BRENO MARQUES DA SILVA AZEVEDO

**Avaliação estrutural do disco óptico e da camada de
fibras nervosas retinianas peripapilares em pacientes
com retinopatia diabética submetidos a
panfotocoagulação retiniana**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Programa de Oftalmologia

Orientador: Prof. Dr. Leandro Cabral Zacharias

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011)

A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Azevedo, Breno Marques da Silva

Avaliação estrutural do disco óptico e da camada de fibras nervosas retinianas peripapilares em pacientes com retinopatia diabética submetidos a panfotocoagulação retiniana / Breno Marques da Silva Azevedo -- São Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Oftalmologia.

Orientador: Leandro Cabral Zacharias.

Descritores: 1.Complicações do diabetes 2.Retinopatia diabética/terapia
3.Retinopatia diabética/complicações 4.Tomografia de coerência óptica/métodos
5.Fotocoagulação 6.Glaucoma/diagnóstico 7.Diagnóstico por imagem/métodos
8.Disco óptico/patologia 9.Fibras nervosas/patologia 10.Oftalmoscopia/métodos

USP/FM/DBD-039/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Aos meu pais, Edinan e Neto, que foram e são meus exemplos de valores, amor e perseverança. Aprendi com vocês a ser firme para lutar e buscar meus objetivos. Obrigado por toda confiança, amor e carinho. Essa vitória também é de vocês.

Aos meus irmãos, Everton e Hylana, pelo amor incondicional, cumplicidade e constante incentivo durante todos esses anos. Vocês são minha fonte de inspiração e orgulho.

À minha esposa, Paula, companheira de todas as horas, que através do seu modo de ser e agir me torna uma pessoa melhor a cada dia. Obrigado por todo amor, por acreditar e sempre incentivar todos os meus planos. Os dias felizes ao seu lado ajudaram e muito o andamento e a conclusão do projeto.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Leandro Cabral Zacharias, pela confiança depositada ao ter me escolhido como seu primeiro aluno da pós-graduação, além da orientação excepcional e irretocável nesta empreitada. Por acreditar no meu potencial não só como pesquisador mas como oftalmologista. Seu exemplo de dedicação, ética e conhecimento sempre se fará presente como guia na minha carreira acadêmica e profissional.

Ao Prof. Dr. Mario Luiz Ribeiro Monteiro, pelo seu exemplo de dedicação constante e incansável à ciência, por todas as dicas e orientações no andamento desse estudo.

Ao Prof. Dr. Marcelo Hatanaka, por todo auxílio e suporte durante o desenvolvimento metodológico do trabalho, e sobretudo na disponibilidade para realizar a análise precisa das estereofotografias.

Ao Prof. Dr. Rafael Barbosa de Araújo, pela amizade e convivência fraterna durante desde o início da minha formação como oftalmologista.

À sra. Regina Ferreira de Almeida pelo orientação constante e presteza imediata, fundamental para o desenrolar dos nossos projetos e alcance dos nossos objetivos na pós-graduação.

Aos colegas residentes e funcionários da Divisão de Oftalmologia do HCFMUSP que tornaram mais curtos os caminhos.

A todos os pacientes que participaram voluntariamente deste projeto, contribuindo com o crescimento da ciência.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Símbolos

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1	<i>INTRODUÇÃO</i>	1
2	<i>OBJETIVOS</i>	5
2.1	Gerais.....	6
2.2	Específicos.....	6
3	<i>REVISÃO DA LITERATURA</i>	7
3.1	Diabetes Mellitus e Retinopatia Diabética.....	8
3.2	Métodos de imagem para avaliação do disco óptico (DO) e da Camada de fibras nervosas da retina (CFNR)	22
4	<i>MÉTODOS</i>	30
4.1	Desenho do estudo.....	31
4.2	Amostra	31
4.3	Fotocoagulação retiniana	33
4.4	Estereofotografias (EFs) do disco óptico	34
4.5	Tomografia de Varredura a laser (TVL).....	34
4.6	Polarimetria de Varredura a laser (PVL)	36
4.7	Tomografia de coerência óptica (OCT)	38
4.8	Cálculo do tamanho amostral, análise dos dados e estatística	39
5	<i>RESULTADOS</i>	41
6	<i>DISCUSSÃO</i>	46
7	<i>CONCLUSÃO</i>	54
8	<i>ANEXOS</i>	56
9	<i>REFERÊNCIAS</i>	58

LISTAS

LISTA DE ABREVIATURAS

AV:	Acuidade visual
AGE:	Do inglês, <i>Advanced Glycation End-Products</i>
C/D:	Do inglês, <i>cup-to-disc</i>
CAPES:	Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior
CFNR:	Camada de fibras nervosas da retina
CNPQ:	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COL.:	Colaboradores
CSLO:	Do inglês, <i>Confocal scanning laser ophthalmoscopy</i>
CV:	Campo visual
DM:	Diabetes Mellitus
DMG:	Diabetes Mellitus Gestacional
DO:	Disco óptico
DP:	Desvio-padrão
DRCR.net:	Do inglês, <i>Diabetic Retinopathy Clinical Research Network</i>
DRS:	Do inglês, <i>Diabetic Retinopathy Study</i>
E/D:	Escavação/disco óptico
EF ou EFs:	Estereofotografia ou Estereofotografias
EM:	Edema macular
EMCS:	Edema macular clinicamente significativo
EMD:	Edema macular diabético

EPR:	Epitélio Pigmentado da Retina
ETDRS:	Do inglês, <i>Early Treatment Diabetic Retinopathy Study</i>
GDx VCC:	Polarímetro de Varredura a laser GDx com o modo compensador de córnea variável
HCFMUSP:	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HRT:	Do inglês, <i>Heidelberg Retina Tomograph</i>
IAPB:	Do inglês, <i>Internacional Association on the Prevention of Blindness</i>
ICAM-1:	Do inglês, <i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i>
IDF:	Do inglês, <i>International Diabetes Federation</i>
IRMA:	Do inglês, <i>Intraretinal microvascular abnormalitie</i>
MA:	Microaneurisma
MODY:	Do inglês, <i>Maturity-Onset Diabetes of the Young</i>
NFI:	Do inglês, <i>Nerve Fiber Indicator</i>
NO:	Nervo óptico
NV:	Neovasos
NVD:	Neovascularização de disco óptico
NVE:	Neovascularização de retina
OCT:	Do inglês, <i>Optical Coherence Tomography</i>
OCTA:	Do inglês, <i>Optical Coherence Tomography Angiography</i>
OCT-SD:	Do inglês, <i>Optical Coherence Tomography – Spectral domain</i>
ONH:	Do inglês, <i>Optic Nerve Head</i>

PCK:	Proteína C quinase
PDR:	Do inglês, <i>Proliferative Diabetic Retinopathy</i>
PFC:	Panfotocoagulação retiniana
PIO:	Pressão intraocular
PRP:	Do inglês, <i>Panretinal Photocoagulation</i>
PVL:	Polarimetria de varredura a laser
RD:	Retinopatia diabética
RDNP:	Retinopatia diabética não-proliferativa
RDP:	Retinopatia diabética proliferativa
RNFL:	Do inglês, <i>Retina Nerve Fiber Layer</i>
SD:	Do inglês, <i>Standard deviation</i>
SLP:	Do inglês, <i>Scanning Laser Polarimetry</i>
SPSS:	Do inglês, <i>Statistical package for social sciences</i>
TSNIT:	Temporal-superior-nasal-inferior-temporal
TVL:	Tomografia de Varredura a laser
VEGF:	Do inglês, <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

cm: centímetro

D: dioptrias

mm: milímetro

ms: milissegundo

μm: micrômetro

s: segundo

>: maior que

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classificação da Retinopatia diabética segundo o <i>Early Treatment Diabetic Retinopathy Study</i> ..	13
Figura 2. Retinografia do pólo posterior, exemplificando o padrão de fotocoagulação a laser utilizado no estudo.	33
Figura 3. Exemplo de uma impressão do HRT III de um olho estudado antes do tratamento com laser.	36
Figura 4. Exemplo de uma impressão da análise da CFNR com o GDx VCC (compensador de cornea variável).	37
Figure 5. Exemplo do OCT de domínio spectral, Spectralis: exibe classificações de parâmetros de espessura da CFNR de acordo com comparações com valores da população normal do banco de dados.	39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Relação Escavação/disco óptico antes e 12 meses após a PFC retiniana pela estereofotografia.....	42
TABELA 2 - Comparação dos parâmetros do HRT antes e 12 meses após a panfotocoagulação retiniana	43
TABELA 3 - Comparação entre os parâmetros do GDx VCC antes e 12 meses após a panfotocoagulação retiniana	44
TABELA 4 - Média da espessura da CFNR medida pelo OCT spectral domain antes e 1 ano após a panfotocoagulação retiniana.....	45

RESUMO

Azevedo BMSA. *Avaliação estrutural do disco óptico e da camada de fibras nervosas retinianas peripapilares em pacientes com retinopatia diabética submetidos a panfotocoagulação retiniana* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Objetivos: Determinar o efeito da panfotocoagulação retiniana (PFC) nos parâmetros topográficos do disco óptico e na camada de fibras nervosas da retina (CFNR) peripapilar em pacientes com retinopatia diabética proliferativa (RDP). **Métodos:** Este é um estudo observacional prospectivo, de centro único. Trinta e oito olhos de 26 pacientes diabéticos foram submetidos a PFC para retinopatia diabética proliferativa. As estereofotografias (EFs) e os parâmetros do disco óptico foram avaliados usando o retinógrafo Visucam da Zeiss e a Tomografia de varredura a laser (TVL), respectivamente. A espessura da CFNR peripapilar foi medida por tomografia de coerência óptica (OCT) e polarimetria de varredura a laser (PVL). Todas as medições foram realizadas no início e 12 meses após a conclusão da PFC. **Resultados:** Trinta e oito olhos de 26 pacientes (15 mulheres) com média de idade de 53,7 anos (faixa etária de 26 a 74 anos) foram recrutados. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre a média horizontal e vertical para relação escavação/disco óptico (E/D) determinadas pelas EFs antes e após o tratamento com PFC ($P = 0,461$ e $0,839$, respectivamente). Os valores globais dos parâmetros do disco óptico analisados com a TVL não mostraram nenhuma mudança significativa entre o baseline e 12 meses após o tratamento (área do disco, área da escavação, área da rima, volume da escavação, volume da rima, relação área da escavação/área do disco, relação linear do tamanho da escavação/disco, profundidade média da escavação, profundidade máxima da escavação, medida do formato da escavação, variação na altura do contorno, espessura média da CFNR e área transversal da CFNR). O OCT e o PVL não encontraram diferença significativa entre a CFNR peripapilar antes e após a PFC ($P = 0,114$ e $P = 0,813$, respectivamente). **Conclusões:** Nossos resultados sugerem que a PFC nos padrões realizados no presente estudo não causa significantes alterações morfológicas no disco óptico em pacientes diabéticos com RDP após um ano de acompanhamento.

Descritores: complicações do diabetes; retinopatia diabética/terapia; retinopatia diabética/complicações; tomografia de coerência óptica/métodos; fotocoagulação; glaucoma/diagnóstico; diagnóstico por imagem/métodos; disco óptico/patologia; fibras nervosas/patologia; oftalmoscopia/métodos

SUMMARY

Azevedo BMSA. *Structural evaluation of the optic disc and peripapillary retinal nerve fiber layer in patients with diabetic retinopathy submitted to panretinal photocoagulation* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

Purpose: To determine the effect of panretinal photocoagulation (PRP) on optic disc topographic parameters and peripapillary retinal nerve fiber layer (RNFL) in non-glaucomatous patients with proliferative diabetic retinopathy (PDR). **Methods:** This is a prospective, single center, observational study. Thirty-eight eyes of 26 diabetic patients underwent PRP for proliferative diabetic retinopathy. Stereoscopic disc photographs and optic nerve head (ONH) parameters were evaluated using the Zeiss fundus camera and the confocal scanning laser ophthalmoscopy (CSLO), respectively. The peripapillary RNFL thickness was measured by optical coherence tomography (OCT) and scanning laser polarimetry (SLP). All measurements were performed at baseline and 12 months after completion of PRP. **Results:** Thirty-eight eyes of 26 patients (15 female) with a mean age of 53.7 years (range 26 to 74 years) were recruited. No significant difference was found between mean horizontal and vertical cup to disc (C/D) ratio determined by stereoscopic disc photographs before and after PRP treatment ($P=0.461$ and 0.839 , respectively). The global values of ONH parameters analyzed with the CSLO showed no significant change from baseline to 12 months (disc area, cup area, rim area, cup volume, rim volume, C/D area ratio, linear C/D ratio, mean cup depth, maximum cup depth, cup shape measure, height variation contour, mean retinal nerve fiber layer thickness and cross-sectional area). The OCT and SLP did not find significant difference between peripapillary RNFL before and after PRP ($P=0.114$ and $P=0.813$, respectively). **Conclusion:** Our results suggest that PRP as performed in this study does not cause significant morphological optic disk changes in diabetic PDR patients after one year of follow-up.

Descriptors: diabetes complications; diabetic retinopathy/therapy; diabetic retinopathy/complications; optical coherence tomography/methods; photocoagulation; glaucoma/diagnosis; imaging diagnosis/methods; optic disc/pathology; nerve fibers/pathology; ophthalmoscopy/methods

1 INTRODUÇÃO

A retinopatia diabética (RD) é a complicação ocular mais comum do diabetes mellitus (DM) e é uma das principais causas de cegueira nos países desenvolvidos (1). A panfotocoagulação retiniana a laser (PFC) é realizada como estratégia de primeira linha de tratamento em casos de retinopatia diabética proliferativa (RDP), dada a sua conhecida eficácia na redução do risco de perda visual grave (2). O diabetes mellitus, por sua vez, é considerado um importante fator de risco para o desenvolvimento de glaucoma (3). Além disso, é bastante comum a coexistência de retinopatia diabética com a neuropatia óptica glaucomatosa (4).

Deparando-se com pacientes que apresentem glaucoma e RDP concomitante e que necessitem ser submetidos a PFC, o exame de campo visual torna-se pouco útil tanto para diagnóstico como para seguimento, pois o laser destrói secundariamente as células ganglionares da retina, produzindo alterações que podem inclusive simular defeitos glaucomatosos (5). Neste cenário, a análise do disco óptico sobressai como de maior valor diagnóstico, principalmente quando combinada com a medida da espessura da camada de fibras nervosas da retina (CFNR) peripapilar.

Os axônios das células ganglionares compõem a CFNR que vão confluir para formar o nervo óptico. Já foi reportado que existe correlação significativa entre a topografia do disco óptico e o número de fibras. A escavação patológica do disco óptico é frequentemente associada ao glaucoma, mas foi descrita em várias outras neuropatias ópticas e raramente em doenças da retina (6). Como a panfotocoagulação pode causar dano à camada de fibras nervosas, especula-se que esse tratamento possa alterar a morfologia do disco óptico, mesmo sem haver doença específica do nervo. Além disso, a própria retinopatia diabética poderia estar associada a alterações na espessura da camada de fibras nervosas e na aparência do disco óptico: estudos prévios demonstram que pacientes diabéticos, com ou sem retinopatia diabética (RD), apresentam menor

espessura da CFNR quando comparados à população normal, que é atribuída à perda progressiva das células ganglionares e astrócitos induzida pelo próprio diabetes e pode depender de uma toxicidade direta da hiperglicemia ou da disfunção das células de Muller, que são incapazes de manter um equilíbrio osmótico adequado entre as matrizes intra e extracelulares com consequente apoptose de células neuronais e degeneração axonal progressiva (7-10). Além disso, tem sido sugerido que a perda de células ganglionares secundária à PFC e a atrofia ascendente da CFNR poderia alterar a aparência e a topografia do disco óptico (5). Portanto, a avaliação da escavação do disco óptico e de possíveis danos glaucomatosos em pacientes com retinopatia diabética pode ser difícil, especialmente após o tratamento com PFC.

Tradicionalmente, o manejo dos pacientes com glaucoma é realizado com monitorização da pressão intraocular (PIO), avaliação estrutural do disco óptico e CFNR (através de retinografia e fotografias discográficas estereoscópicas) e avaliação funcional através da perimetria acromática. Com o avanço da tecnologia, observações em série da espessura da CFNR são usadas rotineiramente para monitorar pacientes com glaucoma, pois a perda da CFNR pode indicar progressão da doença (11,12). Atualmente, a avaliação quantitativa e qualitativa da CFNR pode ser realizada por polarimetria de varredura a laser (PVL) e tomografia de coerência óptica (OCT), auxiliando na detecção precoce da progressão da doença. Paralelamente, a tomografia de varredura a laser (TVL), com uma análise topográfica tridimensional, pode ser uma valiosa ferramenta diagnóstica para avaliar as alterações topográficas do disco óptico, com medidas objetivas da área da borda do disco óptico e dos parâmetros da escavação.

A PFC visa a destruição seletiva das camadas externas da retina. Entretanto, se a intensidade do laser for muito forte e destruir toda a espessura da retina, consequentemente haverá uma diminuição da camada de fibras nervosas peripapilar

correspondente. Kim e Cho (13) mediram a espessura da CFN peripapilar antes e seis meses depois da panfotocoagulação e concluíram que o laser não necessariamente lesa a CFN se a queimadura ocasionada for apenas de grau moderado. Por outro lado, diversos estudos demonstram alterações anatômicas na camada de fibras nervosas e topografia do disco após realização de panfotocoagulação retiniana (5,14-16).

Dadas as evidências existentes até o momento, existe grande divergência de dados sobre as repercussões da PFC sobre o disco óptico e sua aparência. Isto mantém sem resposta a dúvida comum na prática clínica se há ou não doença glaucomatosa ou outra doença do nervo óptico em pacientes que já foram submetidos a PFC. Tal questionamento é especialmente relevante, dada a possibilidade atual de diminuição da utilização da panfotocoagulação retiniana em detrimento de novas terapias com inibidores intravítreos de fator de crescimento do endotélio vascular.

O protocolo S (17) recentemente publicado do DRCR.net (*Diabetic Retinopathy Clinical Research Network*), um ensaio clínico multicêntrico e randomizado que comparou a PFC versus anti-VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) para casos de RDP, demonstrou que ambas as terapias tiveram resultados semelhantes na prevenção de complicações da retinopatia diabética, mas o grupo que recebeu injeções intravítreas de anti-VEGF obteve uma acuidade visual ligeiramente, mas significativamente, melhor e campos visuais mais preservados quando comparados com os pacientes que receberam PFC. No entanto, os custos são significativamente maiores e a baixa adesão ao tratamento é um problema, porque requer um acompanhamento mais constante.

2 OBJETIVOS

2.1 Gerais

Avaliar e comparar os efeitos da panfotocoagulação retiniana sobre a camada de fibras nervosas peripapilar, a topografia do disco óptico e sua aparência estereofotográfica.

2.2 Específicos

Analisar separadamente os resultados dos exames utilizados para documentação da topografia do disco óptico e da camada de fibras nervosas peripapilares antes e 12 meses após a PFC.

- a) Determinar se houve alteração da escavação vertical e/ou horizontal nas EFs.
- b) Avaliar comparativamente os parâmetros topográficos do disco óptico obtidos com HRT
- c) Analisar mudanças da espessura da CFN peripapilar ao GDx;
- d) Detectar alterações da espessura da CFN peripapilar ao OCT tanto no valor médio quanto nos setores analisados isoladamente (nasal superior, temporal superior, temporal, temporal inferior, nasal inferior e nasal);

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Diabetes Mellitus e Retinopatia Diabética

3.1.1 Epidemiologia

Diabetes mellitus (DM), mais simplesmente chamado de diabetes, é uma condição crônica que ocorre quando há elevados níveis de glicose no sangue ocasionado pela incapacidade do organismo de produzir insulina (ou o faz em quantidade insuficiente) para realizar sua função adequadamente ou devido a resistência à ação da insulina pelas células teciduais (18). Insulina é um hormônio essencial produzido no pâncreas e transporta a glicose da corrente sanguínea para dentro das células onde a glicose será convertida em energia. A falta de insulina ou a incapacidade das células para responder à ação da mesma leva a hiperglicemia, que é a marca do diabetes. Hiperglicemia, se não for controlada ao longo prazo, pode causar danos a vários órgãos do corpo, levando ao desenvolvimento de incapacitações e complicações da saúde ameaçadoras a vida, como doença cardiovascular, neuropatia, nefropatia e doença ocular, podendo causar retinopatia e cegueira irreversível. Embora ainda não haja uma cura definitiva para o diabetes, há vários tratamentos disponíveis e, se realizado o manejo apropriado do controle glicêmico, estas sérias complicações podem ser retardadas ou até mesmo evitadas.

Segundo dados da *International Diabetes Federation* (IDF) de 2017, estima-se que 8,8% da população mundial com 20 a 79 anos de idade (425 milhões de pessoas) tenha diabetes (19). Se as tendências atuais persistirem, projeções indicam que o número de pessoas com diabetes será superior a 690 milhões em 2045. Cerca de 79% dos casos são de países em desenvolvimento, nos quais deverá ocorrer o maior aumento dos casos de diabetes nas próximas décadas. Na lista dos países com maior prevalência

do diabetes no mundo, o Brasil ocupa a quarta posição no ranking, atrás apenas da China, Índia e Estados Unidos, apresentando cerca de 13,3 milhões de diabéticos nesse ano, o que corresponde a 1 adulto com diabetes em cada 12 indivíduos (19).

A classificação e diagnóstico de diabetes são complexos e tem sido objeto de muito debate e revisão durante décadas, mas agora é amplamente aceito que existem três tipos principais de diabetes: Diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e diabetes mellitus gestacional (DMG). Existem também alguns tipos menos comuns de diabetes, tais como: diabetes monogênicos (exemplo o MODY - *Maturity-Onset Diabetes of the Young*) e diabetes secundários (por exemplo: a medicamentos, infecções e endocrinopatias). DM tipo 2 é o mais comum, representando cerca de 90% de todos os casos de diabetes, acometendo mais comumente idosos, mas ultimamente cada vez mais é visto em crianças, adolescentes e adultos mais jovens devido ao aumento dos níveis de obesidade, inatividade física e má alimentação (20).

A Retinopatia diabética (RD) é uma complicação microvascular do DM e ocorre como resultado da hiperglicemia crônica levando a danos nos capilares da retina, ocasionando aumento da permeabilidade vascular e obliteração capilar. Pode levar à baixa visão e, eventualmente, cegueira. Edema macular diabético (EMD) é uma complicação adicional da retinopatia, que pode ocorrer em qualquer estágio dessa doença. É caracterizado por um inchaço da mácula devido à isquemia e alteração da permeabilidade dos vasos capilares (21). O risco de retinopatia é maior entre as pessoas com diabetes tipo 1, com maior tempo de doença e possivelmente entre pessoas de menor status socioeconômico (22)

RD é a principal causa de perda visual na população economicamente ativa (adultos entre 20 a 65 anos) e aproximadamente uma em cada três pessoas que vivem com diabetes apresentam algum grau de RD, assim como um em cada dez desenvolverá

uma forma grave da doença (23). Conforme as estimativas da *Internacional Association on the Prevention of Blindness* (IAPB), 145 milhões de pessoas tinham alguma forma de RD, dessas 45 milhões apresentaram formas graves que ameaçavam a visão em 2015. Estudos recentes sugerem diminuição na prevalência da RD. Uma maior eficácia no tratamento da DM (melhor controle da glicemia e da pressão arterial sanguínea), diagnóstico mais precoce (por meio de programas de rastreamento e de redução na taxa glicêmica para definir o portador da doença) e avanços propedêuticos para examinar a retina são fatores que, possivelmente, estão associados a este decréscimo (24).

A principal medida preventiva para a RD é o controle glicêmico rigoroso. Isso pode ser alcançado através do autogerenciamento intensivo da glicemia via combinação da dieta com a medicação, se necessário, que pode prevenir o aparecimento de RD em 76% e sua progressão em 54% para os doentes tratados com insulina (25). Além disso, para pessoas com diabetes tipo 2, o controle glicêmico mais intenso pode reduzir em 13% a incidência de doenças oculares pelo DM em relação aos cuidados regulares da glicemia (26).

3.1.2 Fisiopatogenia

A RD é uma doença multifatorial e sua patogenia é extremamente complexa. Várias células da retina estão envolvidas neste processo, incluindo as de Müller, ganglionares, endoteliais e células do epitélio pigmentar da retina (EPR). A hiperglicemia, inflamação e disfunção neuronal são os principais fatores envolvidos na fisiopatologia da RD (27). Fatores sistêmicos, como hipertensão e hiperlipidemia, e fatores genéticos também estão envolvidos neste processo multifatorial. As disfunções microvasculares que ocorrem na RD podem resultar em dois processos principais: aumento da permeabilidade e obliteração capilar, que levam, respectivamente ao EMD

e neovasos (NV) da retina, sendo que a hiperglicemia é o principal fator implicado nas mudanças estruturais e funcionais da retina.

O dano celular é produzido principalmente através dos seguintes mecanismos: a formação dos produtos de glicação avançada (AGEs - *Advanced Glycation End-Products*), a promoção da via poliol, ativação da proteína C quinase (PCK), e estimulação do estresse oxidativo (28-30). AGEs e seus receptores estão implicados no desenvolvimento da RD, promovendo o aumento de inflamação e processo neurodegenerativo (31). Além disso, a hiperglicemia ativa a via metabólica da aldose-redutase, resultando no acúmulo de poliol. Como consequência, há um aumento do estímulo do estresse oxidativo e do dano celular (32). Os AGEs também estão implicados na ativação da PCK, que está envolvida em diversos processos, como o aumento da capacidade e vasopermeabilidade e oclusão capilar, liberação de proteínas pró-inflamatórias e estimulação do estresse oxidativo (33). Outro fator adicional na fisiopatologia da RD é a inflamação, levando ao edema macular (EM), isquemia e NV. Diversos mediadores próinflamatórios estão envolvidos neste processo como o VEGF, o óxido nítrico, citocinas, quimiocinas, angiotensina II, e o sistema renina - angiotensina (34).

O VEGF induz a angiogênese e aumenta a permeabilidade vascular (35-36). Vários estudos sugerem que o VEGF pode induzir mudanças estruturais nas junções das células endoteliais, e também estar associado com o aumento da expressão de ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule 1*), uma molécula de adesão endotelial, levando à degradação das células endoteliais e leucostase. Um aumento da expressão de VEGF pode ser induzida por hiperglicemia e hipóxia (37). Como relatado recentemente, algumas células da retina, como pericitos, neurônios, células endoteliais, de Müller, ganglionares e do EPR podem produzir VEGF (38). Os fatores angiogênicos

estimulam as células que compõem o leito capilar retiniano a produzir collagenases e outras enzimas, que destroem a membrana basal dos capilares. As células migram, escorregando pelos espaços na parede dos vasos, em direção ao estímulo angiogênico. A neovascularização retiniana se inicia, os neovasos invadem a membrana limitante interna e crescem sobre a superfície da retina (39).

Outro papel importante dos fatores de crescimento na fisiopatologia da RD é a influência na alteração das barreiras hematorretinianas, eficientes barreiras que restringem a mobilidade de macromoléculas, o que faz da retina neural um tecido imunologicamente privilegiado e propicia mecanismos para controlar o fluxo de fluidos e metabólitos. Essas barreiras são formadas pelos vasos retinianos (barreira hematorreïniana interna) e pelo complexo EPR-coriocapilar (barreira hematorreïniana externa) (40).

A neurodegeneração é um fator importante para a microvasculopatia diabética (41). Trabalhos recentes mostraram que a disfunção neuronal foi detectada em pacientes diabéticos através de testes da sensibilidade ao contraste e visão de cores e em análises de eletrorretinografia e eletrorretinograma multifocal (42-43). O aumento dos níveis de glutamato extracelular, que também já foi demonstrado em diabéticos, ativa o processo de apoptose (44). A microglia também desempenha um papel importante na ativação da cascata inflamatória neurodegenerativa através da liberação de vários fatores neurotróficos e próinflamatórios (45).

3.1.3 Classificação e quadro clínico

O Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) classificou a RD em não proliferativa (RDNP) ou proliferativa (RDP), classificação importante para determinar progressão, tratamento e prognóstico da doença (figura 1). O estágio inicial, não proliferativo, é caracterizado por microaneurismas capilares, hemorragias e exsudatos.

Com a progressão das alterações bioquímicas, hemodinâmicas e anatômicas, a RD avança, surgindo as anormalidades da microvasculatura intrarretiniana e ingurgitamento venoso, os quais sinalizam instalação do processo isquêmico (46).

Classificação	Características fundoscópicas
Retinopatia diabética não proliferativa	
A - Leve	Pelo menos, 1 microaneurisma (MA). Definição não se enquadra em B, C, D, E ou F.
B - Moderada	Hemorragias e/ou MA em 1 Quadrante. Presença de manchas algodinosas, veia em rosário e IRMA. Definição não se enquadra em C, D, E e F.
C - Grave	Hemorragia e MA em todos os quadrantes. Veias em rosário em dois ou mais quadrantes e IRMA em, pelo menos, um quadrante.
D - Muito grave	Dois ou mais achados do C, acima com a definição não se enquadrando em E ou F.
Retinopatia diabética proliferativa	
E - Proliferativa Precoce	Presença de neovasos com a definição não se enquadrando em F.
F - Alto risco	NVD $\geq$ 1/3-1/2 área de disco. NVD e hemorragia vítrea ou pré-retiniana. NVE $\geq$ 1/2 área de disco com hemorragia vítrea e pré-retiniana

FONTE: *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* Report Number 12: Fundus photography risk factors for progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1991; 98:823-833.

Legendas: MA = microaneurismas; IRMA = anormalidade microvascular intrarretiniana; NVD = neovasos de disco óptico; NVE = neovasos de retina.

Figura 1. Classificação da Retinopatia diabética segundo o *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*

A RDP é caracterizada pela presença de neovascularização na retina e/ou no disco óptico (46). Considera-se RDP precoce a fase proliferativa inicial, sem as características da RD de alto risco (neovasos de disco $> 1/3-1/2$ da área de disco, ou neovasos de disco de qualquer tamanho associada a hemorragia vítrea ou pré-retiniana, ou neovasos de retina $> 1/2$ disco de área com presença de hemorragia vítrea ou pré-retiniana) (47).

Os vasos neoformados não cumprem a função da barreira hematorretiniana interna, devido ao fato de não apresentarem células murais, os pericitos, e também pela perda das células endoteliais dos capilares (48). Dessa forma, com a não integridade dessa barreira, é permitido extravasamento de componentes séricos intravasculares para o parênquima retiniano (49,50). Além disso, estes capilares possuem endotélio muito fino, o que os torna frágeis e fáceis de romper, causando hemorragia dentro da cavidade vítrea ou pré-retiniana (49).

Em qualquer estágio da RD, pode-se observar EMD (51). No passado, o termo edema macular clinicamente significativo (ECMS) era usado para definir os pacientes que precisavam ser tratados. A caracterização de EMCS envolve, pelo menos, uma das seguintes alterações maculares: espessamento retiniano localizado dentro de 500 μ m da fóvea, exsudatos duros localizados dentro de 500 μ m da fóvea, se associados com espessamento de retina adjacente, ou espessamento retiniano de, pelo menos, um diâmetro de disco papilar, parte do qual localizado a pelo menos um disco de diâmetro do centro da fóvea (52).

Num estudo populacional, a incidência de edema macular foi determinada de acordo com o tipo e duração do DM. Acima de 10 anos de doença, a incidência de EMD nos portadores de DM tipo 1, de DM tipo 2 usuários de insulina e de DM tipo 2 não usuários de insulina foi de, respectivamente, 20,1 %, 25,4% e 13,9% (46). Nesse mesmo

estudo, o aumento da incidência de EMD em 10 anos de doença, para ambos os tipos de DM, estava associada a alta taxa de hemoglobina glicada, aumento da pressão sanguínea diastólica e retinopatia em estágio mais avançado (53).

Moss e col. demonstraram que, nos portadores de DM tipo 2, a perda visual é comum e poucos fatores modificáveis estão associados com essa prevalência (54). A perda da acuidade visual na RD se dá, mais comumente, pelo EMD e está mais comumente relacionada com perda moderada, que equivale ao dobro do ângulo visual, por exemplo, de 20/20 para 20/40 (55). A perda visual grave, que impossibilita o indivíduo de realizar tarefas simples do cotidiano, é atribuída às complicações da RDP como hemorragia pré-retiniana ou vítrea, proliferação fibrovascular, descolamento tracional de retina e glaucoma neovascular (56,57). No entanto, a alteração visual é um sintoma tardio da RD e muitos pacientes permanecem sem diagnóstico, mesmo com a doença causando lesões retinianas graves e irreversíveis (56,57). Dessa forma, perde-se o melhor momento para iniciar o tratamento da RD, a fase assintomática, que precede a baixa de visão e outros sintomas oftalmológicos (58,59).

Fong e col. (60) realizaram um estudo para descrever as causas e os fatores de risco para perda visual grave ocorrida no estudo ETDRS, definida como acuidade visual com melhor correção $\leq 5/200$ em pelo menos duas visitas consecutivas, em quatro meses de seguimento. A causa mais comum de perda visual grave foi decorrente de hemorragia vítrea ou pré-retiniana, sendo que 30% desses olhos evoluíram com descolamento de retina associado. A segunda causa de perda visual grave persistente foi EMD e alterações pigmentares relacionadas ao próprio edema. Dos fatores de risco sistêmicos para perda visual grave persistente avaliados, como sexo, idade, tipo e duração de DM, índice de massa corpórea, tabagismo, hemoglobina glicada, uso de aspirina, nível de colesterol, pressão sanguínea, proteinúria, hematócrito e creatinina

sérica, apenas a hemoglobina glicada e o nível de colesterol foram as variáveis com valores preditivos significantes.

Outra causa direta de perda visual grave é a não perfusão capilar macular, ou seja, a isquemia macular. Uma das razões dessa causa hemodinâmica ser pouco descrita é a dificuldade diagnóstica, que ocorre por alguns motivos. Primeiramente, a hipoperfusão pode gerar o desenvolvimento da neovascularização, a qual pode ser responsável pelo descolamento de retina, hemorragia vítrea ou pré-retiniana, causas mais evidentes de perda visual. Em segundo lugar, a dificuldade de interpretação da angiofluoresceinografia, em casos de hipoperfusão com fluxo muito reduzido da fluoresceína, pode subdiagnosticar esta alteração macular (60). A angiografia por tomografia de coerência óptica (OCTA) é um avanço tecnológico recente que se demonstrou uma alternativa à angiofluoresceinografia no diagnóstico da isquemia macular, além de poder fornecer dados quantitativos sobre as dimensões da zona avascular foveal (61).

3.1.4 Tratamento

Os tratamentos atualmente disponíveis incluem a fotocoagulação a laser, injeção intravítrea de medicamentos anti-VEGF, injeções intravítreas de esteróides, implante intravítreo de polímero farmacológico de liberação controlada e vitrectomia via pars plana. Estes tratamentos podem impedir a perda visual grave, estabilizar o quadro e/ou, em alguns casos, proporcionar a melhora da visão do paciente se tratado precocemente. Também é essencial que as pessoas com diabetes sejam educadas sobre a importância do acompanhamento regular para rastreamento da retinopatia e que seja garantido a eles o acesso a esses serviços de triagem.

Além disso, pessoas com diabetes devem adotar um estilo de vida saudável em relação à nutrição e exercícios físicos, além de serem instruídos sobre a importância não só do controle glicêmico, como também da pressão arterial sanguínea.

Abordando mais detalhadamente as opções terapêuticas para RD, temos:

3.1.4.1 Fotocoagulação a laser

O tratamento com fotocoagulação a laser é considerado o padrão-ouro para a RDP ou RDNP grave há algumas décadas. Mesmo com o surgimento de novas terapias, como injeções de anti-VEGF intravítreo, (17), a PFC ainda é considerada a primeira escolha pela disponibilidade, facilidade no seguimento e custos.

Dois grandes estudos, o *Diabetic Retinopathy Study* (DRS) e o *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* (ETDRS), forneceram as melhores evidências para os benefícios terapêuticos da fotocoagulação a laser em casos proliferativos. O DRS (2) mostrou em 1978 que a panfotocoagulação retiniana reduziu o risco de perda severa da visão por RDP de 15,9% em olhos não tratados para 6,4% em olhos tratados com maior benefício naqueles com doença de base mais avançada (neovascularização de disco ou hemorragia vítrea). Em 1991, o ETDRS (62) também verificou os benefícios da panfotocoagulação para RDP de alto risco e em pacientes de início mais tardio com RDNP grave ou RDP de baixo risco.

Várias hipóteses têm sido sugeridas para explicar a eficácia da terapia com laser em promover a regressão dos neovasos: a destruição de uma retina doente permitiria uma melhor perfusão da retina saudável; o afinamento da camada retiniana externa facilitaria a difusão do oxigênio; a redução de áreas isquêmicas diminuiria a produção de substâncias vasoproliferativas, como o VEGF. Essa última teoria é respaldada pelos

níveis de VEGF intravítreo estarem elevados na RD proliferativa em atividade e diminuídos após tratamento com laser (63,64).

A técnica preconizada pelo ETDRS é a panfotocoagulação (“full scatter photocoagulation”), nos pacientes com RD não proliferativa muito grave e RDP. Utiliza-se mira de 500 μ m, tempo de exposição de 0,1seg e intensidade moderada, verificada pelas marcas dos disparos. A distância entre as marcas é de aproximadamente metade do seu diâmetro, sendo iniciada a partir de 2 diâmetros papilares do centro da mácula (margeando as arcadas vasculares) em direção à periferia. A média de disparos para realizar esta PFC completa é de 1600 tiros, geralmente divididos em 3 sessões ou mais (62).

Ao longo do tempo, novas tecnologias de laser, menos dolorosas, e minimamente invasivas foram desenvolvidas, além de várias estratégias de tratamento que diferem dos parâmetros adotados e propostos pelo ETDRS, como tamanho da mira, potência e tempo de exposição.

No entanto, a fotocoagulação retiniana também tem efeitos adversos. Estudos prévios demonstraram complicações como alterações no campo visual (65), na adaptação ao escuro (66,67) e nas amplitudes do eletroretinograma (68). Alguns autores evidenciaram redução temporária da sensibilidade ao contraste após 1-2 semanas da PFC e a mesma retornou, após 3 meses da aplicação do laser, aos limiares anteriores ao tratamento. Essa redução temporária foi justificada pelo efeito ofuscante do laser e pela disrupção e desorientação dos fotorreceptores (69).

O efeito adverso mais comum da PFC é a possibilidade de induzir mudança da AV devido EM secundário, acarretando redução transitória ou permanente da visão. A causa exata da fisiopatologia do EM pós-laser ainda não é compreendida, entretanto acredita-se que as alterações inflamatórias e do fluxo sanguíneo retiniano podem ser

responsáveis pelo mecanismo patogênico do edema após a terapia com laser (70). A fisiopatologia desta alteração ainda permanece incerta, mas estudos mostraram que a destruição térmica na panfotocoagulação induz inflamação no tecido retiniano e algumas citocinas, relacionadas ao processo inflamatório (interleucinas 6 e 8), e o óxido nítrico estão aumentados após tratamento, podendo levar ao edema macular (71,72).

Em resumo, apesar dos efeitos adversos, os ensaios clínicos multicêntricos evidenciaram que a panfotocoagulação reduziu a perda da acuidade visual e a progressão da RD. No entanto, mesmo com o tratamento a laser, aproximadamente 25% dos casos de RD proliferativa evoluem com hemorragia vítrea associada, ou não, ao descolamento tracional de retina, necessitando de terapia complementar com vitrectomia via pars plana para o restabelecimento da estrutura anatômica e funcional.

3.1.4.2 Anti-VEGF intravítreos

Dados recentes do DRCR.net e outros estudos demonstraram que injeções intravítreas de anti-VEGF, especificamente o ranibizumabe, proporcionam resultados de acuidade visual não inferiores àqueles observados em pacientes tratados com PFC durante 2 anos de seguimento (17). Além disso, observou-se que os pacientes tratados com ranibizumabe tenderam a ter menos perda de campo visual periférico, menos cirurgias de vitrectomia por complicações secundárias de sua doença proliferativa e menor risco de desenvolvimento de edema macular diabético. Em abril de 2017, o FDA aprovou o ranibizumabe para o tratamento da retinopatia diabética proliferativa. No entanto, uma desvantagem potencial no uso da terapia anti-VEGF para tratar doenças proliferativas é que os pacientes são obrigados a comparecer a um maior número de

visitas e receberem um maior número de tratamentos do que normalmente é necessário com o tratamento a laser, o que pode não ser ideal para alguns pacientes.

Enquanto o ETDRS (52) estabeleceu o benefício da fotocoagulação focal a laser em olhos com EMCS, dados atuais de ensaios clínicos bem desenhados demonstram que os agentes anti-VEGF intravítreos fornecem um regime de tratamento mais eficaz para o edema macular diabético com envolvimento foveal do que a monoterapia ou mesmo a terapia combinada com laser (73-75). Atualmente, existem três agentes anti-VEGF comumente usados para tratar olhos com EMD: bevacizumabe, ranibizumabe e aflibercept (76).

Tanto no DRS como no ETDRS, a fotocoagulação a laser foi benéfica na redução do risco de perda visual adicional nos pacientes afetados, mas geralmente não é benéfica na reversão da acuidade já diminuída. A terapia com anti-VEGF melhora a visão e diminuiu a necessidade de fotocoagulação a laser na grande maioria dos pacientes com EMD (77). A maioria dos pacientes requer administração quase mensal de terapia intravítrea com agentes anti-VEGF durante os primeiros 12 meses de tratamento, com menos injeções necessárias nos anos subsequentes para manter a remissão do edema macular com envolvimento central (73).

3.1.4.3 Esteróides intravítreos

Devido às suas propriedades anti-inflamatórias e anti-angiogênicas, os corticosteroides intravítreos têm sido utilizados por quase duas décadas como uma modalidade de tratamento para EMD (78-80). Os esteroides reduzem a permeabilidade vascular, a deposição de fibrina, o movimento de leucócitos, e a migração de células inflamatórias, e podem inibir a síntese de várias citocinas e fatores vasoativos, tais

como VEGF (81-84). A maioria dos trabalhos relatam alguma resposta favorável ao tratamento em termos de recuperação da AV e resolução do EMD. No entanto, o aumento da pressão intra-ocular (PIO) pode ocorrer, necessitando de terapia com colírios anti-glaucomatosos ou até mesmo intervenção cirúrgica. Também tem sido relatado progressão da catarata como complicações do uso de esteróides (85,86).

Atualmente, as formulações mais utilizadas na prática clínica são a triancinolona intravítrea e o implante intravítreo de polímero de dexametasona de liberação controlada. Pelos efeitos adversos, essas estratégias terapêuticas são na maioria das vezes indicadas para casos de edema macular refratário aos antiangiogênicos. O polímero de dexametasona pode ser optado como primeira escolha em pacientes vitrectomizados previamente com indicação de tratamento do EMD devido o tempo de meia-vida muito curto dos anti-VEGFs nesses olhos (87).

3.1.4.4 Tratamento cirúrgico

A cirurgia vitreorretiniana através da técnica da vitrectomia via pars plana está indicada em casos mais graves da RD (88), listados a seguir: 1. Hemorragia vítrea importante, persistente ou recorrente; 2. Descolamentos tracionais da retina ou ameaçando a região macular; 3. Descolamento misto de retina; 4. Membrana epirretiniana; 5. Tração vitreomacular ou no nervo óptico e outras alterações de interface vitreorretiniana.

3.2 Métodos de imagem para avaliação do disco óptico (DO) e da Camada de fibras nervosas da retina (CFNR)

3.2.1 Estereofotografia (EF) do Disco Óptico

A estereofotografia de papila fornece um registro do aspecto do disco óptico que independe de instrumentos especializados. É um bom método qualitativo de documentação que permite visualizar detalhes do DO em estereopsia, além de ser relativamente barato. Esta técnica permanece como a forma mais aceita e a mais utilizada para estabelecer uma medida basal e posterior acompanhamento do DO. Entretanto, como qualquer método subjetivo, a avaliação das estereofotografias está sujeita a erro até mesmo por especialistas experientes.

Existem dois métodos de obtenção da estereofotografia (89):

a) Sequencial: Nesse caso as fotografias do DO são obtidas consecutivamente, de forma automática ou manual. No método manual, mais utilizado, deve ser realizada uma captura da imagem do disco no centro da pupila e posterior movimentação da câmera para a posição das 9 e 3 horas para a obtenção das imagens que serão observadas, respectivamente, à direita e à esquerda.

b) Simultânea: Nessa situação, a captura da imagem estéreo é obtida em exposição única, método esse utilizado nos retinógrafos mais modernos.

3.2.2 Tomografia de Varredura a laser (TVL)

A variabilidade da avaliação clínica do DO pode ser reduzida com o uso de métodos quantitativos. Entre esses instrumentos, o TVL é um dos mais utilizados, mais especificamente o HRT (Heidelberg Retina Tomograph).

O HRT contém laser de diodo, um sistema óptico que deflete o feixe de laser e uma unidade especial de detecção de luz (90). Trata-se de um sistema confocal que garante a detecção apenas da porção de luz refletida de um determinado plano focal. O feixe de laser é projetado na retina e a quantidade de luz refletida é medida pela unidade de detecção. Cerca de 32 imagens de planos ópticos paralelos à superfície da retina são obtidos com o HRT I e II e 64 imagens com o HRT III (91). O examinador seleciona o plano focal do primeiro e do último corte da série tomográfica. Uma limitação do HRT é a necessidade do examinador determinar uma linha de contorno ao redor do disco óptico, pois muitas das medidas quantitativas dependem da colocação apropriada desta linha, o que pode levar a uma variabilidade intraoperador. No HRT III há uma opção de análise alternativa que dispensa essa colocação da linha de contorno. Esta técnica fornece cálculos estereométricos pela aplicação de um modelo automático da forma do disco óptico conforme sugerido por Swindale e col. (92). Os parâmetros morfológicos resultantes são analisados e geram um escore de probabilidade de glaucoma.

As medidas da topografia de disco óptico levam em consideração um plano de referência para diferenciar a rima neural da escavação. Esse plano é definido paralelo à superfície retiniana peripapilar, 50 μ m posterior, na região do feixe papilomacular (93). Assim, os tecidos localizados acima do plano de referência são considerados como rima neural, enquanto as estruturas localizadas abaixo são rotuladas como escavação. Uma série de parâmetros do disco óptico, da rima neural, da escavação e da CFNR são

avaliados após a aquisição das imagens. O HRT ainda apresenta a classificação de Moorfields, que é baseada em um banco de dados do aparelho que inclui indivíduos normais e glaucomatosos com dano inicial. De acordo com essa classificação, um indivíduo tem seu nervo óptico considerado normal quando todas as medidas estão dentro do intervalo de confiança de 95%. O HRT é um método reproduzível que pode ser usado no seguimento a longo prazo de pacientes glaucomatosos ou suspeitos de glaucoma.

3.2.3 Polarimetria de Varredura a laser (PVL)

A polarimetria de varredura a laser é um método quantitativo de medida da espessura da CFNR. O princípio da PVL baseia-se na propriedade birrefringente da CFNR, que está organizada em microtúbulos dispostos paralelamente (94). A luz polarizada, ao atravessar a CFNR, sofre um desvio em seu eixo de polarização, gerando uma alteração da sua velocidade, isto é, um retardo do raio luminoso. Essa alteração no estado da polarização da luz é proporcional ao número de microtúbulos atravessados pelos raios luminosos e pode ser quantificada. Assim, o retardo sofrido pela luz é diretamente proporcional à espessura da CFNR.

O polarímetro é constituído por um oftalmoscópio de varredura a laser, um modulador de polarização, um compensador corneano e uma unidade de detecção de polarização. A fonte de luz do aparelho consiste em um feixe de laser diodo de 780nm de comprimento de onda, no qual o estado de polarização é modulado. O feixe é focalizado em um ponto da retina e penetra na CFNR birrefringente onde sofre um retardo e é, na sequência, parcialmente refletido pelas camadas mais profundas da retina. O feixe refletido passa novamente pela CFNR onde sofre um novo retardo, se

dirige para fora do olho e é coletado pelo instrumento. O estado de polarização da luz é então analisado pela unidade de detecção de polarização do aparelho. O retardo é medido através da diferença de velocidade entre o feixe de laser que passa ao longo do eixo lento de polarização e sofre o fenômeno de retardo, e um outro feixe de laser que passa perpendicular, não sofrendo tal fenômeno. A unidade de varredura direciona o feixe de laser para uma posição adjacente onde o procedimento citado acima é repetido (95).

A atual versão da PVL (GDx VCC®), com compensação individual da polarização tem mostrado resultados melhores e mais promissores em relação às versões anteriores da PVL na detecção do glaucoma. Para que a compensação individual ocorra, o eixo específico e a magnitude da birrefringência do segmento anterior precisam ser calculados. O primeiro passo é avaliar a região macular sem compensação. A imagem obtida irá apresentar o retardo total do olho, incluindo córnea, cristalino e CFNR. A birrefringência da região macular é uniforme e simétrica devido à distribuição radial das fibras de Henle nessa região. Entretanto, em imagens não compensadas, um padrão não uniforme de retardo está presente como resultado da birrefringência do segmento anterior. O eixo e a magnitude da birrefringência do segmento anterior são determinados pela orientação do padrão de birrefringência em “gravata de borboleta” da mácula e pela análise complexa do perfil circular da birrefringência macular, respectivamente. Depois de conhecidos, ambos podem ser compensados individualmente para cada olho (96).

A fim de calcular certos parâmetros, a imagem fundoscópica é dividida em quatro setores, tendo como centro o disco óptico: superior (120°), inferior (120°), nasal (70°) e temporal (50°).

Imediatamente após a aquisição dos dados, um algoritmo do software calcula a quantidade de retardo ponto a ponto, gerando um mapa do retardo que é codificado por cores. Cores próximas do azul correspondem a áreas de baixo retardo e as próximas ao vermelho/amarelo indicam as de alto retardo (97).

O mapa de desvio mostra a localização e a magnitude dos defeitos da CFNR no mapa de espessura. São analisados 128 x 128 (20° x 20°) pixels centrados no disco óptico. Para reduzir a variabilidade devido às condições anatômicas interindividuais, o mapa de 128 x 128 pixels é dividido em uma grade de 32 x 32 quadrados, na qual cada quadrado representa uma região de 4 x 4 pixels, chamada de superpixel. Para cada scan, a espessura da CFNR em cada superpixel é comparada com o banco de dados do aparelho para pacientes da mesma idade. Os superpixels que se situam abaixo dos limites do normal são coloridos de acordo com a probabilidade de normalidade. Quadrado azul-escuro, azul-claro, amarelo e vermelho representam áreas onde a espessura da CFNR está abaixo dos percentis 5, 2, 1 e 0,5%, respectivamente.

TSNIT significa Temporal Superior Nasal Inferior Temporal e representa os valores da espessura da CFNR ao longo do círculo de cálculo começando temporalmente e movendo-se superiormente, nasalmente, inferiormente e terminando temporalmente. Em um olho normal, apresenta o padrão de dupla corcova com espessamento correspondendo aos polos superior e inferior. A área sombreada representa a variação de 95% dos normais para a determinada idade. Nos indivíduos normais, a curva TSNIT coincide com a área sombreada. Com a perda da CFNR, a curva vai se achatando e cai abaixo da área sombreada, principalmente nas regiões superiores e inferiores. Em indivíduos normais, há uma boa simetria entre os gráficos TSNIT de ambos os olhos e eles praticamente se sobrepõem. No entanto, quando um

olho é mais afetado do que o outro em indivíduos glaucomatosos, essa sobreposição não acontece mais.

O gráfico de análise contém os seguintes parâmetros: TSNIT Average, Superior Average, Inferior Average, TSNIT SD, Inter-Eye-Symmetry e NFI.

O círculo de cálculo é uma faixa de 0,4 mm de espessura centrada no disco óptico que tem um diâmetro externo de 3,2 mm e um diâmetro interno de 2,4 mm (96). Todos esses parâmetros, com exceção do NFI, são calculados a partir do círculo determinado. O TSNIT Average, Superior Average, Inferior Average representam a espessura média da CFNR em todo o círculo, na região superior e na região inferior, respectivamente. O TSNIT SD representa a quantidade de modulação da CFNR em todo o círculo e o Inter-Eye-Symmetry mostra o grau de similaridade do perfil da CFNR entre os olhos.

O NFI é baseado em uma rede neural artificial criada para diferenciar normal de glaucomatoso. O perfil da CFNR é analisado e fornece um número de 1 a 100 que representa a integridade da CFNR. Esse número é classificado de acordo com a distribuição normal da NFI a partir do banco de dados do aparelho. O NFI não é apresentado em um código de cores como os outros parâmetros, mas sim em uma escala absoluta (normal de 1 a 30, limítrofe de 31 a 50 e anormal > 50).

A PVL apresenta boa reprodutibilidade tanto para olhos normais quanto para glaucomatosos (98) e é capaz de diferenciar entre olhos normais e glaucomatosos com dano inicial e moderado, especialmente se avaliado pela combinação de dois ou mais parâmetros em uma análise discriminante.

3.2.4 Tomografia de Coerência Óptica (OCT)

Em decorrência da necessidade de avaliar e documentar a estrutura do disco óptico e da CFNR de forma mais detalhada, objetiva e reprodutível, houve nos últimos anos um grande avanço tecnológico com o desenvolvimento de instrumentos e softwares destinados a esse fim. Dentre estes instrumentos está o OCT, uma técnica de obtenção de imagem não-invasiva que usa um interferômetro com luz de baixa coerência, próxima da faixa de luz infravermelha (810 nm) gerada por uma fonte de Diodo, que realiza análise qualitativa e quantitativa da retina, sendo um método útil para avaliação da CFNR.

Simplificadamente, a interferometria utiliza a informação advinda da medida das chamadas franjas de interferência para determinações precisas de distâncias ou espessuras muito pequenas. Estas franjas são faixas claras e escuras causadas pela interferência produzida por dois feixes de luz coerentes. Ondas coerentes são aquelas cuja relação entre as fases não varia com o tempo. A existência de coerência é um requisito necessário para que duas ondas possam apresentar interferência. O interferômetro apresenta um divisor de feixes (beam splitter) que divide o feixe de luz em um feixe de referência e um feixe de varredura. O primeiro é direcionado a um espelho de referência móvel, ao passo que o último é direcionado para o olho. Ambos os feixes são refletidos de volta para um detector. O padrão de interferência produzido pelos dois feixes refletidos fornece informação sobre a distância e a espessura das estruturas retinianas (99).

Deste modo, o OCT produz imagens bidimensionais de um corte coronal da retina onde se pode medir a espessura da CFNR, quantificada através de um algoritmo que identifica suas bordas anterior e posterior (100). Os dados são apresentados em quadrantes, em horas e na média global e calculados por um software existente no

próprio aparelho (100). Além da espessura da CFNR peripapilar, o OCT também é capaz de avaliar a espessura retiniana da região macular.

As tecnologias atuais de OCT, denominadas tomógrafos espectrais, usam a técnica de domínio *Spectral/Fourier* para aquisição de imagem, e permitem obter imagens com uma resolução axial de 2-3 μ m e redução no tempo de aquisição de imagem de até 60 vezes mais curto em relação a tecnologia anterior *time domain* (101). Isto aproxima a imagem da morfologia retiniana de cortes histológicos proporcionando melhor identificação das camadas retinianas e diminui os artefatos de movimentação dos olhos durante a aquisição da imagem, aumentando a reprodutibilidade. Na literatura há vários estudos que avaliam a perda neural de pacientes com glaucoma através da análise macular segmentando a espessura da CFNR e de CCG da região macular (102-104).

4 MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo coorte observacional prospectivo. O protocolo do estudo foi aprovado pela comissão de ética para análise de projetos de pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) e foi realizado sob os princípios da Declaração de Helsinki. O estudo recebeu auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) (Edital Universal, processo 443887/2014-4). O aluno recebeu bolsa da coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) e do CNPQ durante o estudo. O consentimento informado foi obtido de todos os participantes.

4.2 Amostra

4.2.1 Pacientes

Foram recrutados pacientes diabéticos apresentando RDP ou RDNP muito grave. Os pacientes foram provenientes do serviço ambulatorial de Retina do Departamento de Oftalmologia do HCFMUSP.

Exame oftalmológico completo, com medida da acuidade visual (AV) com melhor correção, avaliação de reflexos pupilares, biomicroscopia, tonometria de aplanção e fundoscopia, foi realizado em todos os indivíduos. A topografia do disco óptico e a CFNR peripapilar dos pacientes estudados foram analisadas através de Estereofotografia (EF) do disco óptico, Tomografia de Varredura a laser (TVL), Polarimetria de Varredura a laser (PVL) e Tomografia de coerência óptica (OCT),

exames esses que foram realizados antes de iniciar o tratamento com a PFC e 12 meses após.

4.2.1.1 Critérios de inclusão:

- a) Retinopatia diabética proliferativa ou não-proliferativa grave com indicação de PFC
- b) Acuidade visual corrigida de 20/200 ou melhor;
- c) PIO $\leq$ 21mmHg;
- d) Equivalente esférico do erro refracional menor que + ou - 5,00;
- e) Ambas as relações vertical e horizontal entre escavação e disco até 0,7;
- f) Assimetria de até 0,2 entre a escavação vertical e a horizontal;
- g) Ausência de opacidade dos meios (opacidades corneanas, catarata e hemorragia vítrea).

4.2.1.2 Critérios de exclusão

- a) Presença de glaucoma, PIO $>$ 21 mmHg ou história de uso de colírios hipotensores;
- b) Outras doenças retinianas (uveítes, oclusão de artéria ou veia retiniana, descolamentos de retina, doenças inflamatórias, vasculares e neoplásicas);
- c) Patologias de segmento anterior que pudessem alterar PIO (pseudoexfoliação, dispersão pigmentar);
- d) Presença de qualquer neuropatia óptica (palidez difusa ou localizada, afinamento focal da rima, drusas de NO e hemorragias de DO);
- e) Tratamento retinianos prévios como Fotocoagulação ou injeção intra-vítrea;
- f) Edema macular diabético (EMD);
- g) Neovascularização do disco óptico (NVD).

4.3 Fotocoagulação retiniana

O tratamento com PFC foi realizado com laser verde de tiros simples (sistema de laser Purepoint®, comprimento de onda de 532 nm, Alcon, Fort Worth, TX, EUA) utilizando uma lente Volk® Digital Wide Field. Todos os pacientes receberam pelo menos 1.600 queimaduras retinianas periféricas pela fotocoagulação e os parâmetros do laser utilizados foram: tamanho da mira de 250 μm , duração de pulso de 0,2 s/disparo e potência suficiente para causar queimaduras brancas acinzentadas seguindo as diretrizes do ETDRS modificado (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study). A PFC foi realizada em 3 sessões, cada sessão com 1 semana de intervalo. Os pacientes foram examinados após 6 semanas para avaliar o efeito do tratamento e a necessidade de outras sessões de laser complementares. Ao realizar o procedimento, foi respeitada a distância de 1 diâmetro de disco da margem do disco óptico. A figura 2 exemplifica o padrão da fotocoagulação aplicada no estudo e a distância respeitada entre as queimaduras e as margens do disco óptico.

Figura 2. Retinografia do pólo posterior, exemplificando o padrão de fotocoagulação a laser utilizado no estudo.

4.4 Estereofotografias (EFs) do disco óptico

Todas as estereofotografias foram obtidas com um retinógrafo da Zeiss (Carl Zeiss, Inc., Thornwood, NY) e foram centradas no disco óptico. Os diâmetros horizontal e vertical da relação E/D foram determinados para cada par de EF por um especialista experiente em glaucoma. Para garantir uma análise mascarada, todos os arquivos de imagem receberam um código numérico e foram randomizados, de tal forma que os exames pré e pós PFC dos pacientes ficassem distribuídos aleatoriamente em uma sequência de slides. Qualquer queimadura a laser observada na foto foi cortada para garantir que o especialista em glaucoma estivesse mascarado para o nome do paciente e também para o status do tratamento (anterior ou posterior à PFC). Um visualizador de estereofotografias foi usado para melhorar os detalhes e precisão da análise.

4.5 Tomografia de Varredura a laser (TVL)

O tomógrafo de varredura a laser utilizado no estudo foi o HRT III (Heidelberg Retina Tomograph, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha), utilizando parâmetros de varredura confocal. Uma visão de ângulo de 15 graus foi usada sob a mesma intensidade de luz ambiente fraca. Depois de gerar uma imagem topográfica média, as linhas de contorno foram desenhadas pelo mesmo técnico experiente. Exames com desvios padrão menores que 30 μm foram incluídos no estudo. O plano de referência foi automaticamente ajustado para o valor padrão de 50 μm abaixo da linha

de contorno no setor temporal da margem do disco, entre 350 ° e 356 °. A Figura 3 é um exemplo de uma impressão obtida de um olho usando HRT III, antes do tratamento com laser.

Os seguintes parâmetros topográficos calculados pelo hardware do tomógrafo foram avaliados no baseline e 12 meses após a conclusão da PFC: disc area (área do disco - mm²), cup area (área da escavação - mm²), rim area (área da rima - mm²), cup volume (volume da escavação - mm³), rim volume (volume da rima - mm³), C/D area ratio (relação entre a área da escavação e a área do disco), linear C/D ratio (relação linear entre o tamanho da escavação e do disco), mean cup depth (profundidade média da escavação - mm), maximum cup depth (profundidade máxima da escavação - mm), cup shape measure (medida do formato da escavação ou terceiro momento), height variation contour (variação na altura do contorno - mm), mean RNFL thickness (espessura média da CFNR - mm) e RNFL cross-sectional area (área transversal da CFNR -mm²). Essas variáveis foram utilizadas para a análise global topográfica.

Figura 3. Exemplo de uma impressão do HRT III de um olho estudado antes do tratamento com laser.

4.6 Polarimetria de Varredura a laser (PVL)

A CFNR peripapilar de todos os pacientes foi avaliada usando a PVL através do GDx com o modo compensador de córnea variável (VCC) (versão de software 5.5.1: Zeiss-Humphrey Systems, Dublin, Califórnia, EUA). Os detalhes completos sobre o GDx VCC foram descritos anteriormente em outro estudo (96).

Os parâmetros GDx VCC fornecidos na impressão padrão do instrumento e investigados no estudo foram média superior, média inferior, TSNIT (espessura da

CFNR medida sob o círculo de cálculo de 3,2 mm de diâmetro definido automaticamente: T, setor temporal; S, setor superior; N, setor nasal; I, setor inferior) média, desvio padrão TSNIT e o Indicador de Fibras Nervosas (NFI). O NFI é calculado usando um algoritmo de máquina de vetores de suporte com base em várias medidas de RNFL e atribui um número de 0 a 100 a cada olho. Segundo o fabricante, quanto maior o NFI, maior a probabilidade de o paciente apresentar glaucoma (104). A Figura 4 é um exemplo de uma impressão da análise de CFNR obtida de um olho de estudo usando o software GDx VCC.

Figura 4. Exemplo de uma impressão da análise da CFNR com o GDx VCC (compensador de cornea variável).

4.7 Tomografia de coerência óptica (OCT)

As medidas da espessura da CFNR também foram obtidas utilizando a tomografia de coerência óptica de domínio espectral, com o aparelho Spectralis (OCT-SD, versão de software 6.3.4; Heidelberg Engineering, Carlsbad, Califórnia, EUA). Detalhes de sua operação foram publicados em outros artigos (105-107). O protocolo de alta resolução foi utilizado e as imagens foram adquiridas por um único operador. Os sujeitos foram solicitados a olhar para o alvo de fixação interna e um exame com um diâmetro de círculo de 3,45 mm foi centrado em torno do disco óptico. Para ser incluída, as imagens tinham que ser centralizadas, com segmentação precisa, e tinham que ter uma intensidade de sinal > 15 dB. Usando o modo de acompanhamento, é possível usar a mesma posição do primeiro círculo de varredura em aquisições subsequentes, reduzindo a interferência do examinador para centralizar o disco óptico. Para este estudo, foram avaliados os seguintes parâmetros da CFNR, automaticamente disponíveis na avaliação realizada pelo software, conforme apresentado na figura 5: espessura global média da CFNR, nasal superior, temporal superior, temporal, temporal inferior, nasal inferior e nasal.

Figure 5. Exemplo do OCT de domínio spectral, Spectralis: exibe classificações de parâmetros de espessura da CFNR de acordo com comparações com valores da população normal do banco de dados do próprio aparelho.

4.8 Cálculo do tamanho amostral, análise dos dados e estatística

O cálculo do tamanho da amostra necessária para a realização do estudo foi realizado levando-se em conta a hipótese principal de nulidade H_0 da diferença entre as médias de espessura de CFNR e dos parâmetros topográficos do disco óptico mensurados pelos exames de imagem realizados, utilizando grupos de tamanhos iguais, nesse caso especificamente um grupo pareado (108). Assumindo erro alfa de 0,05 e diferença padronizada de 0,75 (razão entre menor diferença clinicamente importante entre as médias dos grupos pelo desvio padrão das observações) foi calculado um número de 28 olhos em cada grupo para fornecer um poder de 80% para detecção de uma diferença de 0,05 entre as médias dos dados aferidos da CFNR e DO. Optou-se por um recrutamento maior inicialmente assumindo a possibilidade de perdas no decorrer do estudo.

Os dados analisados na estatística descritiva foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, em detrimento do teste de Kolmogorov-Smirnov, dado maior poder nos estudos com n menor que 50 (109, 110). Posteriormente, foram comparados de forma pareada os dados dos exames antes do tratamento e 1 ano após a terapia com a fotocoagulação a laser. Se os valores apresentassem distribuição normal, o teste-t pareado seria aplicado, caso contrário o teste utilizado foi o teste dos postos sinalizados de Wilcoxon (*Wilcoxon signed ranks test*). O nível de significância estatística aceito foi de $P < 0,05$. Os cálculos foram feitos com auxílio do pacote estatístico SPSS (*Statistical package for social sciences*), versão 23.0.

5 RESULTADOS

Este estudo incluiu um total de 42 olhos de 30 pacientes. Quatro olhos de quatro pacientes foram excluídos durante as visitas de acompanhamento (um paciente desenvolveu membranas pré-retinianas causando descolamento tracional; outro olho desenvolveu hemorragia vítrea e ambos foram submetidos à vitrectomia via pars plana; dois olhos desenvolveram edema macular e foram tratados com injeções intravítreas de anti-VEGF). Trinta e oito olhos de 26 indivíduos (15 mulheres, 11 homens) completaram o seguimento de um ano. A média de idade foi de 53,7 anos, variando de 26 a 74 anos.

Inicialmente analisando os exames que avaliaram a topografia do disco óptico (EFs e TVL), foi observado:

- As Estereofotografias de discos mostraram uma relação E/D horizontal pré-tratamento média ($\pm$ desvio padrão) de $0,316 \pm 0,065$ e relação E/D horizontal pós-tratamento de $0,303 \pm 0,065$. A diferença entre estas médias ($-0,013$) não foi estatisticamente significativa ($P = 0,461$). Da mesma forma, a diferença entre a relação E/D vertical média nas avaliações pré-tratamento ($0,363$) e pós-tratamento ($0,366$) não foi estatisticamente significante ($P = 0,839$). Os dados estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1. Relação Escavação/disco óptico antes e 12 meses após a Panfotocoagulação pela estereofotografia (n=38)

	E/D Pre-tratamento	E/D Pós-tratamento	Diferença entre as E/D	P*
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	
Horizontal	0.316 ± 0.065	0.303 ± 0.065	-0.013 ± 0.026	0.461
Vertical	0.363 ± 0.064	0.366 ± 0.066	0.003 ± 0.028	0.839

E/D= Relação Escavação/disco óptico; DP= desvio-padrão;

* teste dos postos sinalizados de Wilcoxon

- Os valores globais dos parâmetros do DO obtidos a partir da TVL através do aparelho HRT3 são apresentados na Tabela 2. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros basais e os de 12 meses após a terapia instituída. A área da escavação (cup area) apresentou um aumento não significativo ($P = 0,510$) do baseline ($0,366 \pm 0,216$) para 12 meses ($0,376 \pm 0,239$). Da mesma forma, houve um aumento nos valores médios da profundidade máxima da escavação (maximum cup depth) desde o início ($0,600 \pm 0,244$) até a consulta aos 12 meses ($0,636 \pm 0,232$), sem significância estatística ($P = 0,135$). Além disso, os parâmetros da área da rima (rim area) apresentaram valores menores na avaliação de 12 meses ($1,638 \pm 0,349$) do que no exame inicial ($1,649 \pm 0,339$), sem significância estatística ($P = 0,451$). A relação entre área da escavação e a área do disco (cup area and disc area) também mostrou aumento não significativo entre os exames, de $0,178 \pm 0,098$ para $0,183 \pm 0,108$, com valor de P de $0,477$ (Tabela 2).

TABELA 2. Comparação dos parâmetros do HRT antes e 12 meses após a panfotocoagulação (n=38)

HRT - parâmetros	Pré-tratamento		Pós-tratamento		P*
	Média $\pm$ DP	Limites	Média $\pm$ DP	Limites	
DA	2.014 ± 0.387	1.30 – 2.75	2.014 ± 0.387	1.30 – 2.75	0.932
CA	0.366 ± 0.216	0 – 0.82	0.376 ± 0.239	0.01 – 0.82	0.510
RA	1.649 ± 0.339	1.15 – 2.36	1.638 ± 0.349	1.06 – 2.45	0.451
CV	0.084 ± 0.072	0.01 – 0.30	0.093 ± 0.080	0.01 – 0.35	0.059
RV	0.458 ± 0.145	0.25 – 0.90	0.458 ± 0.142	0.22 – 0.98	0.813
C/D area	0.178 ± 0.098	0 – 0.34	0.183 ± 0.108	0 – 0.44	0.477
LinCD	0.396 ± 0.144	0.02 – 0.58	0.401 ± 0.149	0.06 – 0.66	0.394
MCD	0.197 ± 0.092	0.04 – 0.36	0.188 ± 0.111	0.01 – 0.37	0.488
MxCD	0.600 ± 0.244	0.15 – 1.18	0.636 ± 0.232	0.18 – 1.01	0.135
CSM	-0.227 ± 0.085	-0.45 to -0.09	-0.220 ± 0.076	-0.46 to -0.04	0.875
HVC	0.413 ± 0.098	0.24 – 0.64	0.419 ± 0.082	0.23 – 0.60	0.360
MRNFLT	0.251 ± 0.070	0.07 – 0.42	0.251 ± 0.076	0.13 – 0.45	0.976
RNFLcsA	1.258 ± 0.368	0.35 – 1.90	1.256 ± 0.383	0.67 – 2.15	0.954

DP Desvio-padrão, DA disc area, CA cup area, RA rim area, CV cup volume, RV rim volume, C/D cup/disc, LinCD linear C/D ratio, MCD mean cup depth, MxCD maximum cup depth, CSM cup shape measure, HVC, Height variation contour, MRNFLT mean retinal nerve fiber layer thickness, RNFLcsA RNFL cross-sectional area.

* teste dos postos sinalizados de Wilcoxon

Paralelamente, estudando os exames diagnósticos que avaliam a CFNR peripapilar (PVL e o OCT), foram encontrados os seguintes resultados:

- Na PVL, não foi encontrada diferença significativa entre todos os parâmetros de espessura da CFNR do software GDx VCC ($P = 0,952$, $0,464$ e $0,541$ para a média temporal-superior-nasal-inferior-temporal (TSNIT), média superior e inferior, respectivamente). O indicador de fibra nervosa (NFI) aumentou de $26,9 \pm 10,1$ para $28,4 \pm 10,5$, mas não significativamente ($P = 0,354$). Os dados estão resumidos na Tabela 3.

TABELA 3. Comparação entre os parâmetros do GDx VCC antes e 12 meses após a Panfotocoagulação retiniana (n=38)

GDx – Parâmetros	Pré-tratamento		Pós-tratamento		P*
	Média $\pm$ DP	Limites	Média $\pm$ DP	Limites	
TSNIT	$47,9 \pm 5,7$	46,0 – 49,7	$47,7 \pm 4,9$	46,0 – 49,3	0,952
Superior	$59,5 \pm 8,5$	56,7 – 62,3	$58,8 \pm 7,4$	56,3 – 61,2	0,464
Inferior	$58,4 \pm 9,3$	55,3 – 61,4	$58,9 \pm 8,8$	56,0 – 61,8	0,541
TSNIT DP	$22,4 \pm 3,8$	21,2 – 23,7	$22,4 \pm 4,0$	21,1 – 23,8	0,743
NFI	$26,9 \pm 10,1$	23,5 – 30,2	$28,4 \pm 10,5$	25,0 – 31,9	0,354

DP= desvio-padrão, TSNIT = temporal-superior-nasal-inferior-temporal; NFI = Indicador de fibra nervosa.

* Teste dos postos sinalizados de Wilcoxon

- Os resultados da OCT obtidos são apresentados na Tabela 4. A espessura média da CFNR (medida em 360°) diminuiu não significativamente de 97,2 mm para 96,0 mm em 1 ano pós-PFC ($P = 0,469$). Quando todos os setores peripapilares foram analisados separadamente (nasal superior, temporal superior, temporal, temporal inferior, nasal inferior e nasal), também foi encontrada redução na espessura da CFNR, mas não atingiu significância estatística ($P = 0,410$, $0,413$, $0,565$, $0,168$, $0,931$ e $0,121$, respectivamente).

TABELA 4. Média da espessura da CFNR medida pelo OCT spectral domain antes e 12 meses após a panfotocoagulação (n=38)

Setores - CFNR	Pré-tratamento	Pós-tratamento	P*
	Média ± DP	Média ± DP	
Global	97.2 ± 13.4	96.0 ± 12.3	0.469
Nasal Superior	106.9 ± 23.2	105.0 ± 19.8	0.410
Temporal Superior	133.3 ± 20.6	132.0 ± 18.9	0.413
Temporal	75.4 ± 12.6	74.3 ± 12.6	0.565
Temporal Inferior	140.1 ± 24.1	139.0 ± 22.9	0.168
Nasal Inferior	108.0 ± 26.8	104.2 ± 21.7	0.931
Nasal	70.0 ± 12.8	68.9 ± 15.3	0.121

CFNR= camada de fibras nervosas da retina; OCT= Tomografia de coerência óptica; DP= desvio-padrão.

* Teste dos postos sinalizados de Wilcoxon

6 DISCUSSÃO

A PFC diminui o risco de perda visual grave em pacientes com RDP e, apesar da evidência de eficácia de drogas antiangiogênicas, ainda é o padrão de tratamento para o manejo da doença proliferativa, segundo o “*American Academy of Ophthalmology’s Preferred Practice Pattern for Diabetic Retinopathy*” (111), que é baseado nos estudos “*Diabetic Retinopathy Study*” e ETDRS (2, 62), ambos apresentando nível 1 de evidência. Embora a maioria das complicações visuais em pacientes com RDP esteja relacionada a danos vasculares retinianos ou opacidade de meios, não é incomum que os pacientes tenham perda visual associada ao glaucoma, seja por conta de doença não relacionada ao diabetes ou por outras modalidades de tratamento, como a injeção de corticosteróide intravítreo. Portanto, enquanto a relação causal entre diabetes mellitus e glaucoma de ângulo aberto em muitos casos permanece obscura (3), o diagnóstico de glaucoma de ângulo aberto crônico em pacientes com RDP pode ser desafiador, particularmente quando submetidos a PFC, pois esse tipo de tratamento pode produzir alterações de campo visual que podem mimetizar a perda de campo glaucomatosa.

Mesmo nos casos sem retinopatia diabética, o diabetes pode causar alterações na CFNR. Recentemente, exames de imagem disponíveis que medem a espessura da CFNR mostraram que pacientes diabéticos sem retinopatia à fundoscopia e aqueles com retinopatia diabética não-proliferativa (RDNP) apresentam CFNR mais fina em comparação com indivíduos saudáveis (8-10, 112). Esse achado pode ser explicado pela morte das células ganglionares da retina, que ocorre precocemente em olhos diabéticos devido ao aumento de fatores promotores de apoptose (113).

A atrofia óptica ascendente pode assumir várias formas características que podem ser distinguidas tanto histopatologicamente quanto oftalmoscopicamente. Ocorre quando uma lesão primária envolve a retina ou o nervo óptico, produzindo um

processo atrófico que segue em direção ao cérebro. Em modelos experimentais (5), o aspecto distal de um axônio danificado mostrou sinais de degeneração de 2 a 4 semanas após a lesão. O padrão de atrofia e escavação da cabeça do nervo óptico associado a dano glaucomatoso apresenta perda das fibras axonais das células ganglionares anteriores à lâmina crivosa e dá origem a uma relação E/D aumentada (114). Em geral, esse padrão característico de escavação de disco glaucomatoso é visto em associação com pressão intraocular elevada (5), mas também foi relatado em várias outras condições (6).

No paciente diabético, alguns estudos analisaram o aspecto do DO comparando com indivíduos normais e encontraram resultados divergentes. Amano e col. (115) detectaram a presença de DO com aparência anormal em pacientes diabéticos e propuseram que produtos finais de glicação pudessem danificar diretamente o nervo óptico. No entanto, Königsreuther e col. (116) analisaram a aparência do disco óptico em pacientes diabéticos e não diabéticos usando fotografias coloridas e não encontraram diferença entre esses grupos de indivíduos. Resultados semelhantes foram obtidos por Tekeli e col. (117) e Lim e col. (15) com diferentes modalidades de exames de imagem.

Em pacientes diabéticos submetidos à PFC, o laser poderia danificar os fotorreceptores, que afetariam secundariamente as células ganglionares, possivelmente produzindo aumento da escavação do disco óptico pela atrofia óptica ascendente explicada anteriormente. Portanto, o tratamento com laser poderia induzir potencialmente atrofia óptica ascendente e simular os achados glaucomatosos. O intervalo de 1 ano entre as EFs em nosso estudo foi escolhido porque seria tempo suficiente para permitir a ocorrência de uma possível atrofia. Por outro lado, um intervalo ainda mais longo potencialmente introduziria viés de mudanças topográficas

relacionadas ao próprio envelhecimento do indivíduo, o que poderia interferir na interpretação da relação E/D.

Revisando os possíveis efeitos da PFC sobre o DO e a CFNR, encontram-se resultados conflitantes na literatura. Alguns estudos transversais indicam que a PFC pode causar alterações morfológicas no DO, como por exemplo os achados de Lim e cols. (15), que compararam olhos diabéticos submetidos ou não à PFC usando OCT. Os DOs em olhos tratados com PFC tinham maior probabilidade de serem classificados como anormais, mas os autores não realizaram comparações longitudinais e, portanto, a gravidade da doença não pode ser descartada como um fator causal. Cankaya e col. (4) encontraram resultados semelhantes usando a tecnologia da TVL.

No nosso estudo, longitudinal e prospectivo, não conseguimos identificar as alterações topográficas do DO na análise da TVL nem na análise estereoscópica após um ano de acompanhamento dos pacientes submetidos a PFC para a RDP. No entanto, outros estudos prospectivos longitudinais que comparam os aspectos pré e pós PFC do DO já foram realizados com resultados conflitantes. Usando EFs, Johns e cols. (5) observaram que a relação E/D não apresentou mudança significativa 1 ano após o laser, mas os autores relataram aumento da palidez do disco óptico no período do estudo. Por outro lado, Singh e col. (16) encontraram mudanças significativas nos parâmetros da TVL 6 meses após o tratamento com PFC. Os resultados do nosso estudo estão em conflito com este último trabalho, uma vez que utilizamos a mesma tecnologia para analisar as alterações morfológicas do DO. Uma hipótese para explicar esses achados inconsistentes é que diferentes formas e padrões para a realização do laser podem alterar a quantidade de atrofia óptica ascendente observada. Enquanto em nosso estudo um tamanho da mira/spot de 250 μm foi usado, Singh e col. usaram um tamanho da mira/spot de 300 μm ., o que pode estar relacionado a maior dano retiniano interno e,

portanto, mais atrofia óptica ascendente. Essa teoria é confirmada pelos achados de Lee e col. (118) que sugerem que o sistema de fotocoagulação PASCAL, uma nova forma de tratamento multispot com laser para retinopatia diabética, pode não causar alterações na morfologia do disco óptico devido à sua duração de pulso mais curta (e consequente restringir danos à retina externa) quando comparado à PFC convencional de tiros simples.

De forma semelhante, no nosso estudo duas tecnologias diferentes, a PVL e o OCT-SD, foram usadas para medir a espessura peripapilar da CFNR e os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa em ambos os métodos um ano após a PFC convencional comparativamente com os exames realizados antes do início do tratamento. Contudo, alguns estudos mostraram evidências conflitantes sobre o efeito do PFC na CFNR peripapilar. Ritenour e cols. (14) verificaram que a espessura da CFNR aumentou até 6 meses após o laser em seu estudo utilizando GDx para polarimetria de varredura a laser, e Lim e col. (15) relataram que o grupo submetido a PFC apresentou espessura da CFNR mais fina que o grupo que não foi submetido a esse tratamento, porém esse último estudo foi transversal e recrutou pacientes submetidos a PFC a pelo menos 3 meses do início do estudo, ou seja, analisou conjuntamente indivíduos com tempo variados desde a exposição ao tratamento com o laser. Por outro lado, Kim e Cho (13) documentaram que a diminuição na espessura da CFNR de um grupo submetido à PFC não foi estatisticamente significativa em comparação com o grupo controle. Lee e col.(119) realizaram um dos poucos estudos prospectivos sobre o assunto usando OCT, mas na época a tecnologia utilizada foi o *time domain*. Os autores concluíram que a espessura da CFNR tende a aumentar nos primeiros 6 meses após o PRP por edema ou bloqueio

do fluxo axoplasmático e depois diminui aos 24 meses após a PFC em comparação com a espessura da CFNR peripapilar basal em pacientes com retinopatia diabética.

Apesar da TVL e a PVL, representadas pelo HRT III e pelo GDx respectivamente, serem consideradas tecnologias ultrapassadas atualmente e não serem mais comercializados, estes são exames disponíveis no centro onde foi realizado o estudo e que corroboram aos resultados encontrados tanto com a análise da EFs quanto do OCT.

Injeções intravítreas de anti-VEGF popularizaram-se como opção terapêutica para pacientes com RDP após a publicação do Protocolo S (17). Jampol e col. (120) compararam o efeito da PFC e do Ranibizumabe na CFNR peripapilar e encontraram, ao final de dois anos, que olhos tratados com ranibizumabe apresentaram menor espessura da CFNR do que olhos tratados com panfotocoagulação retiniana. No entanto, os pacientes com EMD e RDP simultaneamente foram incluídos neste estudo, de modo que as correlações entre as alterações na espessura da CFNR peripapilar e a espessura foveal central, sugerem que a diminuição da espessura da CFNR com o ranibizumabe seja provavelmente secundária à diminuição do edema intra-retiniano ao invés da perda de axônios. Expondo os demais resultados do protocolo S (17), foi observado que o anti-VEGF foi não inferior quanto ao ganho visual, e apresentou menor perda campimétrica e menor necessidade de vitrectomia e hemorragia vítrea nos pacientes com RDP tratados com essa estratégia ao final de 2 anos, comparando com o grupo tratado com PFC. Contudo a PFC se apresentou como a estratégia mais econômica e que exigiu menor número de retornos ou visitas médicas pelos pacientes, sugerindo se tratar da opção mais viável em termos de saúde pública considerando-se o custo-efetividade do tratamento. Além disso, se a PFC for realizada sob os moldes

sugeridos por esse estudo, seguindo as recomendações do ETDRS (62), observamos não trazer prejuízos na avaliação do DO assim como da CFNR a longo prazo.

Uma limitação do nosso estudo é o tamanho da amostra relativamente pequeno. O número de pacientes recrutados é semelhante a outros estudos intervencionistas prospectivos (5). Além disso, adotamos critérios de inclusão rígidos que excluíram pacientes com neovascularização do disco óptico e/ou EMD basal. A presença de NVD não permite uma análise adequada da anatomia do disco óptico e região peripapilar pela TVL, PVL e OCT, porque o tecido fibrovascular pode obscurecer o contorno do disco óptico e prejudicar a medição da espessura da CFNR. Além disso, o EMD está frequentemente presente quando a RDP é detectada em pacientes diabéticos, e muitas vezes requer tratamento adicional com injeções intravítreas de anti-VEGF, o que poderia de alguma forma interferir com os parâmetros analisados em nosso estudo. A fim de permitir a documentação adequada da CFNR e evitar o viés de injeções de anti-VEGF, apenas os casos de RDP sem neovascularização de disco e sem edema macular foram elegíveis para este estudo particular. Sabemos, pelo *Diabetic Retinopathy Study* (DRS), que apenas 40% dos casos de RDP não apresentam neovascularização do disco (2). O protocolo S (17) relatou que cerca de 22% dos participantes com RDP tinham EMD no início do estudo. Portanto, percebe-se inclusive com dados de outros grandes estudos a dificuldade em selecionar criteriosamente esses pacientes para proporcionar uma análise do DO e da CFNR com maior precisão, o que justifica a necessidade da utilização de uma faixa etária ampla para que fosse obtido o número amostral necessário para o estudo obter seu poder planejado.

Um fator relevante considerado pelos autores na análise é a quantidade de pacientes com escavações pequenas (menor que 0,4 de diâmetro de disco) que foram recrutados, o que pode ter facilitado a obtenção do resultado evidenciado no estudo.

Na prática clínica, é comum ver muitos pacientes que foram tratados com PFC no passado com atrofia grave do disco óptico, detectada vários anos após o tratamento. No entanto, esse dano pode ser atribuído à maior intensidade dos tratamentos a laser utilizados no passado. Em contraste, os dados do nosso estudo mostram que após a realização de fotocoagulação com poder de intensidade moderada, a PFC não causou mudanças significativas na morfologia do DO e da CFNR peripapilares de pacientes com RDP após 1 ano de acompanhamento.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo possibilitam concluir que 1 ano após tratamento com panfotocoagulação em pacientes diabéticos sem neuropatia glaucomatosa, temos que:

- a) O aspecto da escavação do disco óptico não sofreu modificações ao ser realizada a panfotocoagulação retiniana quando observado através das EFs.
- b) A topografia do disco óptico não sofre alterações quando analisada através de estereofotografias do disco óptico e/ou da TVL.
- c) Não são observadas mudanças significativas na espessura da CFNR peripapilar utilizando a tecnologia da PVL através do GDx VCC.
- d) A CFNR peripapilar não se altera significativamente na análise realizada pelo SD-OCT, tanto no valor médio quanto nos setores analisados isoladamente;

Pode-se concluir então que, ao ser realizada a panfotocoagulação retiniana com moderada intensidade e respeitando os limites da margem do disco óptico, não foram observadas alterações estatisticamente significantes na aparência e topografia do disco óptico, assim como na espessura da camada de fibras nervosas peripapilares, no intervalo de 12 meses.

8 ANEXOS

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: AVALIAÇÃO TOPOGRÁFICA E ESTEREOFOTOGRAFIA DO NERVO ÓPTICO EM PACIENTES COM RETINOPATIA DIABÉTICA SUBMETIDOS A PANFOTOCOAGULAÇÃO A LASER
Pesquisador Responsável: DR. LEANDRO CABRAL ZACHARIAS **Versão:** 1
Pesquisador Executante: RAFAEL BARBOSA DE ARAÚJO **CAAE:** 33867614.0.0000.0068
Co-autores: Breno Marques da Silva Azevedo
Instituição: HCFMUSP
Departamento: OFTALMOLOGIA E OTORRINOLARINGOLOGIA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 12423
Número do Parecer: 741.731
Data da Relatoria: 06/08/2014
Apresentação do Projeto: Estudo clínico prospectivo para avaliar as alterações no disco óptico relacionadas à realização de panfotocoagulação a laser de argônio.
Objetivo da Pesquisa: O objetivo do projeto é avaliar as alterações no disco óptico relacionadas à realização de panfotocoagulação a laser de argônio que possam ser mensuradas com análise topográfica com tomografia de coerência óptica (OCT), tomografia de varredura a laser (HRT) e polarimetria de varredura a laser (GDx) e análise fotográfica com estereofotografias seriadas (EF).
Avaliação dos Riscos e Benefícios: Risco baixo
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: O estudo está bem desenhado e o tema é pertinente O TCLE está claro.
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Nenhuma.
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Sem pendências
Situação do Parecer: Aprovado
Necessita Apreciação da CONEP: Não
Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

São Paulo, 12 de Agosto de 2014

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

9 REFERÊNCIAS

1. Klein R, Knudtson MD, Lee KE, Gangnon R, Klein BE. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy XXIII: the twenty-five-year incidence of macular edema in persons with type 1 diabetes. *Ophthalmology*. 2009;116(3):497-503.
2. Photocoagulation treatment of proliferative diabetic retinopathy. Clinical application of Diabetic Retinopathy Study (DRS) findings, DRS Report Number 8. The Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology*. 1981;88(7):583-600.
3. Chopra V, Varma R, Francis BA, et al. Type 2 diabetes mellitus and the risk of open-angle glaucoma. The Los Angeles Latino Eye Study Los Angeles Latino Eye Study Group. *Ophthalmology*. 2008;115:227-232.
4. Cankaya AB, Ozdamar Y, Ozalp S, et al. Impact of panretinal photocoagulation on optic nerve head parameters. *Ophthalmologica*. 2011;225:193-199
5. Johns KJ, Leonard-Martin T, Feman SS. The effect of panretinal photocoagulation on optic nerve cupping. *Ophthalmology*. 1989;96(2):211-6.
6. Zhang YX, Huang HB, Wei SH. Clinical characteristics of nonglaucomatous optic disc cupping. *Exp Ther Med*. 2014;7(4):995-9.
7. Abu El-Asrar AM, Nawaz MI, Mohammad G, Siddiquei MM, Alam K, Mousa A, et al. Expression of bioactive lysophospholipids and processing enzymes in the vitreous from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Lipids Health Dis*. 2014;13:187.
8. Peng PH, Lin HS, Lin S. Nerve fibre layer thinning in patients with preclinical retinopathy. *Can J Ophthalmol*. 2009;44(4):417-22.
9. Sugimoto M, Sasoh M, Ido M, Wakitani Y, Takahashi C, Uji Y. Detection of early diabetic change with optical coherence tomography in type 2 diabetes mellitus patients without retinopathy. *Ophthalmologica*. 2005;219(6):379-85.
10. Takahashi H, Goto T, Shoji T, Tanito M, Park M, Chihara E. Diabetes-associated retinal nerve fiber damage evaluated with scanning laser polarimetry. *Am J Ophthalmol*. 2006;142(1):88-94.
11. Grewal DS, Tanna AP. Diagnosis of glaucoma and detection of glaucoma progression using spectral domain optical coherence tomography. *Curr Opin Ophthalmol* 2013;24:150-161.
12. Miki A, Medeiros FA, Weinreb RN, et al. Rates of retinal nerve fiber layer thinning in glaucoma suspect eyes. *Ophthalmology* 2014;121:1350-1358.
13. Kim HY, Cho HK. Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness change after panretinal photocoagulation in patients with diabetic retinopathy. *Korean J Ophthalmol* 2009; 23:23-6. 13.
14. Ritenour RJ, Kozousek V, Chauhan BC. The effect of panretinal photocoagulation for diabetic retinopathy on retinal nerve fiber layer thickness and optic disc topography. *Br J Ophthalmol*. 2009;93:838-839. 17.

-
15. Lim MC, Tanimoto SA, Furlani BA, Lum B, Pinto LM, Eliason D, et al. Effect of diabetic retinopathy and panretinal photocoagulation on retinal nerve fiber layer and optic nerve appearance. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(7):857-62.
 16. Singh H, Garg S, Sharma R, Venkatesh P, Saxena R, Dada T. Evaluation of the effect of panretinal photocoagulation on optic nerve head parameters using HRT3. *J Glaucoma*. 2014;23(7):467-70.
 17. Gross JG, Glassman AR, Jampol LM, et al; Writing Committee for the Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. Panretinal photocoagulation vs intravitreal ranibizumab for proliferative diabetic retinopathy: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2015; 314(20): 2137-2146.
 18. DeFronzo RA, Ferrannini E, Zimmet P, et al. International Textbook of Diabetes Mellitus, 2 Volume Set, 4th Edition. Wiley-Blackwell, 2015.
 19. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 8th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2017.
 20. Holman N, Young B, Gadsby R. Current prevalence of Type 1 and Type 2 diabetes in adults and children in the UK. *Diabet Med J Br Diabet Assoc* 2015; 32: 1119–20.
 21. International Diabetes Federation and The Fred Hollows Foundation. Diabetes Eye Health: A Guide for Healthcare Professionals. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2015.
 22. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2012; 35: 556–64.
 23. Congdon NG, Friedman DS, Lietman T. Important causes of visual impairment in the world today. *JAMA* 2003; 290: 2057–60.
 24. Brown JB, Pedula KL, Summers KH. Diabetic retinopathy: contemporary prevalence in a well-controlled population. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Sep [cited 2014 Jan 30];26(9):2637–42.).
 25. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977–86.
 26. King P, Peacock I, Donnelly R. The UK Prospective Diabetes Study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 48: 643–8
 27. Bhagat N, Grigorian RA, Tutela A, Zarbin MA. Diabetic macular edema: pathogenesis and treatment. *Surv Ophthalmol* [Internet]. Jan [cited 2014 Jan 30];54(1):1–32.
 28. Goh S-Y, Cooper ME. Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Apr [cited 2014 Jan 27];93(4):1143–52.
 29. Pinach S, Burt D, Berrone E, Barutta F, Bruno G, Porta M, et al. Retinal

heat shock protein 25 in early experimental diabetes. *Acta Diabetol* [Internet]. 2013 Aug [cited 2014 Jan 30];50(4):579–85.

30. Ghanem AA, Elewa A, Arafa LF. Pentosidine and N-carboxymethyl-lysine: biomarkers for type 2 diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol* [Internet]. Jan [cited 2014 Jan 30];21(1):48–54.

31. Zong H, Ward M, Stitt AW. AGEs, RAGE, and diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep* [Internet]. 2011 Aug [cited 2014 Jan 30];11(4):244–52.

32. Geraldles P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res* [Internet]. 2010 Apr 30 [cited 2014 Jan 30];106(8):1319–31.

33. Coral K, Angayarkanni N, Gomathy N, Bharathselvi M, Pukhraj R, Rupak R. Homocysteine levels in the vitreous of proliferative diabetic retinopathy and rhegmatogenous retinal detachment: its modulating role on lysyl oxidase. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2009 Aug [cited 2014 Jan 30];50(8):3607–12.

34. Madsen-Bouterse SA, Kowluru RA. Oxidative stress and diabetic retinopathy: pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Rev Endocr Metab Disord* [Internet]. 2008 Dec [cited 2014 Jan 30];9(4):315–27.

35. Zhang X, Bao S, Hambly BD, Gillies MC. Vascular endothelial growth factor-A: a multifunctional molecular player in diabetic retinopathy. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2009 Dec [cited 2014 Jan 30];41(12):2368–71.

36. Aiello LP, Bursell SE, Clermont A, Duh E, Ishii H, Takagi C, et al. Vascular endothelial growth factor-induced retinal permeability is mediated by protein kinase C in vivo and suppressed by an orally effective betaisoform-selective inhibitor. *Diabetes* [Internet]. 1997 Sep [cited 2014 Jan 30];46(9):1473–80.

37. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* [Internet]. 1994 Dec 1 [cited 2014 Jan 30];331(22):1480–7.

38. Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA, Takagi H, Iwamoto MA. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 1995 Dec [cited 2014 Jan 30];113(12):1538–44.

39. Stanford MR. The pathogenesis of diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol*. 2004;88(4):444–5.

40. Clermont AC, Aiello LP, Mori F, Aiello LM, Bursell SE. Vascular endothelial growth factor and severity of nonproliferative diabetic retinopathy mediate retinal hemodynamics in vivo: a potential role for vascular endothelial growth factor in the progression of nonproliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 1997;124(4):433–46.

41. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med* [Internet]. 2012 Mar 29 [cited 2014 Jan 30];366(13):1227–39.

-
42. Bearse MA, Han Y, Schneck ME, Barez S, Jacobsen C, Adams AJ. Local multifocal oscillatory potential abnormalities in diabetes and early diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2004 Sep [cited 2014 Jan 30];45(9):3259–65.
 43. Han Y, Adams AJ, Bearse MA, Schneck ME. Multifocal electroretinogram and short-wavelength automated perimetry measures in diabetic eyes with little or no retinopathy. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 2004 Dec [cited 2014 Jan 30];122(12):1809–15.
 44. Aiello LP, Davis MD, Girach A, Kles KA, Milton RC, Sheetz MJ, et al. Effect of ruboxistaurin on visual loss in patients with diabetic retinopathy. *Ophthalmology* [Internet]. 2006 Dec [cited 2014 Jan 30];113(12):2221–30.
 45. VanGuilder HD, Brucklacher RM, Patel K, Ellis RW, Freeman WM, Barber AJ. Diabetes downregulates presynaptic proteins and reduces basal synapsin I phosphorylation in rat retina. *Eur J Neurosci* [Internet]. 2008 Jul [cited 2014 Jan 30];28(1):1–11.
 46. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report n° 12. *Ophthalmology*. 1991;98:823-33.
 47. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. ETDRS report number 7. *Ophthalmology*. 1991;98(5 Suppl):741-56.
 48. Mizutani M, Kern TS, Lorenzi M. Accelerated death of retinal microvascular cells in human and experimental diabetic retinopathy. *J Clin Invest*. 1996;97(12):2883-90.
 49. Fong DS, Aiello LP, Ferris FL 3rd, Klein R. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2004;27(10):2540-53.
 50. Alder VA, Su EN, Yu DY, Cringle SJ, Yu PK. Diabetic retinopathy: early functional changes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1997;24(9- 10):785-8.
 51. Gundogan FC, Yolcu U, Akay F, Ilhan A, Ozge G, Uzun S. Diabetic Macular Edema. *Pak J Med Sci*. 2016;32:505–510
 52. Treatment techniques and clinical guidelines for photocoagulation of diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report Number 2. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology*. 1987;94(7):761–774
 53. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. XV. The long-term incidence of macular edema. *Ophthalmology*. 1995;102(1):7-16.
 54. Moss SE, Klein R, Klein BE. Ten-year incidence of visual loss in a diabetic population. *Ophthalmology*. 1994;101(6):1061-70.
 55. Moss SE, Klein R, Klein BE. The 14-year incidence of visual loss in a diabetic population. *Ophthalmology*. 1998;105(6):998-1003.

-
56. Maia Junior OO, Takahashi WY, Bonanomi MT, Marback RF, Kara-Jose N. Visual stability in diabetic retinopathy treated by panretinal laser photocoagulation. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007;51(4):575-80.
57. Nehemy MB. Retinopatia diabética. Revisão temática. *Arq Bras Oftalmol.* 1998;61:366-70.
58. Sinclair SH, Delvecchio C. The internist's role in managing diabetic retinopathy: screening for early detection. *Cleve Clin J Med.* 2004;71(2):151-9.
59. Maia Junior OO, Marback RF, Bonanomi MT, Takahashi WY, Kara-Jose N. Delay in ophthalmologic examination of diabetic retinopathypatients. *Rev Assoc Med Bras.* 2007;53(1):39-43.
60. Fong DS, Ferris FL 3rd, Davis MD, Chew EY. Causes of severe visual loss in the early treatment diabetic retinopathy study: ETDRS report no. 24. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Am J Ophthalmol.* 1999;127(2):137-41.
61. Garcia JM, Lima TT, Louzada RN, Rassi AT, Isaac DL, Avila M, et al. Diabetic macular ischemia diagnosis: Comparison between optical coherence tomography angiography and fluorescein angiography. *J Ophthalmol* 2016. 2016:3989310
62. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1991;98(5 Suppl):766-85.
63. Aiello LP, Avery RL, Arrig PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med.* 1994;331:1480-7.
64. Avard C, Guyot-Argeton C, Assouline M, Marie-Lescure C, Pouliquen YJM. Full panretinal photocoagulation and early vitrectomy improve prognosis of floid diabetic retinopathy. *Ophthamology.* 1996;103:561-74
65. Henricsson M, Heijl A. The effect of panretinal photocoagulation on visual acuity, visual fields and on subjective visual impairment in preproliferative and early proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1994;72(5):570-5.
66. Mäntyjärvi M. Colour vision and dark adaptation in diabetic patients after photocoagulation. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1989;67(2):113-8.
67. Pender PM, Benson WE, Compton H, Cox GB. The effects of panretinal photocoagulation on dark adaptation in diabetics with proliferative retinopathy. *Ophthalmology.* 1981;88(7):635-8.
68. Perlman I, Gdal-On M, Miller B, Zonis S. Retinal function of the diabetic retina after argon laser photocoagulation assessed electroretinographically. *Br J Ophthalmol.* 1985;69(4):240-6.

69. Khosla PK, Rao V, Tewari HK, Kumar A. Contrast sensitivity in diabetic retinopathy after panretinal photocoagulation. *Ophthalmic Surg.* 1994;25(8):516-20.
70. McDonald HR, Schartz H. Macular edema following panretinal photocoagulation. *Retina.* 1985;5:5-10.
71. Er H, Doganay S, Turkoz Y, Cekmen M, Daglioglu MC, Gunduz A, Evereklioglu C, Isci N. The levels of cytokines and nitric oxide in rabbit vitreous humor after retinal laser photocoagulation. *Ophthalmic Surg Lasers.* 2000;31(6):479-83.
72. Nonaka A, Kiryu J, Tsujikawa A, Yamashiro K, Nishijima K, Kamizuru H, Ieki Y, Miyamoto K, Nishiwaki H, Honda Y, Ogura Y. Inflammatory response after scatter laser photocoagulation in nonphotocoagulated retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(4):1204-9.
73. Elman MJ, Aiello LP, Beck RW, et al.; Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2010;117:1064–1077.e35
74. Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U, et al.; RESTORE Study Group. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2011;118:615–625
75. Elman MJ, Bressler NM, Qin H, et al.; Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. Expanded 2-year follow-up of ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2011;118:609–614
76. Solomon SD, Chew E, Duh EJ, et al. Diabetic retinopathy: a position statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2017;40:412–418
77. Nguyen QD, Brown DM, Marcus DM, et al.; RISE and RIDE Research Group. Ranibizumab for diabetic macular edema: results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology* 2012;119:789–801
78. Nauck M, Roth M, Tamm M, Eickelberg O, Wieland H, Stulz P, et al. Induction of vascular endothelial growth factor by platelet-activating factor and platelet-derived growth factor is downregulated by corticosteroids. *Am J Respir Cell Mol Biol* [Internet]. 1997 Apr [cited 2014 Feb 1];16(4):398–406.
79. Tamura H, Miyamoto K, Kiryu J, Miyahara S, Katsuta H, Hirose F, et al. Intravitreal injection of corticosteroid attenuates leukostasis and vascular leakage in experimental diabetic retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2005 Apr [cited 2014 Feb 1];46(4):1440–4.
80. Maia OO, Takahashi BS, Costa RA, Scott IU, Takahashi WY. Combined laser and intravitreal triamcinolone for proliferative diabetic retinopathy and macular edema: one-year

results of a randomized clinical trial. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2009 Feb [cited 2015 May 6];147(2):291–7.e2.

81. Haller JA, Bandello F, Belfort R, Blumenkranz MS, Gillies M, Heier J, et al. Randomized, sham-controlled trial of dexamethasone intravitreal implant in patients with macular edema due to retinal vein occlusion. *Ophthalmology* [Internet]. 2010 Jun [cited 2014 Feb 1];117(6):1134–46.e3.

82. Antonetti DA, Barber AJ, Khin S, Lieth E, Tarbell JM, Gardner TW. Vascular permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occludin content: vascular endothelial growth factor decreases occludin in retinal endothelial cells. Penn State Retina Research Group. *Diabetes* [Internet]. 1998 Dec [cited 2014 Feb 1];47(12):1953–9.

83. Antonetti DA, Wolpert EB, DeMaio L, Harhaj NS, Scaduto RC. Hydrocortisone decreases retinal endothelial cell water and solute flux coincident with increased content and decreased phosphorylation of occludin. *J Neurochem* [Internet]. 2002 Feb [cited 2014 Feb 1];80(4):667–77.

84. Nauck M, Karakiulakis G, Perruchoud AP, Papakonstantinou E, Roth M. Corticosteroids inhibit the expression of the vascular endothelial growth factor gene in human vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 1998 Jan 12 [cited 2014 Feb 1];341(2-3):309–15.

85. Campochiaro PA, Brown DM, Pearson A, Ciulla T, Boyer D, Holz FG, et al. Long-term benefit of sustained-delivery fluocinolone acetonide vitreous inserts for diabetic macular edema. *Ophthalmology* [Internet]. 2011 Apr [cited 2014 Feb 1];118(4):626–35.e2.

86. Beck RW, Edwards AR, Aiello LP, Bressler NM, Ferris F, Glassman AR, et al. Three-year follow-up of a randomized trial comparing focal/grid photocoagulation and intravitreal triamcinolone for diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 2009 Mar [cited 2014 Jan 28];127(3):245–51.

87. Dugel PU, Bandello F, Loewenstein A. Dexamethasone intravitreal implant in the treatment of diabetic macular edema. *Clin Ophthalmol*. 2015;9:1321–1335

88. Flynn HW Jr, Chew EY, Simons BD, Barton FB, Remaley NA, Ferris FL 3rd. Pars plana vitrectomy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. ETDRS report number 17. The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology*. 1992;99(9):1351-7.

89. Greenfield DS. Stereoscopic optic disc photography. In: Shcuman J. *Imaging in glaucoma*. Thorofare: Slack, 1997.

90. Weinreb RN. Laser scanning tomography to diagnose and monitor glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol*. 1993;4:3-6.

91. Sampaolesi R, Sampaolesi J. Tomografía confocal de la Retina y del Nervio Optico. *Relato Anual 1995. Archivos de Oftalmología de Buenos Aires*. 1997;70:77-85.

92. Swindale NV, Stjepanovic G, Chin A, Mikelberg FS. Automated analysis of normal and glaucomatous optic nerve head topography images. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:1730–42.
93. Burk RO, Vihanninjoki K, Bartke T, Tuulonen A, Airaksinen PJ, Volcker HE, Konig JM. Development of the standard reference plane for the Heidelberg retina tomograph. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2000;238:375-84.
94. Huang XR, Knighton RW. Linear birefringence of the retinal nerve fiber layer measured in vitro with a multispectral imaging micropolarimeter. *J Biomed Opt.* 2002;7:199–204.
95. Weinreb RN, Shakiba S, Zangwill L. Scanning laser polarimetry to measure the nerve fiber layer of normal and glaucomatous eyes. *Am J Ophthalmol.* 1995;119:627-36.
96. Zhou Q, Weinreb RN. Individualized compensation of anterior segment birefringence during scanning laser polarimetry. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:2221-2228.
97. Lauande-Pimentel R, Costa VP. *Análise da camada de fibras nervosas da retina. Um guia para interpretar o exame de polarimetria.* Rio de Janeiro: Cultura Médica; 2001.
98. Tannenbaum DP, Hoffman D, Lemij HG, Garway-Heath DF, Greenfield DS, Caprioli J. Variable corneal compensation improves discrimination between normal and glaucomatous eyes with the scanning laser polarimeter. *Ophthalmology.* 2004;111:259-64.
99. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, et al. Optical coherence tomography. *Science.* 1991;254:1178-81.
100. Hee MR, Izatt JA, Swanson EA, Huang D, Schuman JS, Lin CP, et al. Optical coherence tomography of the human retina. *Arch Ophthalmol.* 1995;113(3):325-32.
101. Srinivasan VJ, Wojtkowski M, Witkin AJ, Duker JS, Ko TH, Carvalho M, et al. High-definition and 3-dimensional imaging of macular pathologies with high-speed ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Ophthalmology.* 2006;113(11):2054 e1-14.
102. Leung CK. Diagnosing glaucoma progression with optical coherence tomography. *Current opinion in ophthalmology.* 2014;25(2):104-11.
103. Martinez-de-la-Casa JM, Cifuentes-Canorea P, Berrozpe C, Sastre M, Polo V, Moreno-Montanes J, et al. Diagnostic ability of macular nerve fiber layer thickness using new segmentation software in glaucoma suspects. *Investigative ophthalmology & visual science.* 2014;55(12):8343-8.
104. Springelkamp H, Lee K, Wolfs RC, Buitendijk GH, Ramdas WD, Hofman A, et al. Population-based evaluation of retinal nerve fiber layer, retinal ganglion cell layer, and inner plexiform layer as a diagnostic tool for glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science.* 2014;55(12):8428-38.

105. Leite MT, Rao HL, Weinreb RN, et al. Agreement among spectral-domain optical coherence tomography instruments for assessing retinal nerve fiber layer thickness. *Am J Ophthalmol* 2011;151(1):85–92.e1.
106. Leite MT, Rao HL, Zangwill LM, Weinreb RN, Medeiros FA. Comparison of the diagnostic accuracies of the Spectralis, Cirrus, and RTVue optical coherence tomography devices in glaucoma. *Ophthalmology* 2011;118(7):1334–1339.
107. Vizzeri G, Balasubramanian M, Bowd C, Weinreb RN, Medeiros FA, Zangwill LM. Spectral domain-optical coherence tomography to detect localized retinal nerve fiber layer defects in glaucomatous eyes. *Opt Express* 2009;17(5): 4004–4018.
108. Whitley E, Ball J. Statistics review 4: sample size calculations. *Crit Care*. 2002;6(4):335–341
109. Ghasemi A, Zahediasl S. Normality tests for statistical analysis: A guide for non-statisticians. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012;10(2):486-9.
110. Henderson AR. Testing experimental data for univariate normality. *Clinica Chimica Acta*. 2006;366(1-2):112-29.
111. American Academy of Ophthalmology Retinal Panel. Preferred practice patterns. Diabetic retinopathy. San Francisco: American Academy of Ophthalmology, 2009. (<http://one.aao.org/CE/PracticeGuidelines/SummaryBenchmark.aspx?cid=>
112. Lopes de Faria JM, Russ H, Costa VP. Retinal nerve fiber layer loss in patients with type 1 diabetes mellitus without retinopathy. *Br J Ophthalmol*. 2002;86:725–728.
113. Abu-El-Asrar AM, Dralands L, Missotten L, et al. Expression of apoptosis markers in the retinas of human subjects with diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:2760–2766.
114. Quigley HA, Green WR. The histology of human glaucoma cupping and optic nerve damage: clinicopathologic correlation in 21 eyes. *Ophthalmology* 1979; 86:1803-30.
115. Amano S, Kaji Y, Oshika T, et al. Advanced glycation end products in human optic nerve head. *Br J Ophthalmol*. 2001;85:52–55.
116. Königsreuther KA, Jonas JB. Optic disc morphology in diabetes mellitus. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1995;233:200–204.
117. Tekeli O, Turac,li ME, Atmaca LS, et al. Evaluation of the optic nerve head with the Heidelberg Retinal Tomograph in diabetes mellitus. *Ophthalmologica*. 2008;222:168–172.
118. Lee DE, Lee JH, Lim HW, Kang MH, Cho HY, Seong M. The Effect of Pattern Scan Laser Photocoagulation on Peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer Thickness and Optic Nerve Morphology in Diabetic Retinopathy. *Korean Journal of Ophthalmology: KJO*. 2014;28(5):408-416. doi:10.3341/kjo.2014.28.5.408.
119. Lee SB, Kwag JY, Lee HJ, et al. The longitudinal changes of retinal nerve fiber layer thickness after panretinal photo- coagulation in diabetic retinopathy patients. *Retina* 2013; 33:188–193.

120. Jampol LM, Odia I, Glassman AR et al. Panretinal Photocoagulation versus Ranibizumab for proliferative diabetic retinopathy: Comparison of peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in a randomized clinical trial. *Retina*. 2017; 0:1-10.