ONL a OPL), ONL - Outer Nuclear Layer (da OPL alla membrana di Bruch), RPE - Retinal Pigment Epithelium (da RPE superiore alla membrana di Bruch), IR - Inner Retina (da RNFL a ONL), OR - Outer Retina (fotorecettori e RPE), BM - Bruch's Membrane.

L'OCT è in grado di fornire in modo non invasivo e ripetibile alcuni parametri:¹³

- spessore maculare centrale (CMT- Central Macular Thickness) → misura lo spessore nel mm centrale della macula; cambiamenti in quest'area possono indicare gonfiore o accumulo di liquidi, comune nell'edema maculare diabetico;
- spessore del retinal nerve fiber layer (RNFL) → è lo strato più interno della retina e cambiamenti nel suo spessore possono indicare danni alle fibre nervose come conseguenza del danno neuroinfiammatorio;
- spessore del complesso dello strato delle cellule ganglionari (GCL+);
- spessore del complesso costituito dall'associazione tra RNFL e GCL+ (GCL++);
- stato della membrana limitante esterna (ELM), definita come prima banda iperreflettente, è composta da cellule di Müller (glia retinica) e segmenti interni dei fotorecettori (**Figura 3**);

- stato dell'ellissoide (EZ), definito come seconda banda iperreflettente, è ricca di mitocondri contenuti nei segmenti interni dei fotorecettori (coni e bastoncelli) (**Figura 3**);
- stato dell'EPR, definito come terza banda iperreflettente, le cui cellule hanno un ruolo fondamentale per il supporto metabolico dei fotorecettori, per il riciclo del pigmento visivo e per la barriera emato-retinica esterna (**Figura 3**);

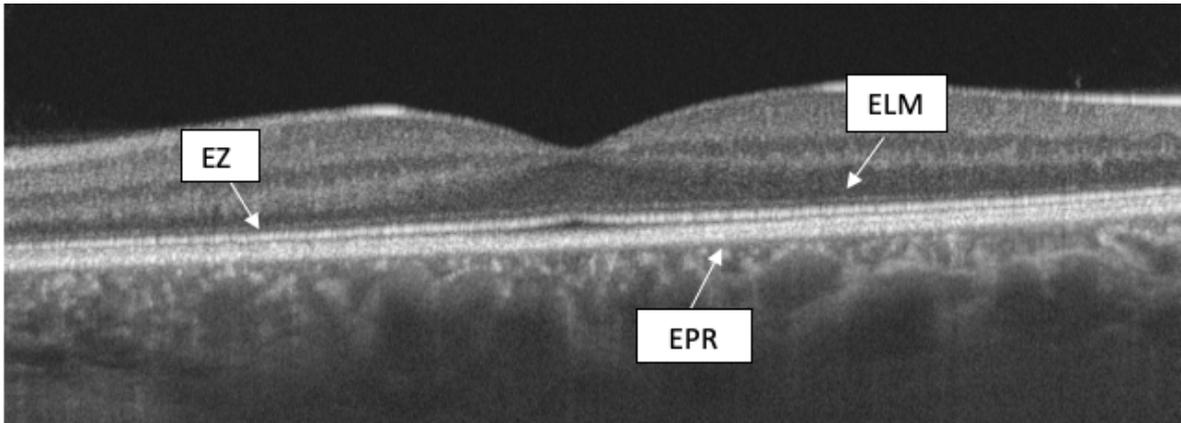


Figura 3. Immagine OCT di una macula normale con riferimento alle tre bande iperreflettenti (ELM, EZ e EPR).

- presenza e numero di foci intraretinici iperreflettenti (HRF), biomarcatore di infiammazione locale probabilmente legata all'attivazione delle cellule della microglia;
- caratteristiche dell'interfaccia vitreoretinica (VRI-Vitreoretinal Interface) → l'OCT può valutare la presenza di membrane epiretينية o trazione vitreomaculare;
- presenza del fluido sottoretinico subfoveale (SRF) (**Figura 4**), dovuto all'accumulo di liquido tra la neuroretina e la linea dell'EPR;
- presenza e dimensioni di cisti intraretiniche (**Figura 4**), definite come spazi pieni di liquido rotondeggianti o ovalari, minimamente riflettenti all'interno della retina neurosensoriale (tipiche del DME).
- presenza ed estensione di disorganizzazione degli strati retinici interni (DRIL), definito come la perdita di chiara demarcazione tra il complesso cellula gangliare-strato plessiforme interno, lo strato nucleare interno e lo strato plessiforme esterno nella fovea centrale.

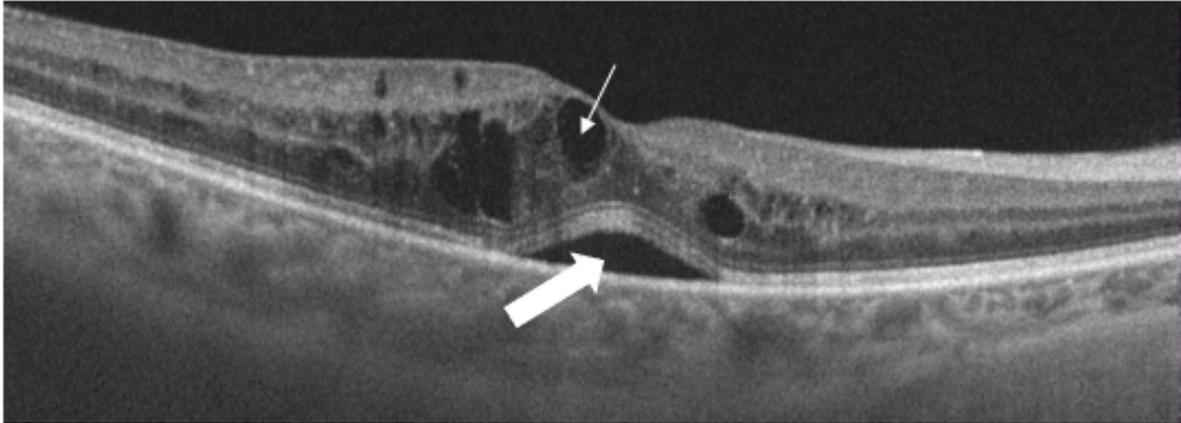


Figura 4. Immagine OCT che mostra la regione maculare di un paziente con DME in cui si apprezza la presenza di fluido sottoretinico subfoveale (freccia spessa) e cisti intraretiniche (freccia sottile).

1.2.2 OCT-A: ANGIOGRAFIA-OCT

L'angio-OCT è una delle tecniche diagnostiche più recenti. Anch'essa non invasiva, rappresenta un'estensione dell'OCT. Viene utilizzata per visualizzare il microcircolo retinico e la coriocalpillare.¹⁵

Sfruttando il principio di contrasto del movimento delle cellule circolanti del sangue (ovvero i globuli rossi), acquisisce ripetute scansioni OCT nella stessa posizione per rilevare i segnali di riflettanza dati dai movimenti dei globuli rossi attraverso i vasi sanguigni: in questo modo, viene ricostruita la trama vascolare della retina. Le strutture poco mobili o immobili appaiono nere, mentre quelle in movimento appaiono bianche.¹⁰

Ad ogni posizione, chiamata B-scan, la scansione viene ripetuta per rilevare il grado di contrasto del movimento; l'unico movimento previsto nella retina è infatti il flusso sanguigno nei vasi.¹⁶

Le immagini vengono visualizzate in scala di grigi in modo tridimensionale, permettendo così di distinguere il microcircolo su diversi piani. In particolare, si riconoscono (**Figura 5**):

16

- il plesso capillare superficiale (SCP)
- il plesso capillare intermedio (ICP)
- il plesso capillare profondo (DCP)
- il plesso coriocalpillare (CC)

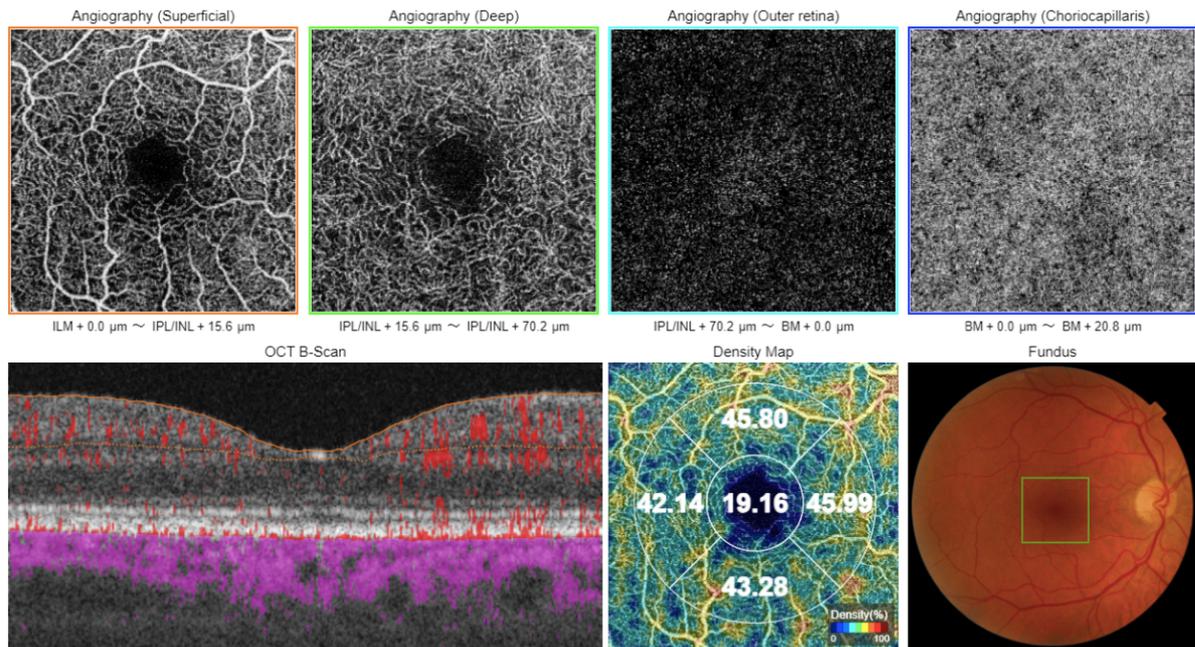


Figura 5. Immagine OCT-A di una regione maculare normale. Gli strati vascolari possono essere visualizzati in modo indipendente segmentando l'architettura retinica nelle immagini strutturali OCT. Nella parte superiore della figura si osservano gli strati OCT-A: superficiale, profondo, outer retina e coriocalpillare. Nella parte inferiore della figura: l'OCT B-scan, la Density Map e la fotografia a colori del polo posteriore.

Nonostante l'angio-OCT sia uno strumento all'avanguardia in grado di identificare segni precoci di danno in corso di malattia retinica diabetica anche in assenza di segni clinici di patologia, bisogna tenere a mente i limiti di questa metodica:^{10,17}

- l'impossibilità di rilevare il flusso sanguigno al di sopra o al di sotto di definite soglie;
- la difficoltà a visualizzare la retina periferica, anche se oggi questo limite è in parte superato grazie all'introduzione del widefield-OCT-A;
- la presenza di artefatti da movimento, dal momento che subisce molto il movimento dell'occhio e la difficoltà di fissazione del paziente;
- la presenza di artefatti da proiezione (**Figura 6**), ovvero "falsi" segnali di flusso sanguigno che interferiscono con la visualizzazione dei plessi retinici più profondi (ICP e DCP) e della coriocalpillare, dando interpretazioni errate dell'immagini; esistono attualmente dei software di rimozione degli artefatti e dei sistemi di *eye tracking* che permettono di ovviare in parte ad alcuni di questi limiti.
- la staticità dell'esame e l'impossibilità conseguente di rilevare il fenomeno del *leakage* vascolare apprezzabile in fluoroangiografia.

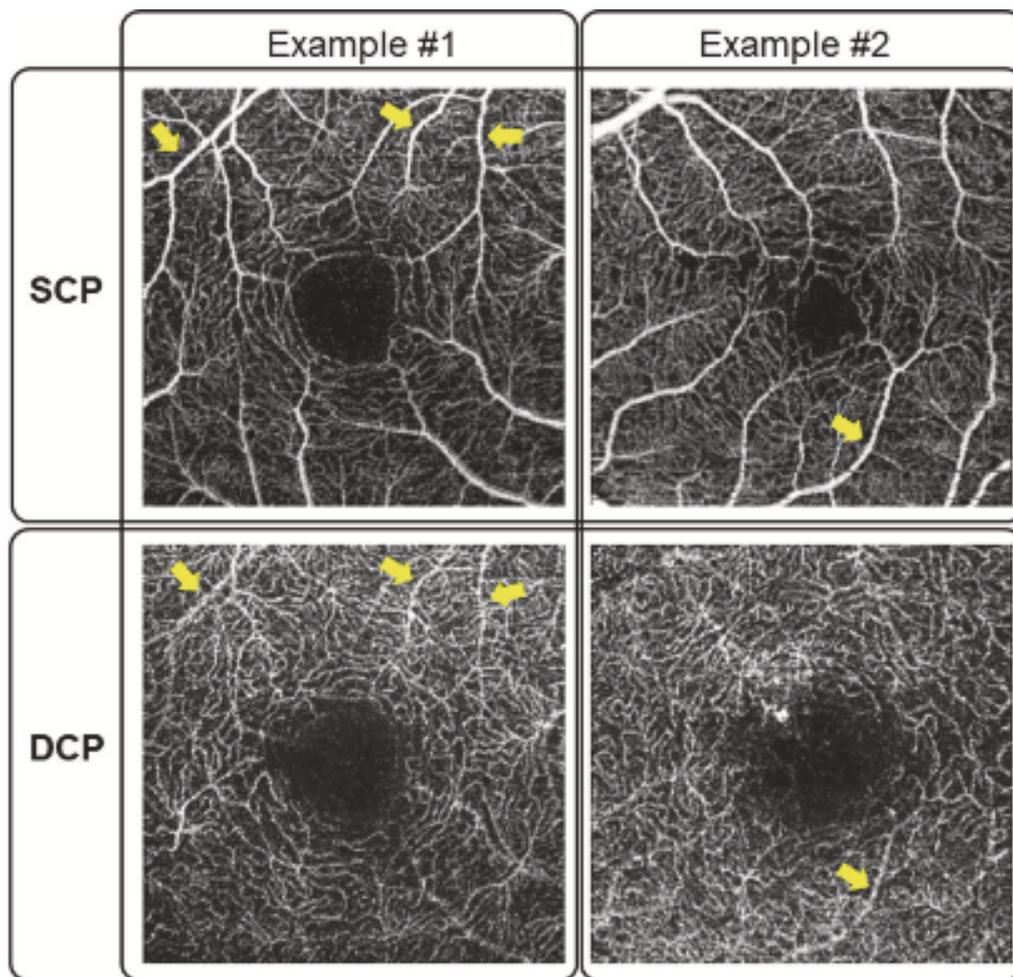


Figura 6. Esempio di artefatti da proiezione, in cui alcuni dei vasi del plesso superficiale vengono riportati anche a livello del plesso profondo.

Fonte: Sun Z, Yang D, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: an updated review. *Eye (Lond)*. 2021 Jan;35(1):149-161. doi: 10.1038/s41433-020-01233-y.

1.2.3 I PARAMETRI VALUTABILI CON L'OCT-A

- *La zona avascolare foveale (FAZ)*

La FAZ è la regione della retina priva di bastoncelli e a maggior densità di coni, responsabile della visione centrale e priva di vascolarizzazione.¹⁷

Essendo priva di vascolarizzazione, per i principi dell'OCT-A, apparirà come una zona nera.

L'area della FAZ è un indice di cambiamenti microvascolari: nella retinopatia diabetica si osserva un allargamento della FAZ accompagnato da una perdita della sua regolarità a seguito della perdita dei piccoli capillari adiacenti ad essa.

I parametri tipicamente analizzati nella valutazione della FAZ sono:

- area
- perimetro
- circolarità

Il "Circularity Index" è una misura quantitativa che descrive quanto la forma di questo anello assomigli ad un cerchio perfetto.

La formula per il calcolo dell'indice di circolarità è:¹⁸

$$\text{Circularity Index} = \frac{4\pi \times \text{Area}}{\text{Perimeter}^2}$$

L'indice di circolarità varia da 0 a 1, con un valore pari a 1 che indica un cerchio perfetto. Un indice di circolarità inferiore può suggerire irregolarità o distorsioni nella forma dell'anello.¹⁸

Siccome per la dimensione della FAZ esiste una certa eterogeneità tra la popolazione normale, è importante considerarne la forma: è infatti la circolarità della FAZ il parametro più informativo sui cambiamenti microvascolari indotti dalla malattia. Nei pazienti affetti da RD, la FAZ assume una forma irregolare (**Figura 7**).¹⁰

La circolarità della FAZ valutata all'OCT-A funge da indicatore di perdita capillare e di ischemia maculare.¹⁹

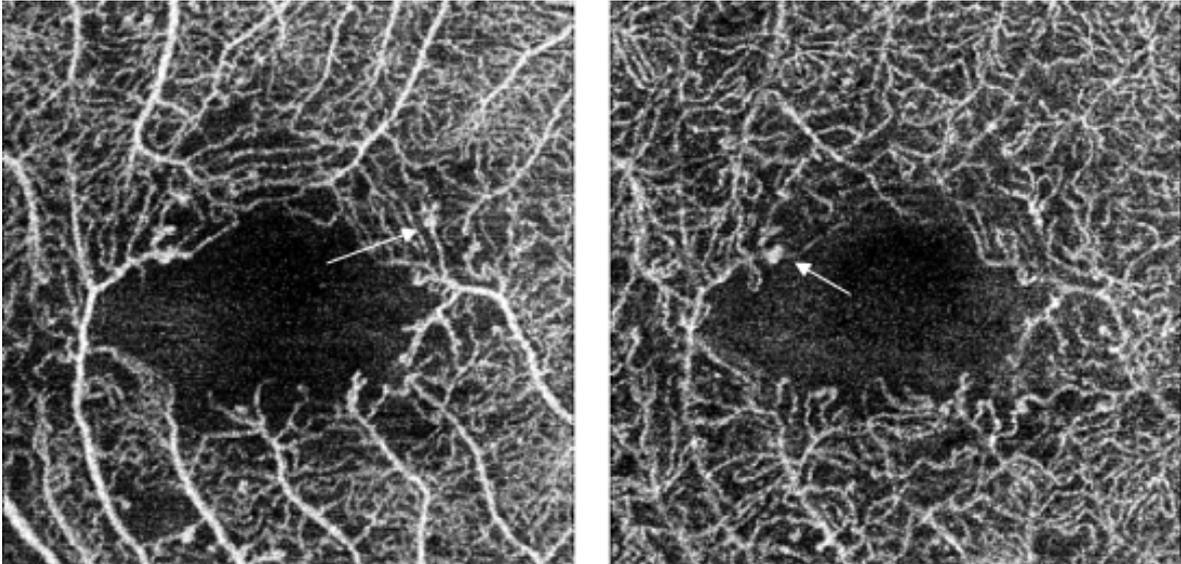


Figura 7. Esempi di OCT-A di paziente affetto da diabete (protocollo di scansione 3×3 mm) in cui si nota l'allargamento e l'irregolarità della FAZ in SCP e DCP con MA perifoveali (freccie).

- ***Perfusion density (PD)***

La PD è data dal rapporto tra l'area occupata dai vasi sanguigni nell'area analizzata rispetto all'area totale misurata su un'immagine binarizzata (**Figura 8**).

Rappresenta quindi la proporzione dell'area occupata dai vasi ed è indice dello stato di perfusione della stessa. Varia in base a età e sesso; in corso di RD è stata dimostrata una diminuzione di questo parametro con la progressione del grado di severità della malattia.¹⁷

- ***Vessel density (VD)/Vessel length density (VLD)***

La VD è definita come la lunghezza totale della vascolarizzazione nell'area analizzata divisa per l'area totale misurata su un'immagine scheletronizzata (**Figura 8**).

Ha il vantaggio di non essere influenzata dal diametro dei vasi in quanto nell'immagine scheletronizzata il diametro di tutti i vasi viene portato a 1 pixel.

Di conseguenza, rispetto alla PD, si ritiene che la VD sia più sensibile ai cambiamenti di perfusione a livello capillare.¹⁷

- ***Vessel diameter index (VDI)***

Il VDI è dato dal rapporto tra l'area totale dei vasi sull'immagine binarizzata e la lunghezza totale dei vasi sull'immagine scheletronizzata e rappresenta il calibro medio dei vasi sanguigni.¹⁷

- ***Fractal dimension (FD)***

La dimensione frattale misura la complessità di ramificazione di una struttura biologica come l'albero vascolare.¹⁷

Un frattale è un oggetto geometrico dotato di omotetia interna, si ripete cioè nella sua forma allo stesso modo su scale diverse di grandezza: una sua qualunque parte è simile all'originale.

La dimensione frattale viene calcolata da un tracciato di linee scheletronizzate tramite l'utilizzo del metodo del conteggio delle scatole: si divide ogni immagine in una serie di quadrati per varie lunghezze laterali e viene contato il numero di scatole.¹⁷

Questa caratteristica è chiamata anche autosomiglianza.

- ***La tortuosità del vaso***

La tortuosità del vaso retinico è definita come l'integrale del quadrato di curvatura lungo il percorso del vaso, normalizzato dalla lunghezza totale del percorso.

Nel caso della retinopatia diabetica, spesso i pazienti presentano una maggior tortuosità dei vasi rispetto ai controlli sani. Questo parametro può essere anche un indicatore precoce di danno vascolare alla retina.¹⁷

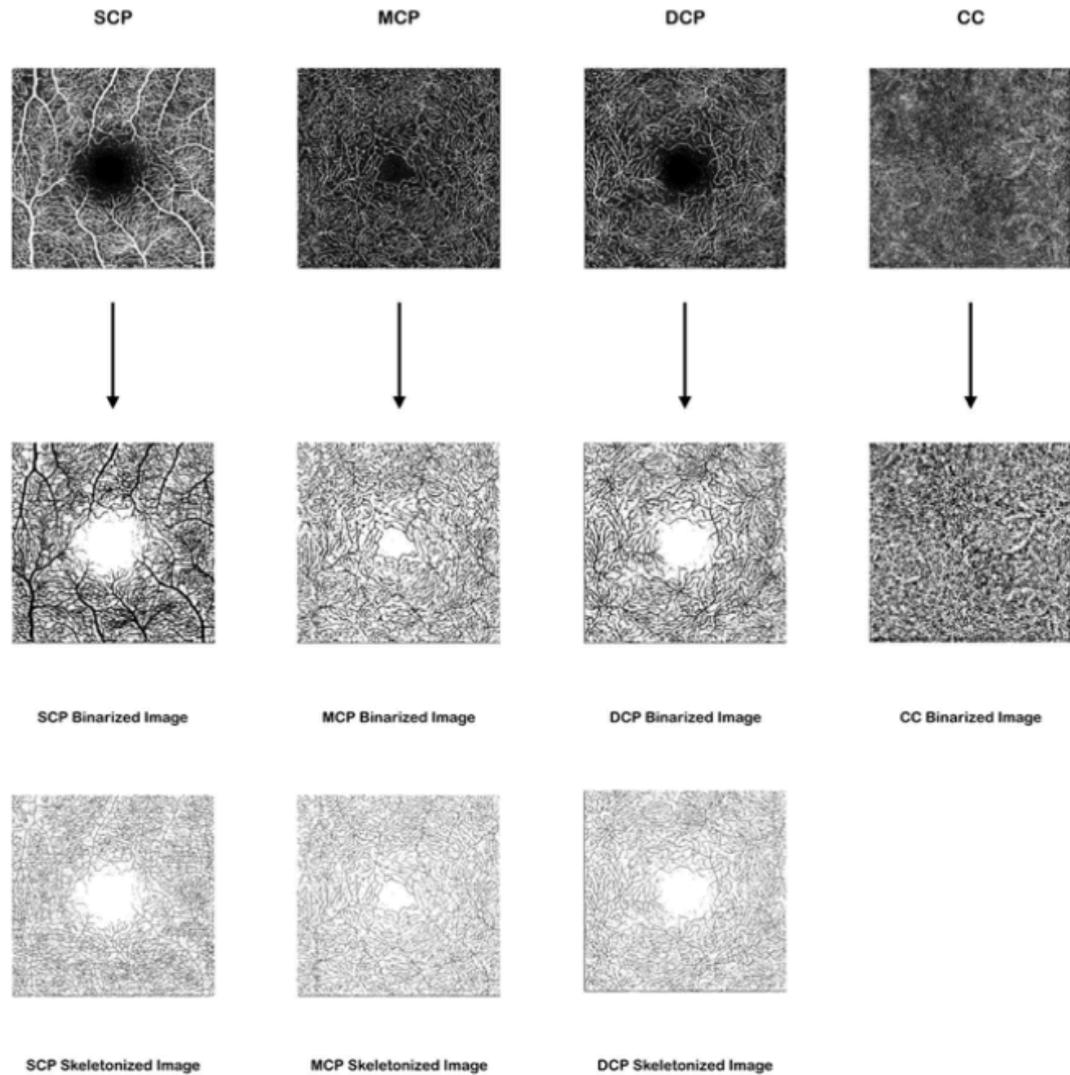


Figura 8. Esempi di immagini binarizzate e scheletronizzate. Le immagini OCT-A possono essere soggette a soglia per ottenere immagini binarizzate e scheletronizzate al fine di permettere di eseguire analisi quantitative. La soglia viene utilizzata per creare immagini binarie a partire da immagini in scala di grigi, in cui i pixel sopra la soglia applicata sono mostrati come neri, e i pixel che si trovano sotto la soglia sono mostrati come bianchi.

Borrelli E, Sadda SR, Uji A, Querques G. Pearls and Pitfalls of Optical Coherence Tomography Angiography Imaging: A Review. *Ophthalmol Ther.* 2019 Jun;8(2):215-226. doi: 10.1007/s40123-019-0178-6. Epub 2019 Mar 13.

1.2.4 I PARAMETRI QUANTITATIVI OCT-A NELLA RD

Utilizzando le metriche quantitative, l'OCT-A può rivelare la presenza di alterazioni ancora prima che vi sia una RD clinicamente conclamata.^{19,20}

In particolare, sono stati osservati:

- l'ampliamento dell'area e del perimetro della FAZ
- l'aumento dell'acircularità dell'area FAZ
- la riduzione di VD e PD
- l'aumento del VDI
- la diminuzione della FD
- l'aumento della tortuosità dei vasi

Le alterazioni più significative sono state osservate a carico del DCP, probabilmente più suscettibile ai danni ipossici conseguenti allo stato di iperglicemia cronica.

Una possibile spiegazione sta nella sede anatomica del DCP, che si trova in una zona spartiacque adiacente allo strato plessiforme esterno che necessita di un elevato fabbisogno di ossigeno.¹⁷

1.2.5 L'OCT-A E LA FLUOROANGIOGRAFIA

Per questa sua capacità di rilevare il microcircolo retinico, spesso l'OCT-A viene messo a confronto con la fluoroangiografia, una tecnica di imaging invasiva che richiede la somministrazione endovenosa di colorante.

È bene precisare che le due metodiche più che “rivali” debbano essere considerate “alleate” e che quindi siano risorse diagnostiche da utilizzare in momenti diversi durante l'iter diagnostico e nel follow-up del paziente diabetico.

Analizzando le loro caratteristiche, infatti, emerge come l'OCT-A sia uno strumento:

- non invasivo
- rapido
- poco costoso
- che restituisce un'immagine tridimensionale

- che discrimina i plessi superficiale e profondo
- privo di rischi.¹⁰⁻¹²

Mentre la fluoroangiografia:

- è invasiva
- richiede più tempo
- è costosa
- restituisce un'immagine bidimensionale
- è essenziale per rilevare l'ischemia retinica e i neovasi
- non discrimina i plessi
- può dare effetti collaterali dati dal colorante.¹⁷

1.3 I MICROANEURISMI

I microaneurismi (MA) sono il primo segno visibile di RD e sono identificabili all'esame del fondo oculare come lesioni puntiformi di colore rosso, con diametro compreso tra 25 e 100 micron, caratterizzate da una dilatazione sacciforme della parete capillare come conseguenza dell'iperglicemia cronica.^{17,21}

La genesi dei microaneurismi è associata alla perdita di periciti che a loro volta vengono compensati dalla proliferazione delle cellule endoteliali.²¹ Sono da considerare un marker che indica l'attività della malattia, rappresentando anche una delle alterazioni più precoci riscontrabili; è stato dimostrato che l'aumento del numero di MA e il turnover dei MA sono associati a un rischio più elevato di progressione della retinopatia diabetica.²²

1.3.1 COME IDENTIFICARE I MICROANEURISMI

Le metodologie diagnostiche per identificare i microaneurismi rispecchiano quelle usate anche per la diagnosi e il monitoraggio della retinopatia diabetica.

Si può infatti iniziare da un'indagine clinica mediante l'esame del fondo oculare in condizioni di midriasi farmacologica: i microaneurismi vengono identificati come lesioni puntiformi di colore rosso intenso di diametro compreso tra 25 e 100 μm .⁷

In alcuni casi è necessario sottoporre il paziente a indagini strumentali aggiuntive che permettano di quantificarli con precisione e di valutarne la possibile associazione con fenomeni essudativi (in particolare se localizzati al polo posteriore).²²

Per questo, si possono utilizzare (**Figura 9**):

- l'angiografia con fluoresceina (FA), che rileva i microaneurismi come punti iperfluorescenti fin dalle fasi iniziali dell'esame cui si possono associare fenomeni di leakage in caso di essudazione degli stessi. Questa metodica non è tuttavia adatta per screening frequenti a causa del dispendio di tempo, dei costi e dei possibili effetti collaterali. Inoltre, non essendo in grado di discriminare i vari plessi retinici, non dà informazioni sulla sede dei MA nel contesto dello spessore della neuroretina;
- l'OCT-A, che visualizza i microaneurismi come segnali di flusso intraretinico con un bordo circolare o ovale a livello di SCP, DCP o ICP.

Tuttavia, alcuni microaneurismi possono non essere visibili in OCT-A, nel caso di flusso troppo lento/assente al loro interno o, al contrario, troppo veloce/turbolento.²²

Esiste però una correlazione tra la riflettività interna del microaneurisma in OCT strutturale e la sua rilevabilità in OCT-A: è più probabile, infatti, che i microaneurismi con una maggiore riflettività interna risultino più facilmente visibili in OCT-A, in quanto questa visibilità è influenzata dalla turbolenza del flusso sanguigno all'interno dei MA stessi.^{17,23}

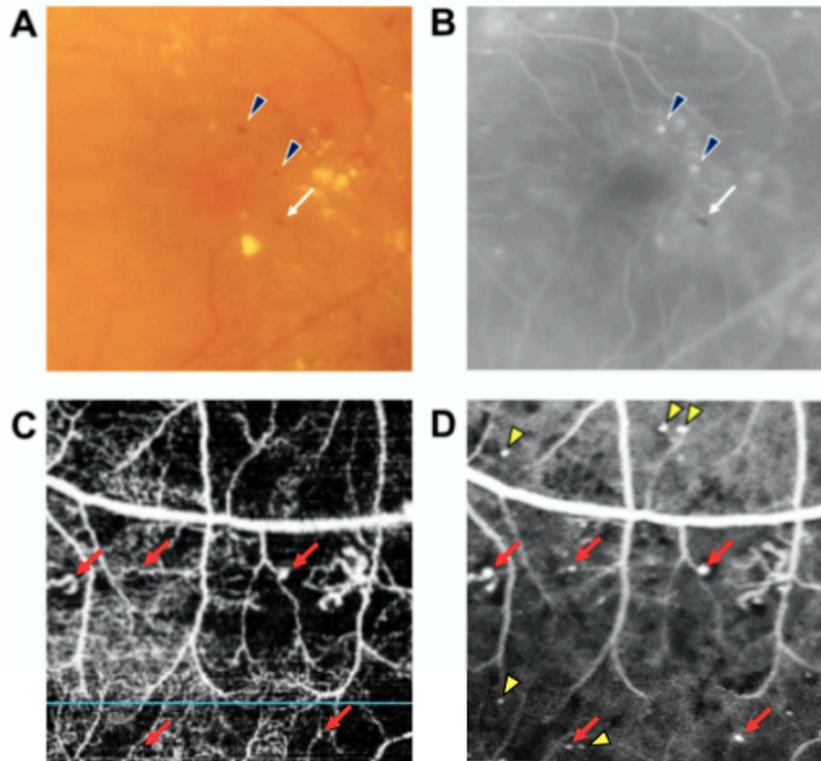


Figura 9.

- (A) Sia i microaneurismi (MA) che le emorragie puntiformi sono mostrati come punti rossi sulle fotografie del fondo oculare.
- (B) I MA sono raffigurati come iperfluorescenti (punte di freccia nere) e le emorragie come ipofluorescenti (freccie bianche) sull'angiografia con fluoresceina (FA).
- (C) Nel rilevamento di MA da parte di OCT-A, vengono rilevati alcuni MA rappresentati da FA (freccie rosse)
- (D) mentre altri no (freccie gialle).

Fonte: Takamura Y, Yamada Y, Inatani M. Role of Microaneurysms in the Pathogenesis and Therapy of Diabetic Macular Edema: A Descriptive Review. *Medicina (Kaunas)*. 2023 Feb 22;59(3):435. Doi: 10.3390/medicina59030435.

1.3.2 MECCANISMI PATOGENETICI E FISIOPATOLOGIA

La patogenesi dei microaneurismi non è stata ancora del tutto chiarita. Potrebbero essere causati da un'anomalia strutturale dovuta a estroflessioni della parete vascolare o rappresentare tentativi abortiti di una neovascolarizzazione retinica.²⁴

Ci sono però degli elementi che ricorrono in maniera variabile e sono strettamente legati alla formazione dei microaneurismi, tra cui:

- la perdita dei periciti;
- le alterazioni della membrana basale;
- la proliferazione endoteliale;
- l'aumento delle forze emodinamiche capillari;
- la sovraregolazione dei fattori di crescita vasoproliferativi.²⁴⁻²⁶

Si deduce quindi che i meccanismi patogenetici dei MA siano complessi e non possano essere attribuiti a un singolo fattore.

Il microaneurisma retinico è stato analizzato istologicamente e questo ha permesso di definirne i vari stadi evolutivi (**Figura 10**):

1. lo stadio iniziale (MA di tipo 1), è caratterizzato dall'occlusione luminale dovuta all'accumulo di monociti e leucociti;
2. MA di tipo 2
3. e di tipo 3, caratterizzati dalla perdita di periciti e da una quantità variabile di globuli rossi che si infiltrano nel lume del microaneurisma;
4. MA di tipo 4, caratterizzati da una membrana basale densa e ispessita, con proliferazione di matrice extracellulare all'interno del lume.²⁴

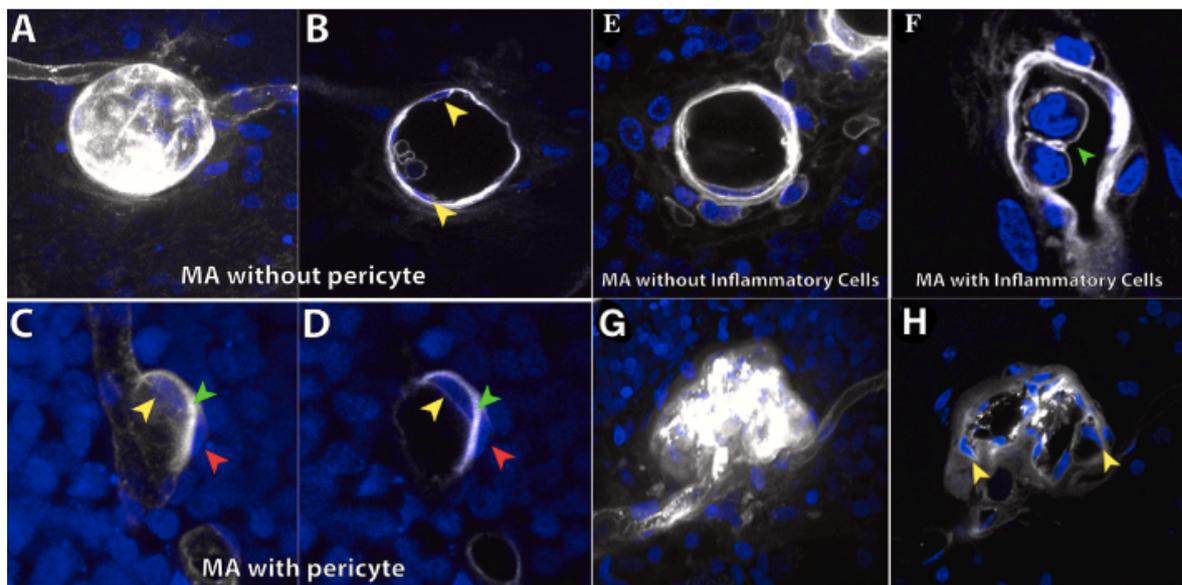


Figura 10. Stadi evolutivi dei microaneurismi. A e B: stadio 1 in cui sono conservati i periciti, C e D: stadio 2 e 3 con perdita di periciti, E e F: stadio 4 con e senza infiammazione, G e H: stadio 4, setti e proliferazione endoteliale

Fonte: Balaratnasingam C, An D, et al. Studies of the retinal microcirculation using human donor eyes and high-resolution clinical imaging: Insights gained to guide future research in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2023 May;94:101134. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101134. Epub 2022 Oct 29.

È molto importante comprendere la fisiopatologia dei microaneurismi per diversi motivi:

- poiché ritardare o prevenire la formazione di microaneurismi potrebbe arrestare lo sviluppo di altre complicanze vascolari retiniche come l'ischemia e la neovascolarizzazione retinica;
- per capire perché alcuni microaneurismi regrediscono, in quanto è stato dimostrato esserci un turnover dei MA (**Figura 11**);
- per comprendere il ciclo di vita e le proprietà quantitative dei microaneurismi, come il tasso di turnover e il conteggio dei microaneurismi, in quanto sono strettamente legati al rischio di progressione della retinopatia;
- poiché la formazione dei microaneurismi può causare un ispessimento retinico, una distorsione dell'organizzazione stratificata degli strati retinici e un accumulo di fluido intraretinico.²⁴

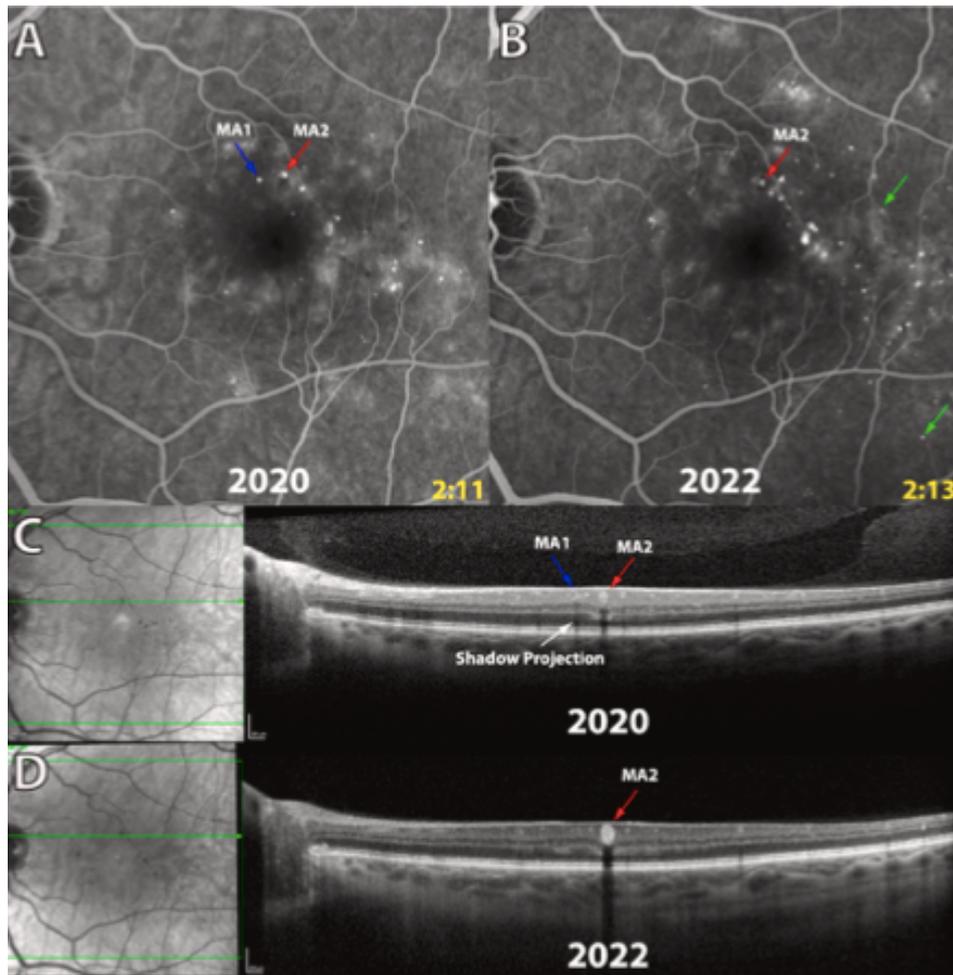
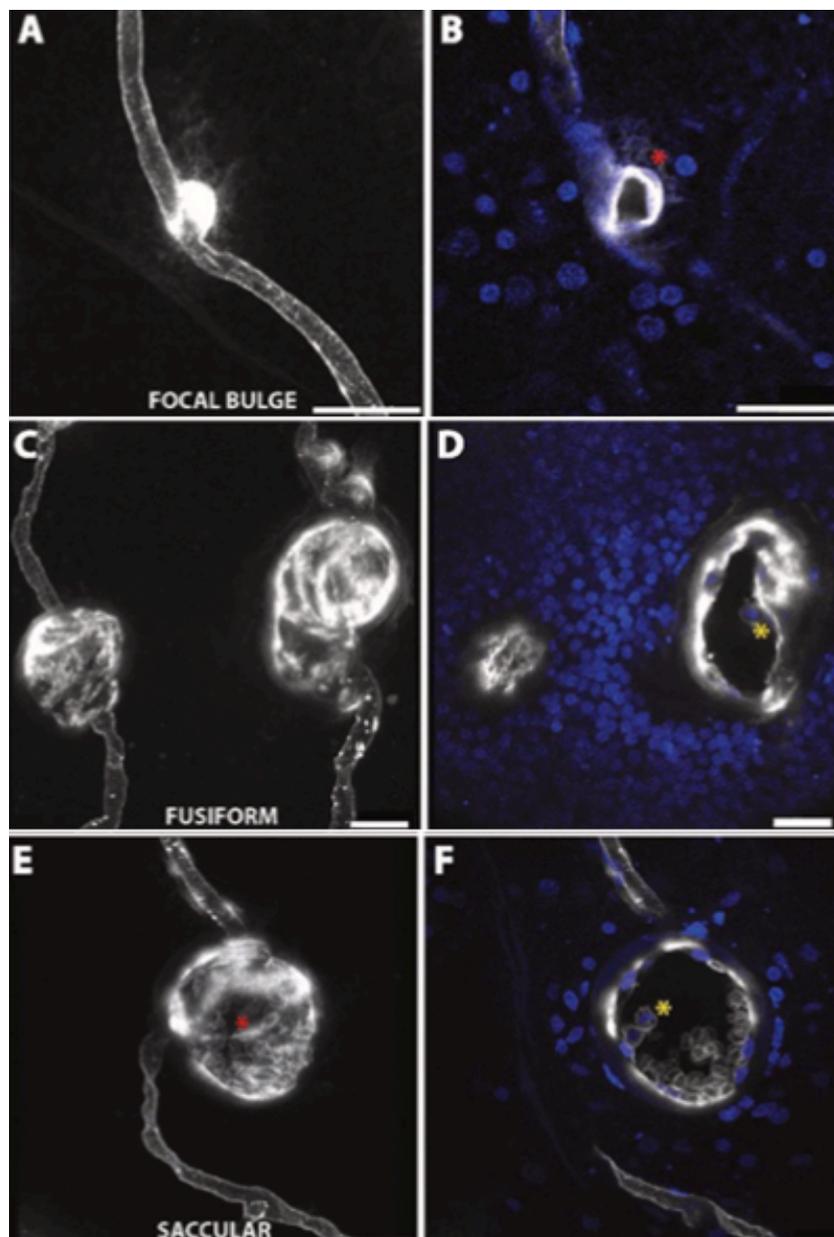


Figura 11. Crescita e regressione dei microaneurismi tra il 2020 e il 2022.

Fonte: Balaratnasingam C, An D, et al. Studies of the retinal microcirculation using human donor eyes and high-resolution clinical imaging: Insights gained to guide future research in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2023 May;94:101134. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101134. Epub 2022 Oct 29.

1.3.3 MORFOLOGIA DEI MICROANEURISMI

Dalle indagini istologiche, è stato possibile definire diverse tipologie morfologiche dei microaneurismi (**Figura 12**):²⁴



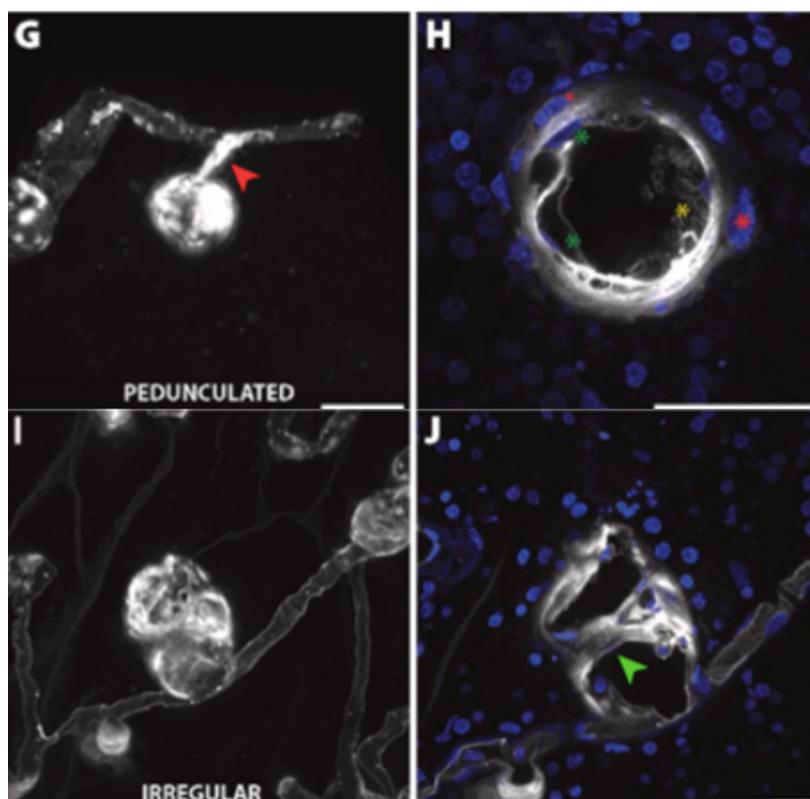


Figura 12. A sinistra è rappresentata l'immagine di proiezione a tutto spessore per evidenziare ciascuna delle morfologie dei MA. Il pannello di destra rappresenta una singola fetta di sezione trasversale con colorazione nucleare per illustrare la struttura interna di ciascuno di questi MA.

Fonte: Balaratnasingam C, An D, et al. Studies of the retinal microcirculation using human donor eyes and high-resolution clinical imaging: Insights gained to guide future research in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2023 May;94:101134. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101134. Epub 2022 Oct 29.

- RIGONFIAMENTO FOCALE (A e B): piccolo microaneurisma in cui la larghezza combinata del microaneurisma e del capillare di alimentazione misura meno del doppio della larghezza di un segmento sano del capillare di alimentazione.²⁴
- FUSIFORME (C e D): microaneurisma con dilatazione su entrambi i lati del capillare con meno del 75% dell'area totale del microaneurisma su entrambi i lati del capillare.²⁴
- SACCULARE (E e F): microaneurisma con dilatazione verso un lato del capillare con più del 75% dell'area totale del microaneurisma su entrambi i lati del capillare. I microaneurismi saccolari hanno una morfologia relativamente arrotondata nella vista en face.²⁴

- PEDUNCOLATO (**G** e **H**): microaneurisma con un singolo segmento capillare associato e un segmento distale occluso.²⁴
- IRREGOLARE (**I** e **J**): microaneurisma con dilatazione verso un lato del capillare con più del 75% dell'area totale del microaneurisma su entrambi i lati del capillare ma con una morfologia superficiale complessa e irregolare.²⁴

1.3.4 L'USO DELL'OCT-A NELLA RICERCA DEI MICROANEURIMI

L'OCT-A ha dimostrato che circa l'80% dei microaneurismi è distribuito nel plesso capillare profondo (DCP) della retina.²²

Bisogna analizzare attentamente il significato di questo fenomeno valutando che:

1. alcuni microaneurismi potrebbero essere proiezioni dal plesso superficiale sugli strati più profondi: questo aumenterebbe falsamente i numeri conteggiati nel DCP. In questo caso è utile l'utilizzo dell'opzione di rimozione degli artefatti tramite i software appositi;
2. anatomicamente, la maggior parte dei capillari si trova nel DCP e questi sono circondati solo da periciti. Pertanto, è ragionevole che la maggior parte delle MA si trovi nel DCP.²²

1.4 L'ISCHEMIA NELLA RETINOPATIA DIABETICA

Il danno ischemico a carico del microcircolo capillare è l'evento vascolare principale responsabile della retinopatia diabetica.

Si ritiene che i microaneurismi siano un segno indiretto dell'ischemia retinica poiché, tramite le metodiche diagnostiche (in particolare con l'OCT-A), si è riscontrato un loro sviluppo in particolare ai margini delle aree capillari non perfuse.^{22,27,28}

Come riportato nei capitoli precedenti, la conseguenza più pericolosa dell'ischemia cronica retinica e coroideale è l'eccessiva produzione del fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF), che provoca poi la genesi dei neovasi, caratteristici della forma neovascolare.

Insieme al DME, l'ischemia maculare diabetica (DMI) rappresenta una delle principali cause di cecità nella retinopatia diabetica.²⁹

Istologicamente, l'ischemia colpisce maggiormente gli strati retinici esterni, dal momento che sono più sensibili alla mancanza di ossigeno.⁸

1.4.1 ISCHEMIA MACULARE DIABETICA

Con il termine ischemia maculare diabetica si intende, istologicamente, la perdita dei capillari associata al restringimento o all'occlusione delle arteriole precapillari, con conseguente riduzione del flusso sanguigno a valle dell'occlusione in sede maculare.²⁹

Questa ridotta perfusione retinica è correlata alla precedente perdita di periciti e ispessimento della membrana basale, a loro volta conseguenti all'iperglicemia.²⁸

A seguito di ischemia e ipossia, la retina e l'EPR producono e rilasciano fattori di crescita dell'endotelio vascolare, in particolare alti livelli di VEGF, a cui consegue un'iperpermeabilità vasale che può dar luogo allo sviluppo di diverse conseguenze, quali: il DME, la crescita di neovasi sulla retina e sul disco ottico, la neovascolarizzazione dell'iride.²⁹

I pazienti con DM mostrano tipicamente una riduzione della densità capillare.

L'ischemia maculare diabetica (DMI) è associata ad un allargamento e ad una perdita di regolarità della FAZ, con perdita dei capillari retinici in aree non contigue della macula; queste rappresentano importanti informazioni cliniche e prognostiche sulla gravità della malattia e predittive della progressione della retinopatia diabetica.^{10,30}

Il DMI può anche essere considerato un fattore predittivo indipendente per la progressione della retinopatia diabetica e la perdita della vista: identificare l'ischemia maculare al basale può portare a un monitoraggio più attento del paziente.¹⁰

Ad oggi, per la valutazione dell'ischemia maculare diabetica sono usate la fluoroangiografia e l'angiografia con tomografia a coerenza ottica (OCT-A).

- ***La fluoroangiografia nella valutazione del DMI***

L'angiografia con fluoresceina rappresenta il gold standard per identificare le malattie ischemiche maculari. Le zone ischemiche appaiono come aree ipofluorescenti della retina a causa dell'assenza di sangue nei vasi sanguigni maculari. Intorno alle regioni ischemiche, si visualizzano aree con distorsioni del microcircolo, come dilatazioni arteriolari e capillari. Anche alla FA si può notare l'allargamento e l'irregolarità della FAZ così come la disposizione dei capillari maculari allargati e molto distanziati proprio a rappresentare un certo grado di perdita capillare, anche se senza discriminare tra i diversi plessi retinici; entrambe queste caratteristiche sono diagnostiche di DMI.³⁰

Durante l'angiografia ci si concentra su due fasi:

- fase iniziale (**Figura 13**), con un riempimento precoce dei vasi sanguigni in cui è possibile rilevare eventuali anomalie o ritardi di perfusione;³¹

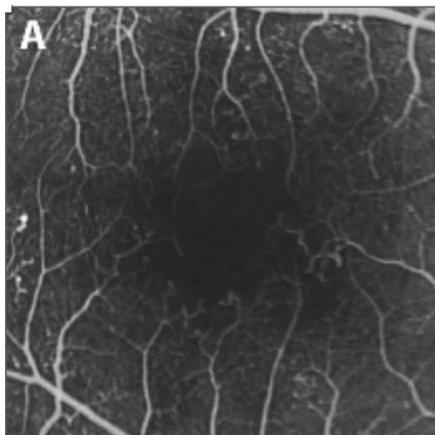


Figura 13. FA in fase iniziale che dimostra irregolarità del contorno della FAZ e ampliamento degli spazi capillari perifoveali.

Fonte: Bradley PD, et al. The Evaluation of Diabetic Macular Ischemia Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Feb;57(2):626-31. doi: 10.1167/iovs.15-18034.

- fase tardiva, in cui la fluoresceina inizia ad essere eliminata e tende a permanere più a lungo nei tessuti patologici; nello specifico del DMI si possono notare delle aree di non perfusione o fuoriuscita del colorante se il vaso dovesse essere danneggiato, nel caso, ad esempio, di edema maculare associato.³¹

L'FA è quindi un utile strumento per valutare l'entità dell'ischemia, identificare aree di perdita capillare, la presenza di edema maculare e successivamente guidare le decisioni terapeutiche.³⁰

- *L'OCT-A nella valutazione del DMI*

Le aree di non perfusione vengono identificate come regioni scure, circondate da alcuni capillari irregolari, dilatati o ad ansa. Per distinguerli da eventuali raccolte cistiche, è bene associare l'immagine OCT-A con la sezione trasversale dell'OCT B-scan in modo tale da distinguere se si tratti di perdita capillare o di formazioni cistiche piene di liquido. L'OCT-A distingue la vascolarizzazione dei vari plessi (**Figura 14**).³¹

Un altro importante vantaggio dell'OCT-A è quello di poter individuare precocemente le alterazioni vascolari dimostrando segni precoci di ridotta perfusione in regione maculare anche in assenza di manifestazioni cliniche visibili della retinopatia diabetica.³¹

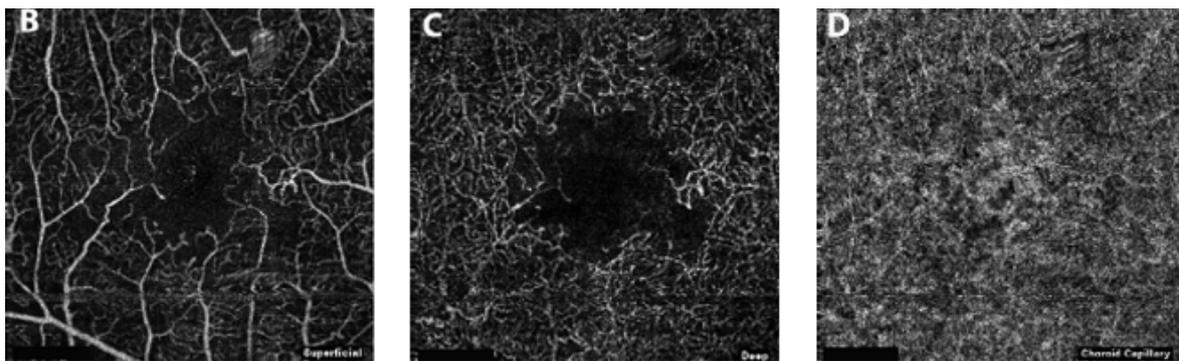


Figura 14. OCT-A del plesso capillare superficiale (B) mostra l'irregolarità del contorno della FAZ e l'ampliamento degli spazi capillari perifoveali. OCT-A del plesso capillare profondo (C) con riduzione della densità capillare nelle aree corrispondenti al plesso superficiale dove si osservava l'allargamento degli spazi capillari perifoveali. Omogeneità dell'iperriflettanza conservata nella coriocapillare (D) e assenza di deficit di segnale.

Fonte: Bradley PD, Sim DA, et al. The Evaluation of Diabetic Macular Ischemia Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Feb;57(2):626-31. doi: 10.1167/iovs.15-18034.

Per la valutazione quantitativa del DMI in corso di RD sono stati utilizzati diversi parametri di perfusione, oltre ai già citati PD, VD, FD e FAZ:

- l'area intercapillare perifoveale (**Figura 15**)
- l'area avascolare totale
- l'area avascolare extrafoveale.¹⁰

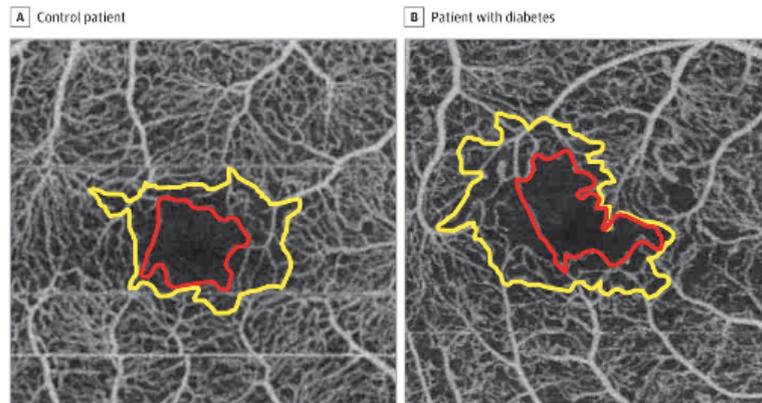


Figura 15. La linea rossa rappresenta la FAZ e la linea gialla indica l'area intercapillare perifoveale. Si mette a confronto un paziente di controllo senza storia di diabete (A), con un paziente con diabete e retinopatia diabetica proliferativa (B) in cui si nota l'aumento delle dimensioni e dell'irregolarità della zona di non flusso foveale e dell'area intercapillare perifoveale.

Fonte: Salz DA, de Carlo TE, et al. Select Features of Diabetic Retinopathy on Swept-Source Optical Coherence Tomographic Angiography Compared With Fluorescein Angiography and Normal Eyes. *JAMA Ophthalmol.* 2016 Jun 1;134(6):644-50. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.0600.

L'OCT-A può rilevare le aree di non perfusione (NPA) non solo a livello di SCP, ma anche nell'ICP e nel DCP con una sensibilità del 98% e una specificità dell'82%.²²

Il flusso sanguigno al DCP dipende in modo critico dall'ICP e qualsiasi insulto all'ICP (o a monte dell'ICP) può rendere gli strati più profondi della retina ischemici o anossici: una tale disposizione dei percorsi di afflusso e deflusso (**Figura 16**) rende il DCP particolarmente vulnerabile agli insulti ischemici. Patologie vascolari, come la RD, possono portare a una grave ipoperfusione del DCP prima di influenzare l'ICP e l'SCP.²⁴

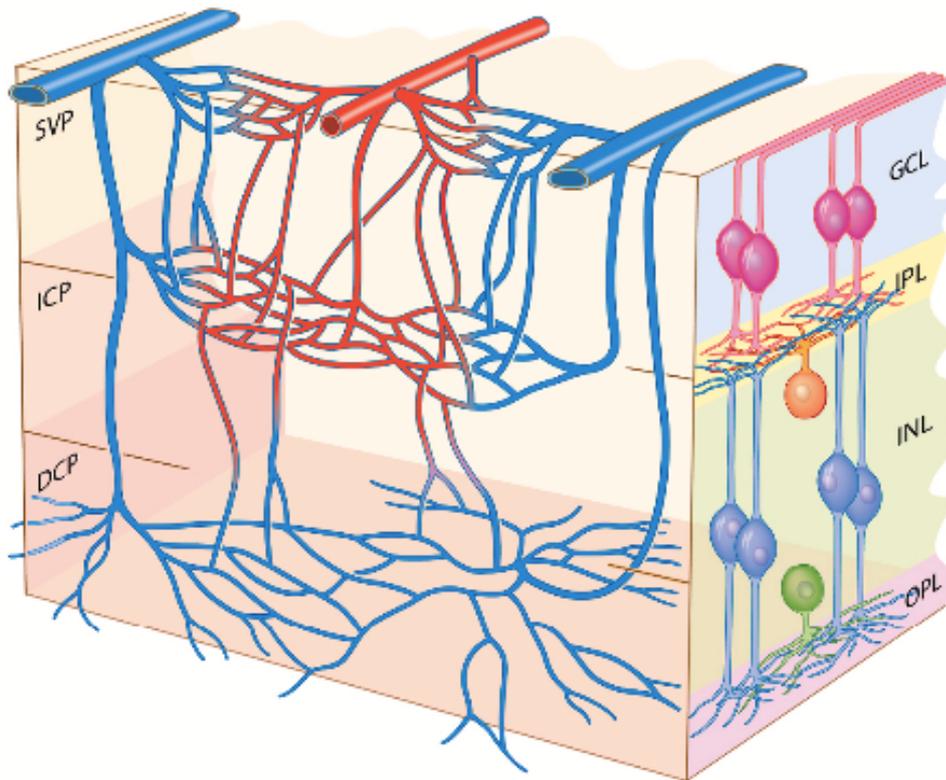


Figura 16. La disposizione dei plessi superficiale, intermedio e profondo e la loro corrispondenza con gli strati retinici:

- SCP si trova a livello dello strato delle cellule gangliari (GCL).
- ICP si trova tra lo strato plessiforme interno e il margine interno dello strato nucleare interno (INL).
- DCP si trova a livello dello strato nucleare interno (INL) e dello strato plessiforme esterno.

Fonte: Balaratnasingam C, An D, et al. Studies of the retinal microcirculation using human donor eyes and high-resolution clinical imaging: Insights gained to guide future research in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2023 May;94:101134. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101134. Epub 2022 Oct 29.

Sia SCP che ICP ricevono l'apporto arteriolare diretto da un'arteria retinica. L'SCP e l'ICP sono interconnessi da numerosi vasi su entrambi gli aspetti arteriolare e venulare. Al contrario, il DCP è fornito solo da piccole arteriole che originano dall'ICP.

Tutti e tre i plessi formano venule che drenano nella vena retinica situata a livello del SCP.

1.4.2 L'ASSOCIAZIONE TRA L'ISCHEMIA E I MICROANEURISMI

È stato dimostrato, tramite fluoroangiografia e OCT-A, che esiste un'associazione geografica e funzionale tra i microaneurismi e le aree ischemiche, in quanto i MA tendono a circondare le aree di non perfusione. Tuttavia, circa 1/3 dei microaneurismi si sviluppa in zone con perfusione conservata (**Figura 17**).^{10,22,28}

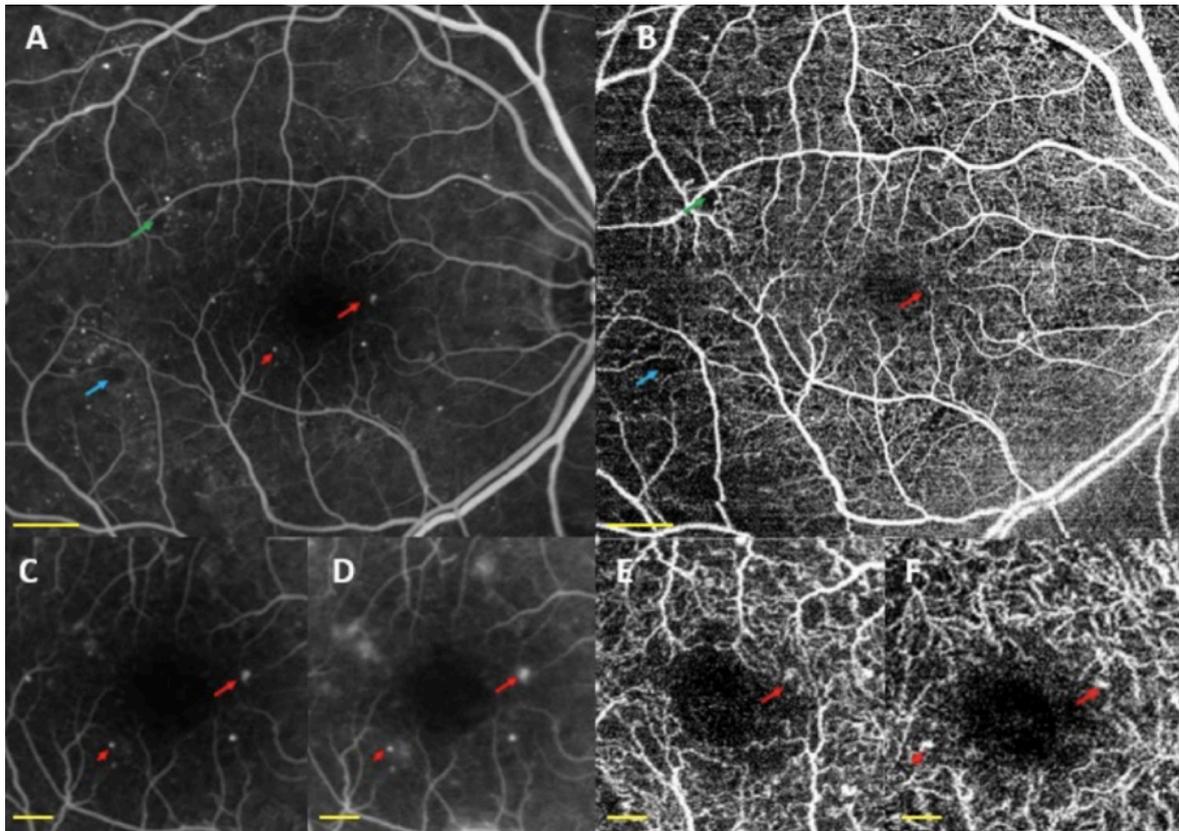


Figura 17. Microaneurismi (freccia rossa e punta di freccia) in pazienti diabetici associati ad aree di non perfusione (freccie verdi e blu).

(A, C, D) → Angiografia con fluoresceina (FA)

(B, E, F) → SS-OCTA: SCP (E), DCP(F) 3x3mm, (B) 9x9mm.

Fonte: Boned-Murillo A, Albertos-Arranz H, et al. Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review. *Biomedicines*. 2021 Dec 31;10(1):88. doi: 10.3390/biomedicines10010088.

Associate all'ischemia retinica troviamo diverse citochine:

- VEGF
- ANG-2
- TGF-beta

Le stesse sono anche associate alla patogenesi dei microaneurismi: la perdita dei periciti e la proliferazione delle cellule endoteliali può avvenire infatti in modo VEGF-dipendente o indipendente.²²

Inoltre, come detto in precedenza, i microaneurismi non rimangono stabili nella retina di un paziente con retinopatia diabetica ma subiscono un turnover (comparsa e scomparsa) tramite un processo dinamico: riflettono così l'attività della malattia rappresentando un predittore della progressione della stessa.³⁴⁻³⁶

Il turnover dei microaneurismi è anche influenzato dal trattamento anti-VEGF, per cui può essere anche utilizzato come biomarcatore per la risposta al trattamento.³⁶

Risulta importante l'utilizzo dell'OCT-A per il monitoraggio di questo turnover.

CAPITOLO SECONDO – OBIETTIVO DELLO STUDIO

L'obiettivo del presente studio è quello di valutare e confrontare diversi biomarcatori retinici quantitativi non invasivi acquisiti tramite l'utilizzo di OCT e OCT-A, al fine di studiare il danno microvascolare e neurodegenerativo in pazienti affetti da retinopatia diabetica non proliferante (RDNP) di grado lieve e moderata con o senza MA localizzati nei 3 mm centrali della macula.

Lo scopo principale è quello di valutare la correlazione tra la presenza dei MA maculari, la loro localizzazione e la perfusione/neurodegenerazione maculare, mettendo questi dati a confronto con quelli ottenuti in pazienti affetti da RDNP ma senza MA maculari.

L'obiettivo secondario dello studio è stato quello di andare a valutare nel dettaglio diversi parametri di perfusione e neurodegenerazione che potrebbero essere utili nella valutazione clinica dei pazienti, al fine di identificare quello o quelli più utili nella valutazione del danno.

CAPITOLO TERZO – MATERIALI E METODI

3.1 TIPOLOGIA DI STUDIO E POPOLAZIONE

Questo studio è stato concepito come un'indagine prospettica, trasversale e comparativa caso-controllo, includente pazienti con RDNP di grado lieve e moderato.

Tutte le visite dello studio sono state effettuate presso il Servizio di Retina Medica dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Maggiore della Carità, Novara, Italia, tra maggio 2023 e maggio 2024. Lo studio ha aderito ai principi della Dichiarazione di Helsinki e ha ricevuto l'approvazione del Comitato Etico istituzionale (CE 352/2023); tutti i partecipanti hanno fornito il consenso informato scritto prima di qualsiasi procedura di studio.

I pazienti arruolati per lo studio sono stati selezionati in parte dall'ambulatorio di Retina Medica e in parte analizzando le retinografie a colori (EIDON, CenterVue, Padova, Italia) raccolte durante gli screening di pazienti affetti da DM effettuati in collaborazione con la diabetologia.

I dati raccolti sono stati quelli di pazienti con RDNP di grado lieve e moderato, poi suddivisi in due gruppi:

- Gruppo MA → pazienti che presentano MA nei 3 millimetri centrali della macula;
- Gruppo noMA → pazienti che non presentano MA nei 3 millimetri centrali della macula, utilizzati come controllo.

I criteri di abbinamento includevano l'età, il sesso, la durata della malattia e il controllo glicemico.

3.1.1 CRITERI DI INCLUSIONE E DI ESCLUSIONE

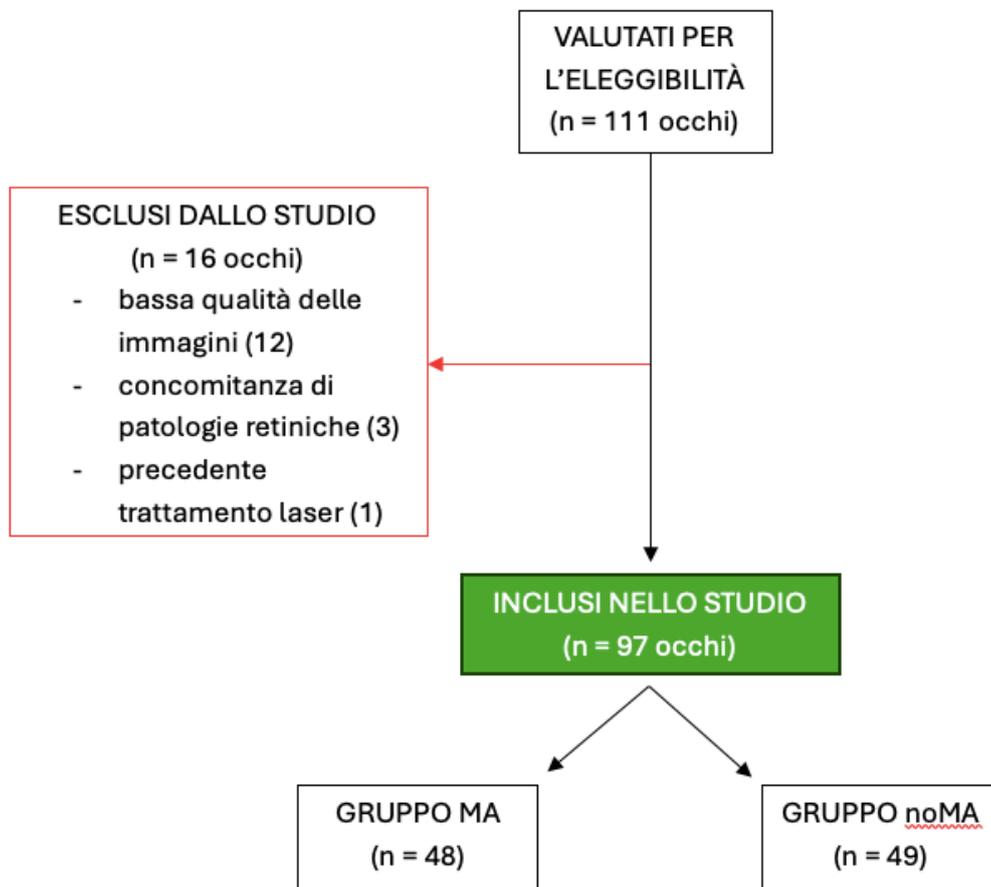
I criteri di inclusione comprendono: pazienti con RDNP lieve e moderata con o senza MA identificati sulla fotografia del fondo a colori (CFP - Color Fundus Photographs) in base all'attuale definizione CFP dei MA come punti rossi di diametro $<125 \mu\text{m}$.⁴⁸⁻⁵⁰

Tutti i pazienti arruolati sono stati quindi sottoposti anche a OCT e angio-OCT per la conferma della presenza dei MA centrali. Sono stati inclusi nello studio solo gli occhi con MA visibili con tutte le modalità di imaging.

I dati anamnestici sono stati raccolti attraverso colloquio con i soggetti e la revisione delle cartelle cliniche pregresse con particolare riguardo al tipo di diabete, alla durata della malattia, ai valori dell'HbA1c, all'anamnesi farmacologica e alle comorbidità.

I criteri di esclusione comprendono:

- età inferiore ai 18 anni;
- DME e RD proliferante in corso o precedenti nell'occhio in studio;
- presenza di DRIL o di alterazioni della retina esterna sulle scansioni OCT;
- qualsiasi malattia oculare o sistemica concomitante confondente i risultati (ad esempio una pressione arteriosa sistemica mal controllata);
- interventi chirurgici intraoculari nell'occhio di studio nei 6 mesi precedenti;
- errori di refrazione superiori a 4 diottrie;
- immagini di bassa qualità.



I pazienti di entrambi i gruppi presentavano una pressione arteriosa sistemica ben controllata (con o senza trattamento), con valori <140/90 mmHg il giorno dell'esame.

Inizialmente sono stati selezionati 111 occhi, di cui 97 soddisfacevano tutti i criteri di eleggibilità e questi sono stati arruolati nello studio.

Di questi, 48 sono stati inclusi ne gruppo MA mentre 49 sono stati inseriti nel gruppo noMA. Dei 16 occhi esclusi, 12 sono stati esclusi per bassa qualità delle immagini, 3 per concomitanza di altre patologie retiniche e 1 perché sottoposto precedentemente a trattamento con laser.

3.2 PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE DELLE IMMAGINI

Ogni partecipante è stato sottoposto a imaging retinico non invasivo dopo la dilatazione delle pupille con tropicamide 1% e fenilefrina cloridrato 5%.

Per le CFP è stata utilizzata la fotocamera EIDON (CenterVue, Padova, Italia) con acquisizione di 5 campi retinici delle dimensioni di 60°x55° (centrale, temporale, nasale, superiore, inferiore). Le immagini OCT e OCT-A sono state acquisite con swept source DRI-OCT/OCT-A Triton Plus (Topcon Medical Systems Europe, Milano, Italia). Il protocollo di acquisizione dello studio comprendeva una scansione OCT radiale di 6 millimetri centrata sulla fovea e una mappa OCT-A tridimensionale di 3x3 mm della macula (**Figura 18**).

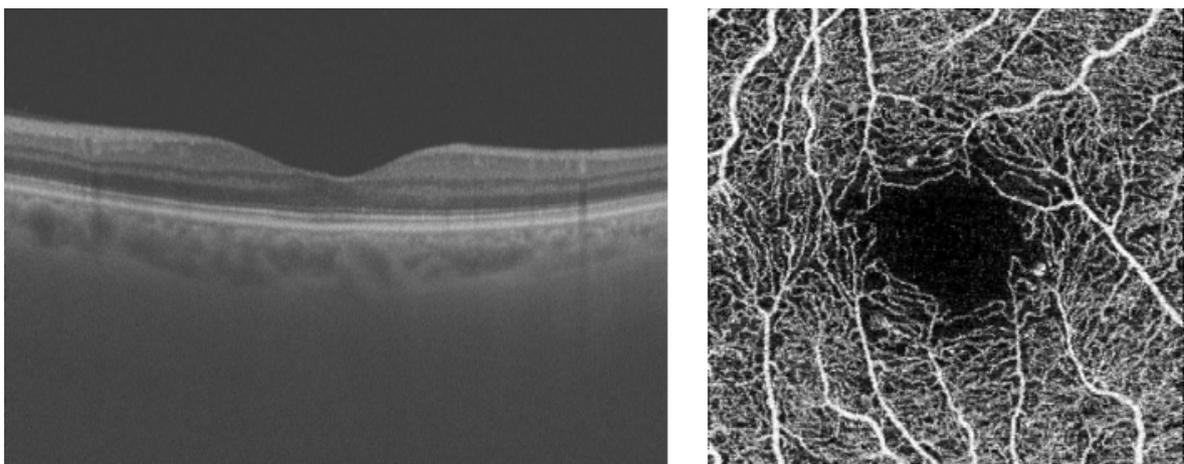


Figura 18. Esempi di scansione OCT radiale 6mm (a sinistra) e di OCT-A tridimensionale di 3x3 mm.

3.2.1 VALUTAZIONE OCT

Utilizzando la segmentazione automatica dello strumento per identificare i singoli strati, sono stati valutati i seguenti parametri (**Figura 19**) con l'OCT strutturale:

- CMT;
- spessore dello strato delle fibre nervose retiniche (RNFL);
- spessore del complesso dello strato delle cellule ganglionari (GCL+), localizzato tra l'interfaccia NFL/GCL e l'interfaccia dello strato plessiforme interno/strato nucleare interno (IPL/INL);
- spessore del complesso costituito dall'associazione tra RNFL e il GCL+ (GCL++), compreso tra l'interfaccia della membrana limitante interna/NFL e l'interfaccia IPL/INL.

Per ciascuno dei quattro spessori (CMT, RNFL, GCL+ e GCL++), sono stati presi, oltre all'area centrale, anche i dati perimetrali nominando ogni zona con:

- S: superiore
- N: nasale
- I: inferiore
- T: temporale

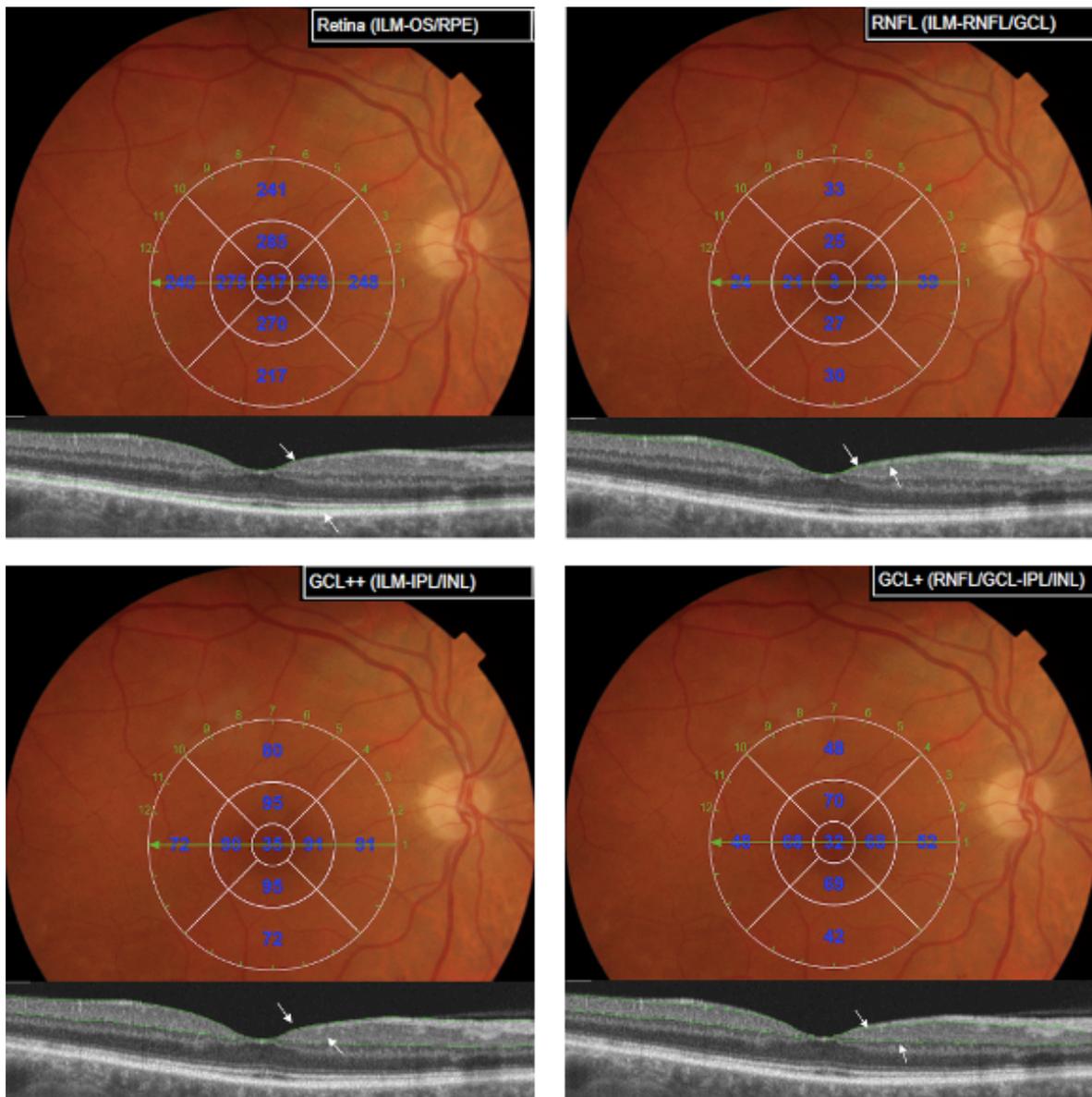


Figura 19. Spessori CTM, RNFL, GCL+, GCL++. Immagine del fondo a colori associata al B-Scan dell'OCT con riferimenti (freccie bianche) alla sezione presa in considerazione

3.2.2 VALUTAZIONE OCT-A

Le immagini OCT-A sono state inizialmente utilizzate per valutare qualitativamente la presenza, il numero e la localizzazione dei MA.

La localizzazione di MA è stata valutata sia in termini di plesso (solo nel SCP, solo nel DCP o visibili in entrambi i plessi) sia in riferimento della specifica posizione sulla base del quadrante coinvolto (superiore, nasale, inferiore e temporale).

La valutazione dei MA è stata eseguita separatamente da due classificatori e, in caso di disaccordo, un terzo esperto e specialista della retina ha preso la decisione finale.

I parametri analizzati in corrispondenza sia dell'SCP che del DCP sono stati:

- PD
- VD
- FD
- FAZ area, perimetro e CI

utilizzando scansioni OCT-A 3x3 mm, PD, VD e FD sono state calcolate utilizzando il software per analisi immagini MATLAB con script personalizzati (version 2017b; MathWorks, Natick, MA).

Il contorno della FAZ è stato delineato manualmente (**Figura 20**) e successivamente area e perimetro sono stati calcolati su SCP e DCP utilizzando il software ImageJ, versione 1.54 ([http:// imagej.nih.gov/ij/](http://imagej.nih.gov/ij/); fornito nel pubblico dominio dal National Institutes of Health, Bethesda, MD).

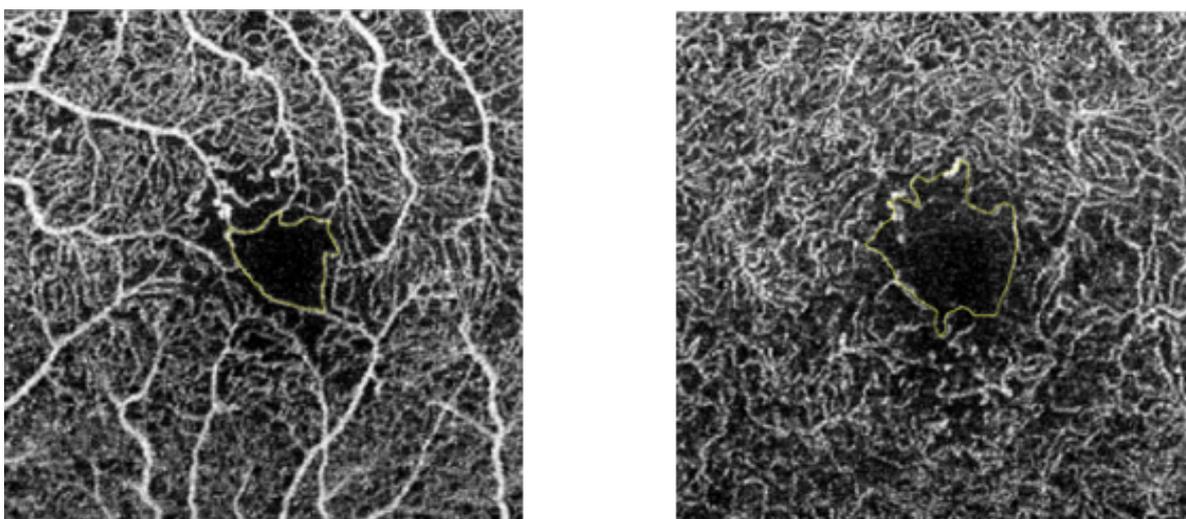


Figura 20. FAZ delineate manualmente con ImageJ (a destra SCP, a sinistra DCP)

Il Circularity Index (IC) è stato calcolato con la formula:

$$\text{Circularity Index} = \frac{4\pi \times \text{Area}}{\text{Perimeter}^2}$$

Per le analisi di SCP e DCP è stata utilizzata la segmentazione automatica originale fornita dallo strumento, dopo una revisione per valutarne l'effettiva correttezza.

Nello studio sono state prese in considerazione solo le immagini che risultavano prive di artefatti e con indice di intensità del segnale superiore a 50.

Tutte le valutazioni sono state effettuate prima sull'intera immagine e in un secondo momento suddividendo le immagini in quattro quadranti (**Figura 21**) per entrambi i plessi (superiore, nasale, inferiore e temporale).

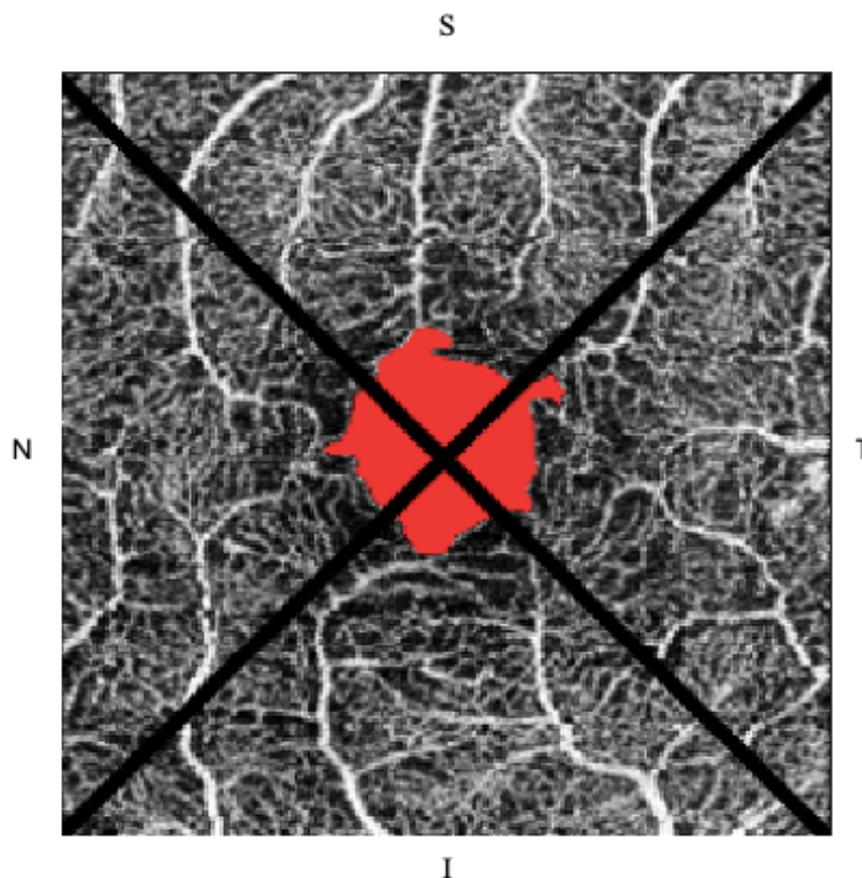


Figura 21. Suddivisione in quattro quadranti dell'immagine. L'area rossa rappresenta la FAZ, area avascolare esclusa dai calcoli dello studio.

3.3 ANALISI STATISTICA

I dati a distribuzione normale sono stati presentati come media e deviazione standard (SD), mentre i dati a distribuzione non normale sono stati presentati come mediana e intervallo interquartile (IQR). Le variabili categoriche sono state riassunte come conteggi e percentuali. Le differenze delle variabili continue tra i due gruppi sono state valutate utilizzando il test T-student o il test U di Mann-Whitney in base alla distribuzione delle variabili.

Un valore P a due lati $< 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo. L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando STATA versione 18 (College Station, TX: Stata Corp LLC).

CAPITOLO QUARTO – RISULTATI

Inizialmente è stata selezionata una coorte di 111 occhi da includere nello studio di cui 16 occhi sono stati esclusi dall'analisi finale. La popolazione finale di studio era composta da 97 occhi, di cui 48 assegnati al gruppo MA e 49 al gruppo noMA.

Non sono state rilevate differenze di età, durata del DM e controllo glicemico tra i gruppi. L'età media era di 61.9 ± 10.1 anni nel gruppo MA e di 63.7 ± 12.6 anni nel gruppo noMA ($p > 0.05$).

La **Tabella 1** riassume i principali dati demografici e clinici della popolazione in studio nei due gruppi.

Tabella 1. Dati demografici e clinici della popolazione in studio

	MA	noMA	p-value
Età (anni)	61.85 ± 10.09	63.71 ± 12.64	$p > 0.05$
Sesso (M/F)	38 / 10	35 / 14	
Occhio (OD/OS)	26 / 22	25 / 24	
Tipo di diabete (DM1/DM2)	10 / 38	8 / 41	
Durata diabete (anni)	16.07 ± 9.15	17.25 ± 13.16	$p > 0.05$
HbA1c (%)	7.18 ± 0.92	7.13 ± 1.34	$p > 0.05$
Acuità visiva – BVCA (lettere)	83.73 ± 2.50	83.12 ± 3.45	$p > 0.05$

Nel gruppo MA, è stato rilevato un totale di 77 MA di cui:

- 17 (22%) nel SCP
- 36 (46.8%) nel DCP
- 24 (31.2%) che coinvolgevano sia il SCP che il DCP.

Non sono state rilevate differenze nei parametri OCT tra i due gruppi, tutti i parametri sono risultati con un $p\text{-value} > 0.05$ e sono riportati nella **Tabella 2**.

Tabella 2. Parametri OCT

	MA	noMA
CMT (μm)	250.5 [IQR 225-264.5]	245 [IQR, 230-258]
S-MT (μm)	312 [IQR 297-326]	315 [IQR, 299-326]
N-MT (μm)	311.5 [IQR 294.5-333]	314 [IQR, 301-325]
I-MT (μm)	307.5 [IQR, 292-327]	310 [IQR, 294-323]
T-MT (μm)	299 [IQR, 284-318.5]	303 [IQR, 286-315]
C-RNFL (μm)	4 [IQR, 3-5.5]	4 [IQR, 3-6]
S-RNFL (μm)	31 [IQR, 29-33]	31 [IQR, 30-34]
N-RNFL (μm)	28 [IQR, 25-30]	28 [IQR, 26-30]
I-RNFL (μm)	32 [IQR, 30-33]	32 [IQR, 29-34]
T-RNFL (μm)	22.5 [IQR, 20-25]	23 [IQR, 20-25]
C-GCL+ (μm)	45.5 [IQR 40-55]	47 [IQR, 43-53]
S-GCL+ (μm)	91 [IQR 83.5-95]	91 [IQR, 86-95]
N-GCL+ (μm)	88 [IQR 79-95]	90 [IQR, 85-95]
I-GCL+ (μm)	89 [IQR, 80.5-95]	89 [IQR, 83-94]
T-GCL+ (μm)	86 [IQR, 78.5-92.5]	87 [IQR, 80-93]
C-GCL++ (μm)	51.52 [IQR, 44-60.5]	52.63 [IQR, 47-60]
S-GCL++ (μm)	122.5 [IQR, 112-129]	123 [IQR, 117-129]
N-GCL++ (μm)	117.5 [IQR, 108.5-125]	119 [IQR, 113-123]
I-GCL++ (μm)	120 [IQR, 111-130]	121 [IQR, 114-128]
T-GCL++ (μm)	109 [IQR, 99.5-115]	110 [IQR, 103-114]

Per quanto riguarda i parametri OCT-A, tutti i dati sono raccolti nella **Tabella 3**.

Il gruppo MA ha mostrato una diminuzione significativa della mediana di VD e di FD nel SCP rispetto al gruppo noMA:

- VD \rightarrow 17.57 mm⁻¹ [IQR, 17.11-18.13] vs 18.41 mm⁻¹ [IQR, 17.58-18.84], p<0.01
- FD \rightarrow 1.55 [IQR, 1.54-1.55] vs 1.55 [IQR, 1.54-1.55], p<0.0,

Nel DCP, una riduzione significativa si è osservata nella mediana di VD, PD e FD:

- VD \rightarrow 18.2 mm⁻¹ [IQR, 17.82-18.66] vs 18.79 mm⁻¹ [IQR, 18.36-19.41], p<0.01
- PD \rightarrow 45.6% [IQR, 44.39-46.28] vs 44.58% [IQR, 43.52-45.40] p<0.01
- FD \rightarrow 1.55 [IQR, 1.55-1.55] vs 1.55 [IQR, 1.55-1.56], p=0.02

Dopo la suddivisione in quattro quadranti, il quadrante inferiore del gruppo MA ha mostrato una significativa riduzione della mediana di VD e FD nel SCP rispetto al gruppo noMA:

- VD → 4.29 mm⁻¹ [IQR, 3.94-4.69] vs 4.58 mm⁻¹ [IQR, 4.24-4.84], p=0.02;
- FD → 1.32 [IQR, 1.31-1.33] vs 1.33 [IQR, 1.32-1.34], p=0.05

Così come nel DCP del quadrante inferiore:

- VD → 4.48 mm⁻¹ [IQR, 3.98-4.75] vs 4.68 mm⁻¹ [IQR, 4.28-5.2], p=0.04;
- FD → 1.33 [IQR, 1.31-1.33] vs 1.33 [IQR, 1.32-1.35], p=0.03.

Il quadrante nasale del gruppo MA ha mostrato una significativa riduzione solo nella mediana di VD del SCP rispetto al gruppo noMA:

- VD → 4.57 mm⁻¹ [IQR, 4.35-4.78] vs 4.79 mm⁻¹ [IQR, 4.41-4.9], p=0.05.

Il gruppo MA ha mostrato un incremento significativo della mediana dell'area FAZ e del perimetro nel SCP e nel DCP se paragonato al gruppo noMA:

- FAZ Area SCP → 0.34 mm² [IQR, 0.11-0.50] vs 0.28 mm² [IQR, 0.06-0.40], p<0.01;
- FAZ Area DCP → 2.84 mm [IQR, 1.48-3.50] vs 1.94 mm [IQR, 1.07-2-2.78], p<0.01;
- Perimetro SCP → 0.75 mm² [IQR, 0.16-0.93] vs 0.42 mm² [IQR, 0.08-0.68], p=0.02;
- Perimetro DCP → 4.26 mm [IQR, 2.11-5.19] vs 3.21 mm [IQR, 1.38-4.47], p=0.02; rispettivamente).

Il gruppo MA ha mostrato una mediana significativamente più piccola di CI nel SCP rispetto al gruppo noMA → 0.56, [0.49-0.62] vs 0.60, [0.53-0.70], p=0.03.

Tabella 3. Parametri OCT-A. In grassetto i parametri risultati statisticamente significativi.

	MA	noMA	p-Value
FAZ area SCP (μm^2)	0.34 [IQR, 0.11-0.50]	0.21 [IQR, 0.05-0.35]	p<0.01
FAZ peri SCP (μm)	2.84 [IQR, 1.48-3.49]	1.9 [IQR, 1.07-2.77]	p<0.01
CI SCP	0.56 [IQR, 0.49-0.62]	0.60 [IQR, 0.53-0.70]	p=0.03
FAZ area DCP (μm^2)	0.75 [IQR, 0.16-0.93]	0.42 [IQR, 0.83-0.68]	p=0.02
FAZ peri DCP (μm)	4.26 [IQR, 2.11-5.19]	3.2 [IQR, 1.38-4.46]	p=0.02
CI DCP	0.47 [IQR, 0.42-0.53]	0.51 [IQR, 0.46-0.56]	p>0.05
PD SCP (%)	44.73 [IQR, 43.31-45.89]	45.17 [IQR, 44.29-46.56]	p>0.05
VD SCP (mm^{-1})	17.56 [IQR, 17.11-18.13]	18.41 [IQR, 17.58-18.84]	p<0.01
FD SCP	1.54 [IQR, 1.54-1.55]	1.55 [IQR, 1.54-1.55]	p<0.01
PD DCP (%)	44.58 [IQR, 43.52-45.39]	45.6 [IQR, 44.39-46.28]	p<0.01
VD DCP (mm^{-1})	18.2 [IQR, 17.82-18.65]	18.79 [IQR, 18.36-19.41]	p<0.01
FD DCP	1.55 [IQR, 1.55-1.55]	1.55 [IQR, 1.55-1.56]	p=0.02
S-PD SCP (%)	48.95 [IQR, 44.94-52.20]	47.95 [IQR, 45.08-52.01]	p>0.05
S-VD SCP (mm^{-1})	4.72 [IQR, 4.33-4.98]	4.71 [IQR, 4.42-5.00]	p>0.05
S-FD SCP	1.30 [IQR, 1.29-1.31]	1.30 [IQR, 1.29-1.31]	p>0.05
S-PD DCP (%)	47.99 [IQR, 44.05-54.82]	47.61 [IQR, 42.57-52.99]	p>0.05
S-VD DCP (mm^{-1})	4.92 [IQR, 4.66-5.42]	4.96 [IQR, 5.53-5.51]	p>0.05
S-FD DCP	1.31 [IQR, 1.3-1.33]	1.31 [IQR, 1.3-1.33]	p>0.05
I-PD SCP (%)	43.40 [IQR, 39.47-46.87]	43.84 [IQR, 41.61-47.85]	p>0.05
I-VD SCP (mm^{-1})	4.29 [IQR, 3.93-4.69]	4.58 [IQR, 4.24-4.84]	p=0.02
I-FD SCP	1.32 [IQR, 1.30-1.33]	1.33 [IQR, 1.32-1.34]	p=0.05
I-PD DCP (%)	42.06 [IQR, 35.06-46.67]	43.85 [IQR, 39.4-48.95]	p>0.05
I-VD DCP (mm^{-1})	4.47 [IQR, 3.98-4.74]	4.68 [IQR, 4.28-5.2]	p=0.04
I-FD DCP	1.33 [IQR, 1.30-1.33]	1.33 [IQR, 1.32-1.35]	p=0.02
N-PD SCP (%)	46.42 [IQR, 43.45-48.35]	46.62 [IQR, 44.27-48.63]	p>0.05
N-VD SCP (mm^{-1})	4.57 [IQR, 4.34-4.78]	4.79 [IQR, 4.41-4.90]	p=0.05

N-FD SCP	1.31 [IQR, 1.30-1.33]	1.32 [IQR, 1.31-1.34]	p>0.05
N-PD DCP (%)	46.38 [IQR, 42.65-50.04]	46.71 [IQR, 44.05-50.93]	p>0.05
N-VD DCP (mm ⁻¹)	4.75 [IQR, 4.44-5.02]	4.85 [IQR, 4.56-5.12]	p>0.05
N-FD DCP	1.31 [IQR, 1.3-1,34]	1.32 [IQR, 1.31-1.34]	p>0.05
T-PD SCP (%)	42.07 [IQR, 40.07-44.96]	41.18 [IQR, 39.55-44.17]	p>0.05
T-VD SCP (mm ⁻¹)	4.13 [IQR, 3.94-4.39]	4.24 [IQR, 4.04-4.42]	p>0.05
T-FD SCP	1.3 [IQR, 1.28-1.31]	1.3 [IQR, 1.29-1.32]	p>0.05
T-PD DCP (%)	42.37 [IQR, 38.99-45.65]	41.46 [IQR, 39.49-44.45]	p>0.05
T-VD DCP (mm ⁻¹)	4.17 [IQR, 3.97-4.5]	4.34 [IQR, 4.14-4.61]	p>0.05
T-FD DCP	1.3 [IQR, 1.29-1.31]	1.3 [IQR, 1.29-1.32]	p>0.05

CAPITOLO QUINTO – DISCUSSIONE E CONCLUSIONE

Il presente studio ha analizzato la correlazione tra la presenza di MA maculari e i parametri quantitativi di danno microvascolare e neurodegenerativo utilizzando OCT e OCT-A, in occhi con RDNP lieve e moderata.

Sono stati evidenziati, come risultati principali, un significativo allargamento e rimodellamento della FAZ, insieme a una diminuzione della perfusione e della complessità vascolare in regione maculare nel gruppo con MA rispetto al gruppo noMA; al contrario, non sono state rilevate differenze significative nei parametri OCT di danno neurodegenerativo tra i due gruppi.

Per quanto riguarda i parametri demografici e clinici, non sono state osservate differenze significative; infatti, età, durata della malattia e controllo glicemico erano sovrapponibili nei due gruppi.

Localizzazione e impatto dei MA

I MA nella RD sono stati documentati in tutti e tre i plessi capillari (SCP, ICP e DCP) spesso con coinvolgimento di più strati retinici contemporaneamente.^{51,52} Tuttavia, esami *postmortem* e citologici di occhi con RD hanno dimostrato che la maggior parte dei MA ha origine all'interno dell'INL, indicando un ruolo primario dei segmenti più profondi della circolazione retinica nello sviluppo degli stessi.^{24,53} Nonostante ciò, è stato osservato che possono estendersi lungo l'intero spessore della retina e, nella maggior parte dei casi, occupare almeno due strati retinici.⁵¹ Ad oggi, grazie all'OCT-A è diventato possibile eseguire un'indagine separata dei diversi plessi capillari retinici, permettendo una precisa localizzazione dei MA anche *in vivo*. In linea con le ricerche effettuate in studi precedenti (sia istologici sia clinici tramite angio-OCT), anche in questo studio è emersa una predominanza di MA nel DCP.^{22,25}

Il turnover dei MA e la correlazione tra MA e DME

Il turnover dei MA nella RD è un fenomeno dinamico in cui i MA si formano, si risolvono, e ricompaiono in diversi siti vascolari. Questo processo di turnover è influenzato da vari

fattori, tra cui l'ischemia capillare e l'up-regulation dei fattori di crescita endoteliale, come il VEGF.²⁴ Alcuni studi hanno mostrato che i MA si formano prevalentemente in risposta all'ipossia e all'ischemia retinica. Quando le aree della retina non ricevono abbastanza ossigeno a causa della ridotta perfusione, le cellule endoteliali dei capillari retinici producono fattori angiogenici come il VEGF che stimola la formazione di nuovi vasi sanguigni da cui possono formarsi i MA, secondo la teoria per la quale i MA potrebbero essere dei tentativi abortiti di neovascolarizzazione.⁵² I MA possono scomparire nel tempo come conseguenza della chiusura dei capillari da cui si sono formati. La chiusura del network capillare è un segno di progressione della malattia e porta a un'ulteriore riduzione della perfusione retinica. La scomparsa dei MA è stata correlata alla chiusura dei vasi retinici. Quando un MA scompare, indica che il capillare in cui si trovava è diventato non perfuso, un fenomeno noto come dropout capillare. Questo può essere utilizzato come indicatore indiretto di ischemia retinica.⁷¹

Altri studi hanno suggerito che un tasso elevato di turnover dei MA e la presenza di MA iperreflettenti potrebbero essere utili come potenziali fattori predittivi per lo sviluppo di DME in quanto questi possono indicare un danno più avanzato ai vasi sanguigni retinici e, avendo pareti più fragili o danneggiate rispetto a quelli iporeflettenti e sono più propensi a perdere fluidi.^{24,36} In particolare, i MA iperreflettenti, rilevati con SD-OCT, mostrano una forte associazione con l'accumulo di liquido extracellulare, a causa della rottura della barriera emato-retinica nel DCP.³⁴⁻³⁶

Un tasso elevato di turnover dei MA è stato suggerito come potenziale fattore predittivo per la progressione della RD e per lo sviluppo di DME. La formazione frequente e la risoluzione dei MA indicano un ambiente vascolare instabile e ipossico, che è associato a un peggioramento della malattia.

Ruolo dei MA nella formazione degli spazi cistoidi

In un altro recente studio condotto da Elnahry & Ramsey è stata trovata una significativa correlazione tra i MA rilevati in FA e la percentuale di ischemia misurata sia con FA che con OCT-A nel SCP.²⁵ Gli Autori ipotizzano che una minore ischemia negli strati più profondi della retina possa promuovere la formazione di MA per i seguenti meccanismi: in condizioni di ischemia nel SCP il flusso sanguigno potrebbe essere ridistribuito verso gli strati più profondi, come meccanismo di compenso, causando uno stress emodinamico sui vasi retinici e favorendo la formazione di MA, così come anche una risposta compensatoria con

formazione di neovasi può portare alla formazione di MA, altri meccanismi sono legati alla fragilità dei vasi a seguito di ischemia prolungata e alla produzione dei fattori proangiogenici (VEGF). Quelli elencati, sono tutti meccanismi che cercano di migliorare la perfusione nelle aree ischemiche ma che paradossalmente possono favorire la formazione di MA.

Studi precedenti hanno evidenziato la vicinanza dei MA alle aree di non perfusione capillare, come rilevato in OCT-A dalla vicinanza tra MA e aree di dropout capillare, in cui c'è una perdita o una riduzione significativa della rete capillare.^{22,27,28,33} La vicinanza dei MA a queste aree indica che essi possano avere un ruolo attivo nella formazione degli spazi cistoidi, rompendo la barriera emato-retinica interna e permettendo al fluido di fuoriuscire dai vasi sanguigni e accumularsi nei tessuti retinici.⁶⁹

In sintesi, la vicinanza dei MA alle aree di non perfusione capillare e la formazione di MA in risposta alla minore ischemia negli strati più profondi sono fenomeni interconnessi che insieme contribuiscono alla complessa patogenesi dell'edema maculare diabetico (DME) e alla formazione di microaneurismi nella retina.

Correlazione tra MA e DMI

Abdel-Kader et al. hanno utilizzato l'OCT-A per una valutazione retrospettiva dell'entità del DMI in relazione al numero dei MA nei diversi plessi capillari;³³ tuttavia, i MA sono stati contati su immagini FA, senza, quindi, una corretta localizzazione nel SCP e/o nel DCP.²²

I risultati hanno rilevato una correlazione positiva tra il numero complessivo di MA e la ridotta perfusione nel SCP e, sulla base di questi dati, gli Autori hanno ipotizzato che l'ischemia nel SCP potrebbe essere un fattore più importante nello sviluppo dei MA rispetto all'ischemia del DCP. La maggiore prevalenza di MA nel DCP precedentemente descritta, e confermata anche nel nostro studio, è stata spiegata dagli Autori come dipendente da una maggiore integrità strutturale di questo plesso rispetto al SCP: questa caratteristica può facilitare la formazione o la persistenza di MA all'interno del DCP, mentre la loro regressione si associa alla perdita di capillari.^{22,24-26,33}

Nonostante quanto descritto da Abdel-Kader et al., il nostro lavoro mostra un coinvolgimento di entrambi i plessi (SCP e DCP) in termini di riduzione della perfusione nel gruppo MA. Questi risultati sono basati su dati OCT-A, il quale ha una capacità di risoluzione superiore nel catturare la geometria dei capillari e dei modelli di ramificazione rispetto a FA e CFP, grazie al suo approccio computazionale nella ricostruzione dei plessi capillari retinici.

Sebbene l'ischemia abbia certamente una stretta associazione con la formazione e la persistenza dei MA, non è ancora stata completamente stabilita una relazione temporale definitiva tra queste due entità: si discute, infatti, se l'ischemia capillare retinica sia sempre la causa della formazione di MA, dal momento che la comparsa di MA si osserva anche in aree di perfusione preservata. È plausibile quindi che vari meccanismi fisiopatologici siano alla base dello sviluppo dei MA, coinvolgendo sia la non perfusione capillare che l'infiammazione, in diversa misura.²⁴ L'ischemia, potenzialmente derivante dalla perdita di piccoli rami vascolari terminali, potrebbe guidare la formazione di MA all'interno della regione maculare degli occhi con RD.

Il nostro studio sottolinea questo concetto rivelando una correlazione tra MA centrali e diminuzione della dimensione frattale, indicatore di ridotta complessità vascolare.

Tramite l'utilizzo dell'OCT-A, recenti indagini condotti da Cunha-Vaz et al., hanno rilevato valori costantemente ridotti di VD maculare, indicativi della chiusura capillare, in modo direttamente proporzionale alla gravità della retinopatia.²⁴

Questi risultati suggeriscono che la presenza di MA centrali nei pazienti con RDNP possa essere associata a una più severa ipoperfusione maculare e a una ridotta complessità vascolare. Al momento, come accennato precedentemente, non si conosce la relazione temporale tra MA e ischemia capillare retinica, tuttavia, è importante notare che entrambe le condizioni coesistono frequentemente e sono fattori fondamentali che contribuiscono al peggioramento della vista nella retinopatia diabetica.³⁰

Implicazioni della DMI

In uno studio condotto su 321 occhi di 178 pazienti affetti da RD, Yang et al. hanno analizzato il valore prognostico del DMI rilevato nelle scansioni OCT-A sulla progressione della malattia. L'ischemia a livello sia del SCP che del DCP ha dimostrato avere una correlazione con la progressione della malattia e il deterioramento visivo legato a RD, ma solo l'ischemia del DCP si è dimostrata predittiva dello sviluppo di DME.⁶²

La stretta associazione anatomica e funzionale del DCP con le cellule di Müller può spiegare questa correlazione tra DMI nel DCP e DME, poiché queste cellule hanno un ruolo nel rimuovere il liquido in eccesso dalla retina.^{13,62} L'ischemia a livello del plesso profondo può quindi dare come conseguenza una disfunzione delle cellule di Müller, portando ad accumulo di liquido e alla rottura della membrana emato-retinica interna, segno distintivo del DME, a causa della perdita di periciti.^{63,64} Inoltre, essendo il DCP irrorato solo da piccole

arteriole che originano dall'ICP,²⁴ qualsiasi danno al plesso si riversa anche sul drenaggio venoso, esacerbando a sua volta l'accumulo di liquidi nella retina.^{65,66} Lo studio ha dimostrato anche una significativa associazione tra DMI nel DCP e l'alterazione dei fotorecettori, che si traduce in un deterioramento dell'acuità visiva e in una ridotta sensibilità retinica, la quale può portare a difficoltà nel vedere in condizioni di scarsa illuminazione o nel percepire piccoli dettagli, e in onde elettromagnetiche prolungate, quindi un prolungamento del tempo di risposta nella registrazione dell'attività elettrica retinica, osservato tramite elettroretinografia (ERG), un test che misura la risposta elettrica della retina alla stimolazione luminosa.⁶⁷ Al contrario, il DMI nel SCP ha mostrato una correlazione con la disorganizzazione degli strati retinici interni, condizione che riflette prevalentemente il danno neurodegenerativo nella retina. La presenza di DRIL non è solo correlata ad una compromissione della funzione visiva, ma serve anche come un importante marker prognostico nella RD. La valutazione della DRIL tramite OCT è quindi cruciale nella gestione clinica della malattia.⁶⁸

Questo suggerisce che, sebbene entrambe le ischemie dei plessi giochino ruoli importanti nella progressione della RD, esse abbiano ruoli diversi e interessino strutture diverse con diverse funzioni retiniche.

Valutazione dei parametri di perfusione

Ricerche precedenti hanno già quantificato una riduzione dei parametri di perfusione legati alla DMI su OCT-A, inclusi FAZ, PD e VD, negli occhi di pazienti diabetici, e negli occhi affetti da vari gradi di RD.^{18,20,27}

La riduzione di VD e l'aumento dell'area della FAZ sono stati associati alla gravità della RD, alla riduzione della VA e all'entità della risposta al trattamento per DME.^{27,52,70}

Confrontando i pazienti diabetici con soggetti di controllo sani, Takase et al. e Di et al. hanno entrambi mostrato un allargamento statisticamente significativo della FAZ sia in SCP che in DCP.^{54,55} Analogamente, De Carlo et al. hanno riportato un aumento delle dimensioni e del rimodellamento della FAZ, insieme alla presenza di aree adiacenti di non perfusione capillare in individui con diabete.²⁰ Uno studio precedente condotto da Samare et al. ha dimostrato una FAZ più grande negli occhi affetti da RD rispetto ai soggetti sani di pari età, insieme a una riduzione di VD.²⁷ Questi parametri mostrano una correlazione lineare positiva con la gravità della RD e una correlazione inversa con la BCVA.^{27,56,57} Uno studio condotto da Agemy et al. ha dimostrato una riduzione statisticamente significativa di VD

negli occhi con RD rispetto a occhi sani, nelle scansioni 3x3mm e 6x6mm, sia nel SCP che nel DCP.

Freiberg et al. hanno dimostrato un ingrandimento della FAZ sia in SCP che in DCP negli occhi affetti da RD rispetto a quelli dei soggetti sani, in particolare nel DCP.⁵⁶

Il presente studio è il primo a confrontare i parametri di perfusione quantitativa OCT-A alla presenza di MA centrali, valutando un ingrandimento statisticamente significativo della FAZ sia nel SCP che nel DCP negli occhi con RDNP lieve e moderata che presentano MA, rispetto agli occhi con simile stadio di malattia ma senza MA centrali.

L'indice di circolarità è significativamente minore nel SCP del gruppo MA rispetto al gruppo noMA, ad indicare una deformazione più marcata della FAZ a questo livello.

Le riduzioni di VD e PD sono già state associate alla RD così come una correlazione inversa con la progressione della RD da RDNP lieve fino a RDP.^{27,58}

La FD è un indice di complessità vascolare e la sua diminuzione è già stata ampiamente riportata nella RD. Indagini precedenti hanno rilevato alterazioni di FD dei vasi retinici negli occhi affetti da RD, rispetto ai controlli sani, utilizzando sia FA che OCT.^{59,60}

Ulteriori indagini condotte su immagini OCT-A hanno riportato una diminuzione di FD in SCP e DCP con riduzioni statisticamente significative più costanti nella DCP.⁶¹

Nello studio di Elnahry e Ramsey, sono stati valutati 24 occhi di 17 pazienti con RD evidenziando una significativa correlazione inversa tra FD delle immagini OCT-A nel DCP e il numero di MA rilevati con FA.²⁵

Questi studi hanno portato a ipotizzare che un aumento del numero di MA possa indicare una perdita della normale ramificazione vascolare, in particolare nel DCP, dove sono più frequentemente osservati i MA, che spesso appaiono a livello dei capillari terminali e vicino ai bordi della DMI.^{22,25,27,28}

Punti di forza e limiti dello studio

Tra i punti di forza del nostro studio annoveriamo:

- l'utilizzo dell'OCT-A che ha permesso una visualizzazione dettagliata dei diversi strati dei plessi capillari retinici in modo del tutto non invasivo, migliorando la comprensione delle alterazioni vascolari specifiche associate alla presenza di MA;
- la correlazione esistente tra MA e i parametri vascolari quantitativi, in cui si identifica una significativa riduzione della perfusione e della complessità vascolare negli occhi

con MA rispetto a quelli senza MA, confermando l'importanza della valutazione di questi marker nella progressione della RD;

- l'approfondimento e il confronto con i dati già presenti in letteratura offrendo una visione più completa e mettendo in luce convergenze e discrepanze dei risultati ottenuti.

L'attuale studio presenta alcuni limiti:

- in primis, al fine di garantire una comprensione completa della relazione tra MA e ischemia maculare, nonché della loro potenziale associazione con lo sviluppo di DME, sarebbero necessarie ulteriori indagini su scala più ampia e con un disegno longitudinale. Individuare queste interconnessioni potrebbe fornire indicazioni preziose sui meccanismi alla base della progressione della RD e del DME;
- un secondo limite è correlato all'imaging OCT-A in quanto suscettibile di vari potenziali artefatti; ad esempio, artefatti da movimento, artefatti da proiezione e fallimento della segmentazione automatica. Inoltre, la mancanza di vasi, osservabile all'OCT-A come immagine scura, non indica necessariamente l'assenza di vascolarizzazione. Di conseguenza, le aree prive di vasi alle immagini OCT-A potrebbero in realtà possedere dei vasi anatomici reali, dando luogo a una perfusione che, durante l'esame diagnostico, risulterebbe falsamente negativa essendo al di sotto della soglia rilevabile dallo strumento. Si prevede che questo fenomeno abbassi artificialmente la FD;
- un terzo limite è dato dal fatto che i pazienti in studio non sono stati sottoposti ad un esame fluoroangiografico e questo potrebbe comportare una sottostima nel numero di MA.

Conclusione

Il nostro studio non ha rilevato alcuna associazione tra una riduzione dei parametri OCT indicativi di neurodegenerazione e la presenza di MA centrali. Questa mancanza di correlazione potrebbe derivare dalle dimensioni relativamente limitate del campione analizzato, poiché è stata trovata una riduzione complessiva del GCL+ nel gruppo che manifesta MA, ma non ha raggiunto la significatività statistica.

Lo studio fornisce evidenze solide sulla correlazione tra la presenza di MA centrali e parametri di perfusione e di complessità vascolare, rappresentando una conferma clinica dei dati istologici disponibili. Inoltre, evidenzia il potenziale dei MA come marker per il monitoraggio, la diagnosi e la gestione precoce della malattia e delle sue complicanze, al fine di prevenire un ulteriore deterioramento della microvascolarizzazione retinica e della progressione della RD.

Tuttavia, la mancanza di una chiara relazione temporale tra MA e ischemia capillare retinica indica la necessità di ulteriori studi longitudinali per chiarire i meccanismi fisiopatologici sottostanti.

Ampliando la dimensione campionaria, questo studio potrebbe essere un punto di partenza per effettuare indagini a lungo termine volte a stabilire la lacuna presente nella relazione temporale tra MA e DMI, con il fine di rafforzare i risultati ottenuti e migliorare la significatività statistica.

BIBLIOGRAFIA

1. Bowling, et al. Kanski, Edra, 2017, ottava edizione.
2. Archer DB. Bowman Lecture 1998. Diabetic retinopathy: some cellular, molecular and therapeutic considerations. *Eye (Lond)*. 1999 Aug;13 (Pt 4):497-523. doi: 10.1038/eye.1999.130. PMID: 10692923.
3. Nian S, Lo ACY, Mi Y, et al. Neurovascular unit in diabetic retinopathy: pathophysiological roles and potential therapeutical targets. *Eye Vis (Lond)*. 2021 May 1;8(1):15. doi: 10.1186/s40662-021-00239-1. PMID: 33931128; PMCID: PMC8088070.
4. Gardner TW, Abcouwer SF, Barber AJ, Jackson GR. An integrated approach to diabetic retinopathy research. *Arch Ophthalmol*. 2011 Feb;129(2):230-5. doi: 10.1001/archophthalmol.2010.362. PMID: 21320973; PMCID: PMC3086099.
5. Abramoff MD, Fort PE, Han IC, et al. Approach for a Clinically Useful Comprehensive Classification of Vascular and Neural Aspects of Diabetic Retinal Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018 Jan 1;59(1):519-527. doi: 10.1167/iovs.17-21873. PMID: 29372250; PMCID: PMC5786342.
6. Kohner EM, Stratton IM, Aldington SJ, Turner RC, Matthews DR. Microaneurysms in the development of diabetic retinopathy (UKPDS 42). UK Prospective Diabetes Study Group. *Diabetologia*. 1999 Sep;42(9):1107-12. doi: 10.1007/s001250051278. PMID: 10447523.
7. Bresnick GH, Palta M. Oscillatory potential amplitudes. Relation to severity of diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol*. 1987 Jul;105(7):929-33. doi: 10.1001/archophth.1987.01060070065030. PMID: 3606452.
8. Wu L, Fernandez-Loaiza P, et al. Classification of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *World J Diabetes*. 2013 Dec 15;4(6):290-4. doi: 10.4239/wjd.v4.i6.290. PMID: 24379919; PMCID: PMC3874488.
9. Wells JA, Glassman AR, Ayala AR, et al. Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. Aflibercept, Bevacizumab, or Ranibizumab for Diabetic Macular Edema: Two-Year Results from a Comparative Effectiveness Randomized Clinical Trial. *Ophthalmology*. 2016 Jun;123(6):1351-9. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.02.022. Epub 2016 Feb 27. PMID: 26935357; PMCID: PMC4877252.
10. Boned-Murillo A, Albertos-Arranz H, et al. Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Patients: A Systematic Review. *Biomedicines*. 2021 Dec 31;10(1):88. doi: 10.3390/biomedicines10010088. PMID: 35052768; PMCID: PMC8773551.
11. Lentzsch A, Schöllhorn L, et al. Comparison of swept-source versus spectral-domain optical coherence tomography angiography for detection of macular neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2022 Jan;260(1):113-119. doi: 10.1007/s00417-021-05229-6. Epub 2021 Jul 6. PMID: 34226972; PMCID: PMC8763780.

12. Láíns I, Wang JC, et al. Retinal applications of swept source optical coherence tomography (OCT) and optical coherence tomography angiography (OCTA). *Prog Retin Eye Res.* 2021 Sep;84:100951. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.100951. Epub 2021 Jan 28. PMID: 33516833.
13. Panozzo G, Cicinelli MV, et al. An optical coherence tomography-based grading of diabetic maculopathy proposed by an international expert panel: The European School for Advanced Studies in Ophthalmology classification. *Eur J Ophthalmol.* 2020 Jan;30(1):8-18. doi: 10.1177/1120672119880394. Epub 2019 Nov 12. PMID: 31718271.
14. Solomon SD, Chew E, Duh EJ, et al. Diabetic Retinopathy: A Position Statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 2017 Mar;40(3):412-418. doi: 10.2337/dc16-2641. Erratum in: *Diabetes Care.* 2017 Jun;40(6):809. Erratum in: *Diabetes Care.* 2017 Jul 13;; PMID: 28223445; PMCID: PMC5402875.
15. Stattin M, Haas AM, et al. Detection rate of diabetic macular microaneurysms comparing dye-based angiography and optical coherence tomography angiography. *Sci Rep.* 2020 Oct 1;10(1):16274. doi: 10.1038/s41598-020-73516-z. PMID: 33005009; PMCID: PMC7530679.
16. Spaide RF, Fujimoto JG, et al. Optical coherence tomography angiography. *Prog Retin Eye Res.* 2018 May;64:1-55. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.11.003. Epub 2017 Dec 8. PMID: 29229445; PMCID: PMC6404988.
17. Sun Z, Yang D, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: an updated review. *Eye (Lond).* 2021 Jan;35(1):149-161. doi: 10.1038/s41433-020-01233-y. Epub 2020 Oct 24. PMID: 33099579; PMCID: PMC7852654.
18. Tang FY, Ng DS, et al. Determinants of Quantitative Optical Coherence Tomography Angiography Metrics in Patients with Diabetes. *Sci Rep.* 2017 May 31;7(1):2575. doi: 10.1038/s41598-017-02767-0. Erratum in: *Sci Rep.* 2018 May 4;8(1):7314. PMID: 28566760; PMCID: PMC5451475
19. Vujosevic S, Muraca A, Alkabes M, et al. Early microvascular and neural changes in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus without clinical signs of diabetic retinopathy. *Retina.* 2019 Mar;39(3):435-445. doi: 10.1097/IAE.0000000000001990. PMID: 29206758.
20. De Carlo TE, Chin AT, Bonini Filho MA, et al. Detection of microvascular changes in eyes of patients with diabetes but not clinical diabetic retinopathy using optical coherence tomography angiography. *Retina.* 2015 Nov;35(11):2364-70. doi: 10.1097/IAE.0000000000000882. PMID: 26469537
21. Hajdu D, Told R, et al. Identification of microvascular and morphological alterations in eyes with central retinal non-perfusion. *PLoS One.* 2020 Nov 10;15(11):e0241753. doi: 10.1371/journal.pone.0241753. PMID: 33170872; PMCID: PMC7654769.
22. Takamura Y, Yamada Y, Inatani M. Role of Microaneurysms in the Pathogenesis and Therapy of Diabetic Macular Edema: A Descriptive Review. *Medicina (Kaunas).*

- 2023 Feb 22;59(3):435. doi: 10.3390/medicina59030435. PMID: 36984436; PMCID: PMC10051835.
23. Parravano M, De Geronimo D, et al. Diabetic Microaneurysms Internal Reflectivity on Spectral-Domain Optical Coherence Tomography and Optical Coherence Tomography Angiography Detection. *Am J Ophthalmol*. 2017 Jul;179:90-96. doi: 10.1016/j.ajo.2017.04.021. Epub 2017 May 5. PMID: 28483496.
 24. Balaratnasingam C, An D, et al. Studies of the retinal microcirculation using human donor eyes and high-resolution clinical imaging: Insights gained to guide future research in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res*. 2023 May;94:101134. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101134. Epub 2022 Oct 29. PMID: 37154065.
 25. Elnahry AG, Ramsey DJ. Automated Image Alignment for Comparing Microvascular Changes Detected by Fluorescein Angiography and Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy. *Semin Ophthalmol*. 2021 Nov 17;36(8):757-764. doi: 10.1080/08820538.2021.1901122. Epub 2021 Mar 30. PMID: 33784213.
 26. Aguilar E, Friedlander M, Gariano RF. Endothelial proliferation in diabetic retinal microaneurysms. *Arch Ophthalmol*. 2003 May;121(5):740-1. doi: 10.1001/archophth.121.5.740. PMID: 12742861.
 27. Samara WA, Shahlaee A, Adam MK, Khan MA, Chiang A, Maguire JI, Hsu J, Ho AC. Quantification of Diabetic Macular Ischemia Using Optical Coherence Tomography Angiography and Its Relationship with Visual Acuity. *Ophthalmology*. 2017 Feb;124(2):235-244. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.10.008. Epub 2016 Nov 23. PMID: 27887743.
 28. Friedenwald js. Diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 1950 Aug;33(8):1187-99. doi: 10.1016/0002-9394(50)90988-3. PMID: 15432555.
 29. Tombolini B, Borrelli E, et al. Diabetic macular ischemia. *Acta Diabetol*. 2022 Jun;59(6):751-759. doi: 10.1007/s00592-021-01844-1. Epub 2022 Feb 8. PMID: 35133500.
 30. Usman M. An Overview of Our Current Understanding of Diabetic Macular Ischemia (DMI). *Cureus*. 2018 Jul 30;10(7):e3064. doi: 10.7759/cureus.3064. PMID: 30280060; PMCID: PMC6166915.
 31. Bradley PD, Sim DA, et al. The Evaluation of Diabetic Macular Ischemia Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016 Feb;57(2):626-31. doi: 10.1167/iovs.15-18034. PMID: 26903223.
 32. Salz DA, de Carlo TE, et al. Select Features of Diabetic Retinopathy on Swept-Source Optical Coherence Tomographic Angiography Compared With Fluorescein Angiography and Normal Eyes. *JAMA Ophthalmol*. 2016 Jun 1;134(6):644-50. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.0600. PMID: 27055248; PMCID: PMC5312730.
 33. Abdel-Kader AA, Ramsey DJ, et al. Diabetic microaneurysms detected by fluorescein angiography spatially correlate with regions of macular ischemia delineated by optical coherence tomography angiography. *Indian J Ophthalmol*. 2023

- Aug;71(8):3085-3090. doi: 10.4103/IJO.IJO_3155_22. PMID: 37530285; PMCID: PMC10538827.
34. Tolentino M. Interference RNA technology in the treatment of CNV. *Ophthalmol Clin North Am.* 2006 Sep;19(3):393-9, vi-vii. doi: 10.1016/j.ohc.2006.05.007. PMID: 16935214.
 35. Nunes S, Ribeiro L, Lobo C, et al. Three different phenotypes of mild nonproliferative diabetic retinopathy with different risks for development of clinically significant macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Jul 10;54(7):4595-604. doi: 10.1167/iovs.13-11895. PMID: 23745006.
 36. Ribeiro ML, Nunes SG, Cunha-Vaz JG. Microaneurysm turnover at the macula predicts risk of development of clinically significant macular edema in persons with mild nonproliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2013 May;36(5):1254-9. doi: 10.2337/dc12-1491. Epub 2012 Nov 30. PMID: 23204247; PMCID: PMC3631829.
 37. Stitt AW, Gardiner TA, Archer DB. Histological and ultrastructural investigation of retinal microaneurysm development in diabetic patients. *Br J Ophthalmol.* 1995 Apr;79(4):362-7. doi: 10.1136/bjo.79.4.362. PMID: 7742285; PMCID: PMC505103.
 38. Hsiao CC, Yang CM, et al. Correlations between visual acuity and macular microvasculature quantified with optical coherence tomography angiography in diabetic macular oedema. *Eye (Lond).* 2020 Mar;34(3):544-552. doi: 10.1038/s41433-019-0549-1. Epub 2019 Aug 12. PMID: 31406356; PMCID: PMC7042332.
 39. Couturier A, Mané V, et al. Capillary plexus anomalies in diabetic retinopathy on optical coherence tomography angiography. *Retina.* 2015 Nov;35(11):2384-91. doi: 10.1097/IAE.0000000000000859. PMID: 26469531.
 40. Khatri A, K C BK, et al. Analysis of microaneurysms and capillary density quantified by OCT-angiography and its relation to macular edema and macular ischemia in diabetic maculopathy. *Eye (Lond).* 2021 Jun;35(6):1777-1779. doi: 10.1038/s41433-020-1060-4. Epub 2020 Jul 1. PMID: 32612168; PMCID: PMC8169914.
 41. Yau JW, Rogers SL, 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. doi: 10.2337/dc11-1909. Epub 2012 Feb 1. PMID: 22301125; PMCID: PMC3322721.
 42. Aliseda Pérez de Madrid D, Berástegui I. Retinopatía diabética [Diabetic retinopathy]. *An Sist Sanit Navar.* 2008;31 Suppl 3:23-34. Spanish. PMID: 19169292.
 43. Vujosevic S, Toma C, et al. Early Detection of Microvascular Changes in Patients with Diabetes Mellitus without and with Diabetic Retinopathy: Comparison between Different Swept-Source OCT-A Instruments. *J Diabetes Res.* 2019 Jun 12;2019:2547216. doi: 10.1155/2019/2547216. PMID: 31281849; PMCID: PMC6594252.

44. Aumann S, Donner S, et al. Optical Coherence Tomography (OCT): Principle and Technical Realization. 2019 Aug 14. In: Bille JF, editor. High Resolution Imaging in Microscopy and Ophthalmology: New Frontiers in Biomedical Optics [Internet]. Cham (CH): Springer; 2019. Chapter 3. PMID: 32091846.
45. Diaz JD, Wang JC, et al. Imaging the Deep Choroidal Vasculature Using Spectral Domain and Swept Source Optical Coherence Tomography Angiography. *J Vitreoretin Dis.* 2018 May-Jun;2(3):146-154. doi: 10.1177/2474126418771805. Epub 2018 Apr 16. PMID: 29930992; PMCID: PMC6007996.
46. Najeeb S, Ganne P, et al. Mapping the thickness of retinal layers using Spectralis spectral domain optical coherence tomography in Indian eyes. *Indian J Ophthalmol.* 2022 Aug;70(8):2990-2997. doi: 10.4103/ijo.IJO_81_22. PMID: 35918959; PMCID: PMC9672761.
47. Vujosevic S, Toma C, Villani E, et al. Longitudinal microvascular and neuronal retinal evaluation in patients with diabetes mellitus types 1 and 2 and good glycemic control. *Retina.* 2023 Oct 1;43(10):1723-1731. doi: 10.1097/IAE.0000000000003880. PMID: 37384871.
48. Classification of diabetic retinopathy from fluorescein angiograms. ETDRS report number 11. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology.* 1991 May;98(5 Suppl):807-22. PMID: 2062514.
49. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs--an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology.* 1991 May;98(5 Suppl):786-806. PMID: 2062513.
50. Ishibazawa A, Nagaoka T, Takahashi A, et al. Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy: A Prospective Pilot Study. *Am J Ophthalmol.* 2015 Jul;160(1):35-44.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2015.04.021. Epub 2015 Apr 18. PMID: 25896459.
51. Borrelli E, Sacconi R, Brambati M, et al. In vivo rotational three-dimensional OCTA analysis of microaneurysms in the human diabetic retina. *Sci Rep.* 2019 Nov 14;9(1):16789. doi: 10.1038/s41598-019-53357-1. PMID: 31728070; PMCID: PMC6856183.
52. Lee SN, Chhablani J, Chan CK, et al. Characterization of microaneurysm closure after focal laser photocoagulation in diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol.* 2013 May;155(5):905-12. doi: 10.1016/j.ajo.2012.12.005. Epub 2013 Feb 6. PMID: 23394906; PMCID: PMC3627831.
53. Moore J, Bagley S, Ireland G, et al. Three dimensional analysis of microaneurysms in the human diabetic retina. *J Anat.* 1999 Jan;194 (Pt 1)(Pt 1):89-100. doi: 10.1046/j.1469-7580.1999.19410089.x. PMID: 10227670; PMCID: PMC1467897.
54. Takase N, Nozaki M, Kato A, et al. ENLARGEMENT OF FOVEAL AVASCULAR ZONE IN DIABETIC EYES EVALUATED BY EN FACE OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHY. *Retina.* 2015 Nov;35(11):2377-83. doi: 10.1097/IAE.0000000000000849. PMID: 26457396.

55. Di G, Weihong Y, Xiao Z, et al. A morphological study of the foveal avascular zone in patients with diabetes mellitus using optical coherence tomography angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016 May;254(5):873-9. doi: 10.1007/s00417-015-3143-7. Epub 2015 Sep 7. PMID: 26344729.
56. Freiberg FJ, Pfau M, Wons J, et al. Optical coherence tomography angiography of the foveal avascular zone in diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016 Jun;254(6):1051-8. doi: 10.1007/s00417-015-3148-2. Epub 2015 Sep 4. PMID: 26338819; PMCID: PMC4884570.
57. Hwang TS, Gao SS, Liu L, et al. Automated Quantification of Capillary Nonperfusion Using Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2016 Apr;134(4):367-73. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.5658. PMID: 26795548; PMCID: PMC4978127.
58. Agemy SA, Sripsema NK, Shah CM, et al. RETINAL VASCULAR PERFUSION DENSITY MAPPING USING OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHY IN NORMALS AND DIABETIC RETINOPATHY PATIENTS. *Retina*. 2015 Nov;35(11):2353-63. doi: 10.1097/IAE.0000000000000862. PMID: 26465617.
59. Fan W, Nittala MG, Fleming A, et al. Relationship Between Retinal Fractal Dimension and Nonperfusion in Diabetic Retinopathy on Ultrawide-Field Fluorescein Angiography. *Am J Ophthalmol*. 2020 Jan;209:99-106. doi: 10.1016/j.ajo.2019.08.015. Epub 2019 Aug 29. PMID: 31472160.
60. Bhardwaj S, Tsui E, Zahid S, et al. VALUE OF FRACTAL ANALYSIS OF OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHY IN VARIOUS STAGES OF DIABETIC RETINOPATHY. *Retina Phila Pa*. 2018;38(9):1816-1823. doi:10.1097/IAE.0000000000001774
61. Zahid S, Dolz-Marco R, Freund KB, et al. Fractal Dimensional Analysis of Optical Coherence Tomography Angiography in Eyes With Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016 Sep 1;57(11):4940-4947. doi: 10.1167/iovs.16-19656. PMID: 27654421.
62. Yang D, Tang Z, Ran A, et al. Assessment of Parafoveal Diabetic Macular Ischemia on Optical Coherence Tomography Angiography Images to Predict Diabetic Retinal Disease Progression and Visual Acuity Deterioration. *JAMA Ophthalmol*. 2023 Jul 1;141(7):641-649. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2023.1821. PMID: 37227703; PMCID: PMC10214181.
63. Park DY, Lee J, Kim J, et al. Plastic roles of pericytes in the blood-retinal barrier. *Nat Commun*. 2017 May 16;8:15296. doi: 10.1038/ncomms15296. PMID: 28508859; PMCID: PMC5440855.
64. Gardiner TA, Archer DB, et al. Arteriolar involvement in the microvascular lesions of diabetic retinopathy: implications for pathogenesis. *Microcirculation*. 2007 Jan;14(1):25-38. doi: 10.1080/10739680601072123. PMID: 17365659.

65. Selvam S, Kumar T, Fruttiger M. Retinal vasculature development in health and disease. *Prog Retin Eye Res.* 2018 Mar;63:1-19. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.11.001. Epub 2017 Nov 10. PMID: 29129724.
66. Garrity ST, Paques M, Gaudric A, et al. Considerations in the Understanding of Venous Outflow in the Retinal Capillary Plexus. *Retina.* 2017 Oct;37(10):1809-1812. doi: 10.1097/IAE.0000000000001784. PMID: 28737534.
67. Cheung CMG, Pearce E, Fenner B, et al. Looking Ahead: Visual and Anatomical Endpoints in Future Trials of Diabetic Macular Ischemia. *Ophthalmologica.* 2021;244(5):451-464. doi: 10.1159/000515406. Epub 2021 Feb 24. PMID: 33626529; PMCID: PMC8619758.
68. Cheung CMG, Fawzi A, Teo KY, et al. Diabetic macular ischaemia- a new therapeutic target? *Prog Retin Eye Res.* 2022 Jul;89:101033. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.101033. Epub 2021 Dec 11. PMID: 34902545.
69. Murakami T, Nishijima K, Sakamoto A, et al. Foveal cystoid spaces are associated with enlarged foveal avascular zone and microaneurysms in diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2011 Feb;118(2):359-67. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.03.035. Epub 2010 Jul 24. PMID: 20656355.
70. Kim AY, Chu Z, Shahidzadeh A, et al. Quantifying Microvascular Density and Morphology in Diabetic Retinopathy Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Jul 1;57(9):OCT362-70. doi: 10.1167/iovs.15-18904. PMID: 27409494; PMCID: PMC4968771.
71. Cunha-Vaz J. A Central Role for Ischemia and OCTA Metrics to Follow DR Progression. *J Clin Med.* 2021 Apr 22;10(9):1821. doi: 10.3390/jcm10091821. PMID: 33922018; PMCID: PMC8122480.
72. Garner A. Developments in the pathology of diabetic retinopathy: a review. *J R Soc Med.* 1981 Jun;74(6):427-31. doi: 10.1177/014107688107400607. PMID: 7019436; PMCID: PMC1438773.
73. Sim DA, Keane PA, Zarranz-Ventura J, et al. The effects of macular ischemia on visual acuity in diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Mar 28;54(3):2353-60. doi: 10.1167/iovs.12-11103. PMID: 23449720.
74. Borrelli E, Sadda SR, et al. Pearls and Pitfalls of Optical Coherence Tomography Angiography Imaging: A Review. *Ophthalmol Ther.* 2019 Jun;8(2):215-226. doi: 10.1007/s40123-019-0178-6. Epub 2019 Mar 13. PMID: 30868418; PMCID: PMC6513942.

Ringraziamenti

Desidero innanzitutto ringraziare il Professor Stefano De Cillà per la sua costante disponibilità e la sua simpatia. Vorrei inoltre ringraziare tutto il reparto di oculistica per avermi accolto nel migliore dei modi.

Esprimo la mia profonda gratitudine alla mia correlatrice, la Dottoressa Caterina Toma, per avermi guidato con attenzione e costanza nella realizzazione di questo studio. Oltre ai preziosi insegnamenti, porterò sempre nel cuore i sorrisi e i piccoli gesti che mi hanno fatto sentire sempre nel posto giusto.

Altre due figure sono state determinanti nel mio percorso: la Dottoressa Rachele Zavaglia, che mi ha permesso di svolgere in autonomia gran parte delle visite, insegnandomi preziosi trucchi dell'ortottica e dell'utilizzo degli strumenti, e la Dottoressa Elena Cavallari, che con la sua dolcezza e solarità mi ha guidato nella stesura della tesi durante i mesi finali.

Ai miei genitori dedico ogni traguardo raggiunto: a mamma Giulia e papà Mauro, che sono per me una fonte di ispirazione. Li ringrazio per i valori che mi hanno trasmesso e per il costante appoggio che mi offrono, affinché io possa realizzare i miei sogni. Grazie per essere i miei più grandi sostenitori.

A mio fratello Andrea, un importante punto di riferimento, sempre pronto ad alleggerire e sdrammatizzare le mie sessioni di studio, e poi a festeggiare con una buona bottiglia di vino. Grazie ai miei nonni, zii, cugini e parenti tutti, in Italia e oltreoceano, per essere sempre rimasti aggiornati sui miei studi, tanto che credo che il nonno abbia installato l'app UniUPO sul suo Brondi.

Un immenso grazie a Simone, la cui presenza è stata di fondamentale importanza. Da poco più che ragazzini, siamo diventati grandi insieme, e in questi anni ha sempre saputo essere la persona giusta al momento giusto: grazie per avermi compresa, assecondata e supportata, credendo in me anche nei momenti più difficili di questo percorso.

Una componente essenziale degli ultimi anni è stata per me la passione per la corsa e per la montagna. Un ringraziamento particolare va al mio allenatore Franco: lo ringrazio soprattutto per avermi insegnato a non mollare mai.

Alle mie amiche, Cristina, Elisa e Federica, con le quali ho condiviso questa grande avventura, insieme a Francesca, Carolina e Cristina: le mie “*Suorelle*”. Grazie per essere state per me una seconda famiglia, sono immensamente grata di avervi incontrate.

Grazie ad Anna, la mia instancabile compagna di corse novaresi e di ottime chiacchierate, sempre pronta ad assecondarmi tra temporali, nebbia, pollini e zanzare.

Grazie alle mie amiche del liceo, Alexia, Giorgia, Gloria, Iris e a tutti i miei amici di casa per aver alleggerito questi anni di studio con aperitivi, feste e portandomi in montagna, al mare, a sciare e ad arrampicare.

A chi, in questo giorno tanto speciale, non potrà esserci: grazie *alle mie Stelle*, perché vi sento con me ogni giorno.