

Biomarkers & Spessore Retinico



Amedeo Lucente

Abstract: L'articolo prende spunto dall'importanza crescente dei biomarkers in medicina, e passa in rassegna brevemente la letteratura più significativa sulla necessità di trovare utili e validi indici tomografici nella diagnosi e per la terapia delle malattie retiniche. In particolar modo si evidenzia il valore dello spessore retinico come biomarker in relazione all'acuità visiva. Vengono passati al vaglio alcuni tra gli studi più interessanti, per stabilire la possibilità di una valutazione anche funzionale dell'imaging OCT/OCTA. L'evidenza di questa possibilità, e l'interconnessione e/o interdipendenza tra dato strutturale e funzionalità visiva sta assumendo, infatti, sempre più importanza. Passare da una lettura statica ad una dinamica e funzionale dell'imaging OCT/OCTA sembra oggi una strada percorribile, a portata di mano, per le aumentate performance dei moderni device, e per il miglioramento dei loro software applicativi.

Keywords and abbreviations: AJ Adherens Junctions, AD Alzheimer Disease, BCVA Best-Corrected Visual Acuity, CMT Central Macular Thickness, DA Diabetic Retinopathy, DCP Deep Capillary Plexus, DME Diabetic Macular Edema, DRIL Disorganization Retinal Inner Layers, ERM Epiretinal Membrane, ETDRS Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, EZ Ellipsoid Zone, FA Fluorescein Angiography, FAZ Foveal Avascular Zone, FCP Foveal Center Point, FCS Foveal Central Subfield, GCIPL Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer, INL Inner Nuclear Layer, JAM Junctional Adhesion Molecules, LMH Lamellar Macular Hole, MLI Membrane Limiting Internal, NIH National Institutes of Health, OCT/OCTA Optical Coherence Tomography/Optical Coherence Tomography Angiography, OLM Outer Limiting Membrane, PNR Pro Re Nata, RPE Retinal Pigment Epithelial, SCP Superficial Capillary Plexus, T&E Treat and Extend, TJ Tight Junctions, VA Visual Acuity, VEGF Vascular Endothelial Growth Factor.

Introduzione

Il termine "biomarker" è stato utilizzato la prima volta nel 1973 per indicare la presenza o assenza, in termini generici, di materiale biologico.

Gli appellativi "marker biochimico" e "marker biologico" sono comparsi da molto tempo in letteratura, nel 1949 e nel 1957 rispettivamente [1>3].

La ricerca di biomarkers nell'imaging tomografico retinico, sempre più dettagliato e significativo, non poteva non accendere la curiosità verso questa prospettiva.

La tomografia a coerenza ottica, tecnologia ormai affidabile, veloce, sensibile, di facile utilizzo, con elevate risoluzioni, indicata nella quasi totalità delle

patologie oftalmiche, offre terreno fertile per individuare eventuali biomarkers specifici nelle diverse patologie corioretiniche.

Indagare e stabilire possibili quanto probabili gerarchie funzionali con gli OCT/OCTA è un obiettivo di ricerca da perseguire, sicuramente ambizioso, certamente utile, che ulteriormente sarà sviluppato con l'evolversi di questa tecnologia.

Le considerazioni che scaturiscono dalla disamina della letteratura e dall'esperienza personale, anche se non sistematica, favoriscono alcuni approfondimenti e validi spunti per interpretare un tomogramma OCT/OCTA dal lato funzionale, individuando le alterazioni più

significative con dignità di veri markers.

I pochi dati finora disponibili sul rapporto struttura/ funzione nelle patologie neuroretiniche, e l'utilizzo relativamente recente della tomografia nell'indagine retinica, costituiscono gli ostacoli più significativi a tale proposito. Con difficoltà si trovano in letteratura studi immediati ed esaustivi sull'argomento.

Ogni apporto personale migliorerà la comprensione di questa difficile relazione. La condivisione di più risultati, utilmente coordinati, sarà essenziale per raggiungere dati statisticamente validi ed universalmente accettati.

Quest'articolo si limita a discutere la validità dello spessore retinico come biomarker funzionale, descrivere le possibili correlazioni tra spessore e acuità visiva, considerare la catena fisiopatologica degli eventi che collega la variazione dello spessore retinico all'acuità visiva.

Ogni sforzo verso la ricerca di tracce significative nell'imaging tomografico per suscitare stimoli, più autorevoli e completi studi sull'argomento, non sarà certamente speso invano.

Dare risposte funzionali alle variazioni strutturali neuroretiniche è la strada giusta per arrivare a diagnosi più circostanziate, nel predisporre razionali e più mirate terapie.

Background

Nel 1998, il National Institutes of Health Biomarkers Definitions Working Group ha definito un biomarcatore come "una caratteristica oggettivamente misurata e valutata come indicatore dei normali processi biologici, processi patogeni o risposte farmacologiche a un intervento terapeutico".

I NIH National Institutes of Health, nati nel 1930, con sede a Bethesda nel Maryland, sotto l'egida del governo, utilizzano il 28% circa (26.4 miliardi di dollari) dei fondi annualmente spesi per la ricerca biomedica negli Stati Uniti.

Comprendono in tutto 27 Istituti e Centri separati, oltre l'Office of the Director [3].

Una joint venture sulla sicurezza chimica guidata dall'OMS Organizzazione Mondiale della Sanità, in collaborazione con le Nazioni Unite e l'Organizzazione internazionale del lavoro, ha ridefinito un biomarcatore come "qualsiasi sostanza, struttura o processo che può essere misurato nel corpo o nei suoi prodotti e influenzare o prevedere l'incidenza di esiti o malattie".

Una definizione ancora più ampia prende in considerazione gli effetti di eventuali trattamenti e interventi, non escludendo l'esposizione ambientale non intenzionale a sostanze chimiche o sostanze nutritive [4].

Nella relazione sulla validità dei biomarcatori per la valutazione del rischio ambientale lo stesso OMS ha,

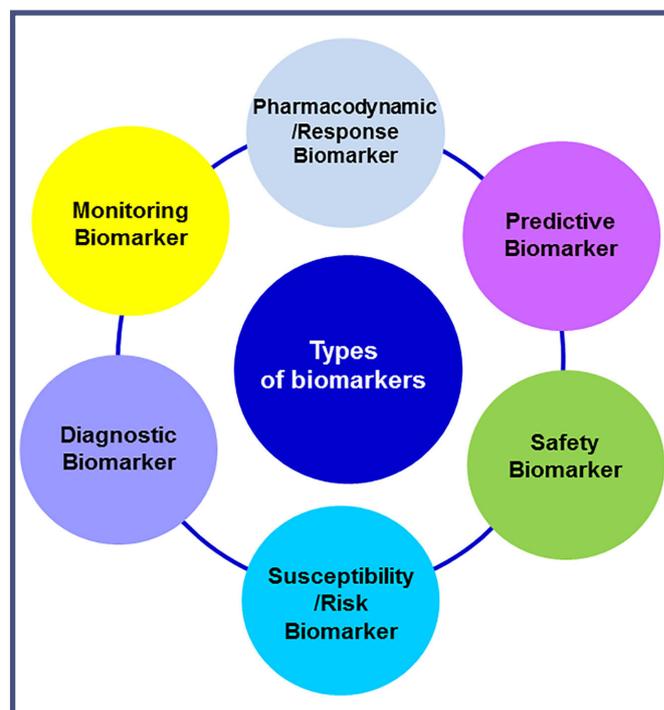


Fig. 1 - Classificazione di biomarkers in base alla loro applicazione principale.
(by Maria Salud García-Gutiérrez et al.)

infatti, ulteriormente esteso la sua definizione: "quasi tutte le misurazioni che riflettono un'interazione tra un sistema biologico e un potenziale pericolo, che può essere chimico, fisico o biologico. La risposta misurata può essere funzionale e fisiologica, biochimica a livello cellulare o un'interazione molecolare".

Nel database di PubMed al 2020 si rilevano 928,227 pubblicazioni con il termine "biomarker".

Ne sono stati descritti almeno 100.000; tuttavia il numero attivo nella pratica clinica è di circa 100 unità, utilizzati in più campi (Fig. 1) [4].

Si parte dai biomarcatori semplici ed immediati come la pressione sanguigna, la temperatura corporea o la semplice valutazione del polso arterioso, per arrivare ai test ematologici di laboratorio e su altri tessuti.

In generale, i markers possono essere rappresentati da cellule specifiche, molecole, geni, prodotti genici, enzimi, ormoni.

Il loro utilizzo nella pratica clinica, in particolare come indici di laboratorio, è relativamente recente; gli approcci migliori verso questa pratica sono ancora in fase di sviluppo e perfezionamento, come per gli oncologici, i più richiesti e discussi.

La ricerca di utili indici biologici non si è fermata in era Covid-19.

Tra i tanti dati che stanno emergendo le concentrazioni di urea, creatinina (CREA) e cistatina C (CysC) nei pazienti con COVID-19 grave sono risultati

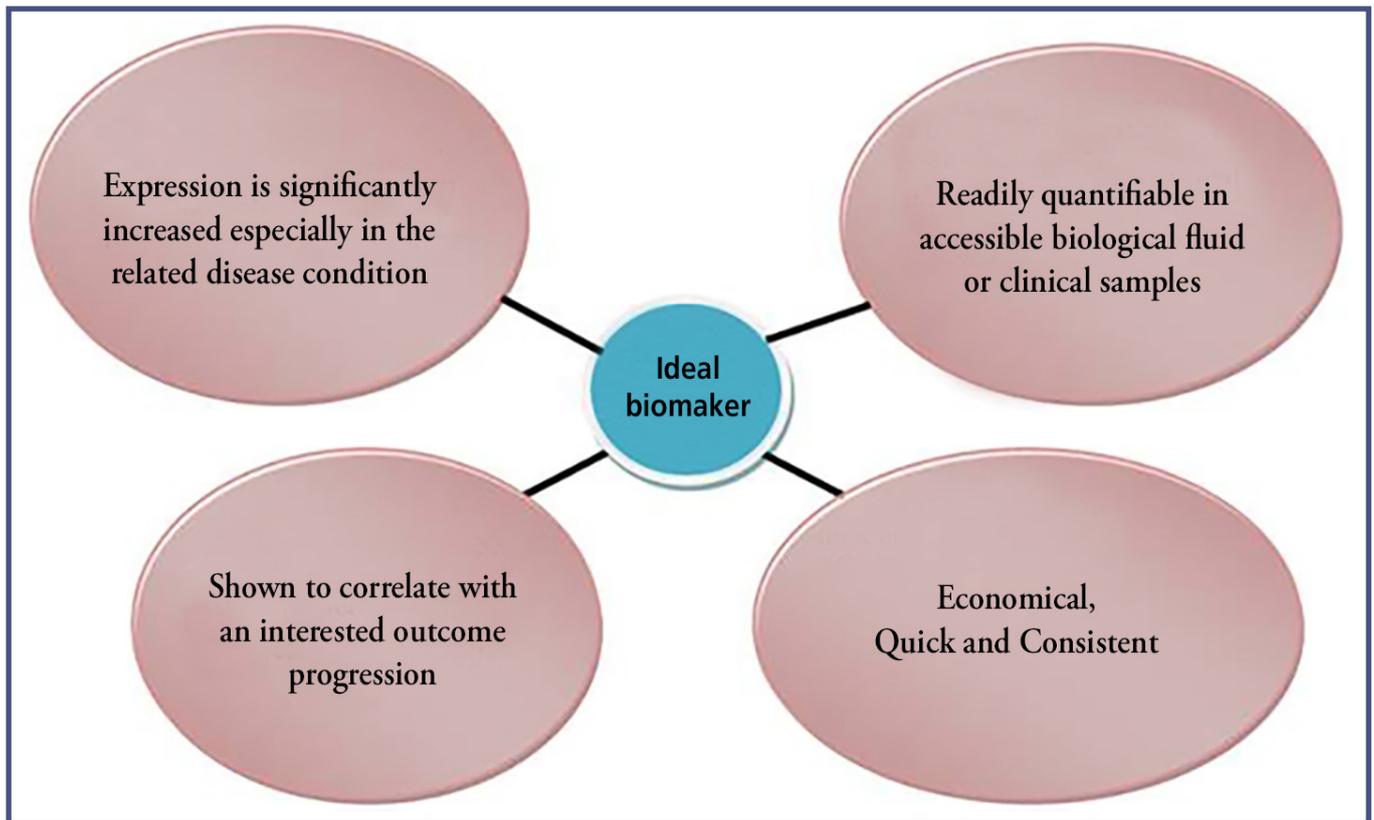


Fig. 2 - Caratteristiche del biomarker ideale.
(by Chikezie O. Madu and Yi Lu; Journal of Cancer 2010, 1).

significativamente più alte di quelle nei pazienti con COVID-19 lieve ($P < 0,001$); questi dati non sono stati ancora sottoposti a peer review.

Questione chiave è determinare la relazione tra un dato biomarcatore misurabile e gli endpoint clinici rilevanti. Nel campo dell'imaging, non solo in oftalmologia, possono essere presi in considerazione strutture semplici o complesse rilevate dal device, una volta eliminati gli artefatti, riscontrati in relazione a cambiamenti dell'acuità visiva.

Un indicatore ideale dovrebbe essere sicuro, facilmente determinabile, con un rapporto costo/beneficio conveniente, variabile e sensibile ai trattamenti intrapresi, coerente per genere e gruppo etnico, efficacemente specifico su possibili stati di malattia o di salute (Fig. 2).

Correlare i danni tomografici strutturali e vascolari, da non molto tempo diffusamente disponibili, e le variazioni funzionali che trovano nell'acuità visiva VA Visual Acuity la massima e più pertinente espressione misurabile, è stato e continua ad essere un proposito arduo, difficilmente attuabile, non oggetto finora di esaurienti e sistematiche trattazioni scientifiche [4].

Molti sono stati gli sforzi e i tentativi verso quest'obiettivo; i risultati tuttavia sono parziali, oggetto di approfondimento, discussione, fonte di critiche per l'inadeguatezza dei biomarkers di volta in volta presi in

considerazione.

Dall'avvento degli OCT/OCTA si è cercato e tuttora si ricercano correlazioni tra fine struttura tomografica intraretinica e corrispettive risposte funzionali.

Sempre più dettagliato, veloce nell'esecuzione, migliorato nella qualità, il segnale tomografico offerto dai più moderni device SD-OCT/OCTA da 100 KHZ ha assunto ormai valore di dato istologico in vivo.

Un fine da perseguire nell'imaging OCT/OCTA è stabilire il valore temporale degli eventi strutturali nelle patologie neuro-corio-retiniche.

Determinarne la sequenza fisiopatologica degli eventi, evidenziando stabili correlazioni tra danno strutturale e rispondenza funzionale, con i migliori auspici, è un obiettivo diffusamente sentito, un target perseguito da più gruppi di ricerca.

Preservare più possibile la funzionalità visiva è, d'altra parte, il fine più elevato di ogni ricerca in oftalmologia, la pressante richiesta dei nostri pazienti.

Spessore retinico come biomarker

Il dato strutturale più studiato e discusso in letteratura è lo spessore retinico al polo posteriore, in particolare modo nell'area maculare.

Tutti i device OCT/OCTA hanno nel loro software la possibilità di Report di stampa degli spessori

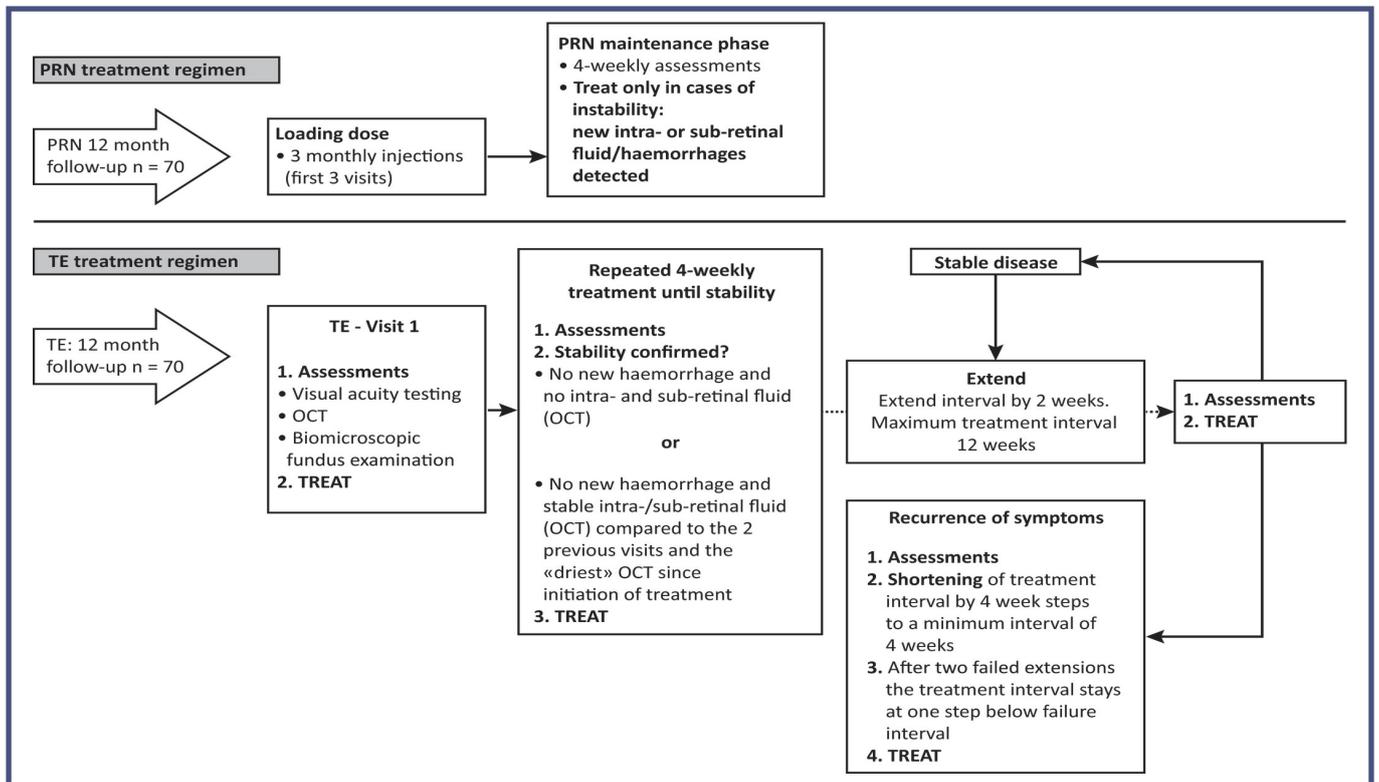


Fig. 3 - Schemi posologici del PNR e T&X. Il trattamento PNR Pro Re Nata inizia con tre iniezioni, una al mese, con ritrattamenti al riscontro di fluido intra e/o sotto retinico o emorragie con SD-OCT. Il regime T&E Treat and Extend prevede iniziali intravitreali a intervalli di 4 settimane, con controlli del BVCA, SD-OCT e esame retinico. In seguito le intravitreali sono effettuate ad intervalli variabili da 2 a 12 settimane con la presenza dei segni di attività. (by Katja Hatz and Christian Prunte; Acta Ophthalmologica 2017).

retinici, confrontabili nel follow-up, utili per seguire l'evoluzione delle più importanti e frequenti patologie neuro-corio-retiniche.

Il dato strutturale, offerto come spessore e volume retinico, è riferito come valore numerico in falsi colori; anche se molto enfatizzato nei printout di stampa, resta tuttavia un dato semplice, una risposta "bruta".

L'effettivo suo valore clinico resta generico, difficilmente correlabile alla variazione della VA.

Bressler et al., utilizzando OCT Stratus Zeiss, già nel 2007, evidenziavano la discrepanza nel relazionare lo spessore retinico, il CSF Central Subfield, e la VA. I limiti consistono nel comparare dati non omogenei, un valore oggettivo, lo spessore retinico, e un riscontro soggettivo, la VA.

Tuttavia il CSF resta un parametro utile, un indice di riferimento, un "surrogato" di correlazione indiretto tra VA e struttura retinica, specie nell'edema maculare diabetico, dove guida il giudizio sull'efficacia dei trattamenti anti-VEGF [6].

Molte decisioni se continuare, procrastinare o sospendere le intravitreali nella DME Diabetic Macular Edema sono prese, infatti, dal confronto delle mappe dello spessore retinico centrale, molto spesso

indipendentemente dal riscontro della VA.

Le diverse opzioni terapeutiche per le intravitreali prevedono, com'è noto, almeno tre possibilità di trattamento: Fixed, PNR Pro Re Nata e T&E Treat and Extend, con due possibili approcci: il Reattivo, dove si interviene quando ci sono segnali di progressione, e il Proattivo, dove si può intervenire anche quando non ci sono nuovi segnali evidenti di malattia (Fig. 3) [7].

Il Fixed, o regime fisso, è il più semplice da applicare.

Si tratta di un'iniezione a cadenza regolare, generalmente mensile, estremamente utile nelle fasi iniziali; nel tempo risulta un regime particolarmente gravoso per il paziente.

È un approccio proattivo, a cadenza regolare, con certezza dell'iniezione.

PNR Pro Re Nata deriva la sua denominazione dal latino. Significa nelle circostanze, quando sorge l'occasione, se necessario, quando si presenta la situazione, per necessità, al bisogno, letteralmente "per la cosa nata". Si adotta dopo un periodo di terapia a intervalli regolari.

Con questo regime il farmaco viene somministrato solo quando ci sono segnali di peggioramento; le visite di controllo restano sempre mensili.

Il T&E è un sistema di somministrazione ibrido;

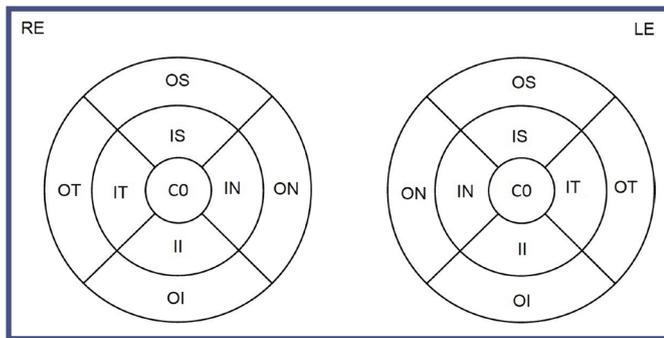


Fig. 4 - ETDRS Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. Campi maculari circolari. Abbreviazioni: CO, central fovea; IS, inner superior; IN, inner nasal; II, inner inferior; IT, inner temporal; OS, outer superior; ON, outer nasal; OI, outer inferior; and OT, outer temporal; RE, right eye; LE, left eye. (by <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198397.g003>).

testualmente “cura ed estendi”.

Nato dalla necessità di diminuire il numero delle intravitreali senza diminuirne l’efficacia, risponde in qualche modo alle esigenze del paziente e dello specialista. Tale regime è possibile grazie allo sviluppo di farmaci sempre più affidabili con efficacia prolungata nel tempo; l’intervallo tra un’iniezione e l’altra può procrastinarsi di 12/16 settimane.

E’ definito regime reattivo: si interviene con una nuova iniezione al primo peggioramento; i controlli restano mensili, senza certezza dell’infiltrazione [7].

Tutti questi regimi terapeutici si basano sull’esame OCT/OCTA, necessario supporto per ogni decisione, assolutamente dirimente, obbligatorio prima di ogni intravitreale.

Molti studi cercano di stabilire legami non casuali tra CTS e VA anche nei confronti di questi regimi terapeutici. Queste ricerche, come già detto, restano tuttavia sporadiche, senza offrire finora dati statisticamente validi e ripetibili [5,6].

Il Foveal Central Subfield FCS è definito dal cerchio C1, area foveale nella griglia ETDRS Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, di un 1 mm di diametro, dove il centro, FCP Foveal Center Point, è individuato dal punto d’intersezione di 6 scans radiali passanti per la foveola (Fig. 4) [6].

I parametri dell’area maculare determinati dallo studio ETDRS sono di riferimento nella maggior parte degli studi presenti in letteratura. Tutti i markers tomoangiografici emergenti in quest’area sono studiati per stabilire la capacità visiva retinica discriminativa, il rischio di progressione, l’efficacia delle terapie utilizzate, il follow-up nelle maculopatie [8].

Austin Bradford Hill è stato tra i primi a proporre linee guida di appropriatezza al fine di giudicare e stabilire

ogni biomarker veramente utile [9].

Il dato che l’ispessimento maculare centrale possa essere associato a una diminuzione della VA è stato rilevato e descritto in numerosi studi e ricerche. È da più parti riferito che la riduzione dello spessore retinico, in corso di edema retinico centrale, può associarsi con una migliore VA in numerose condizioni patologiche [9,10].

È stato già riferito che nelle patologie maculari la correlazione tra spessore retinico centrale e migliore acuità visiva corretta BCVA Best Corrected Visual Acuity ha trovato modeste e poco convincenti validazioni statistiche nelle terapie mediche e per le infiltrazioni in camera vitrea.

È esperienza personale, di comune riscontro, che macule ispessite possono conservare acuità visive sorprendentemente valide, indipendentemente dalle patologie di base [10].

Parimenti, spessori maculari nei limiti fisiologici, dopo terapie anti-VEGF, cortisoniche, o chirurgiche non sempre sono correlati con aumenti della VA.

Resta pertanto molto incerta la relazione causa/effetto, il riscontro oggettivo/soggettivo tra spessore e VA [10]. Questa incongruenza è particolarmente riscontrabile ed evidente nell’edema maculare diabetico.

La relazione tra struttura retinica e VA è molto più complessa di come i dati finora a disposizione fanno supporre [11,12].

È opinione non solo personale che individuare possibili markers strutturali rilevabili con OCT/OCTA, predittivi per la VA, specie nel follow-up delle più importanti e diffuse maculopatie, sarebbe utile ed efficace in fase diagnostica e nella prognosi a lungo termine.

Anche il timing chirurgico intraoperatorio troverebbe importanti vantaggi, indispensabili assist nel favorire decisioni terapeutiche struttura-dipendente.

D’altra parte le relazioni tra lo spessore retinico e VA travalicano lo stretto campo oftalmologico.

Luis Jáñez-Escalada et al., in un recente articolo, hanno descritto, in 19 pazienti con malattia di Alzheimer lieve e un gruppo di controllo di 24 volontari, le differenze per lo spessore retinico centrale [13].

In questo studio gli strati retinici sono stati segmentati automaticamente, il loro spessore determinato, misurato punto per punto, corretto per l’inclinazione del piano retinico B-scan, e normalizzato nello spazio 3 D. E’ emerso che lo strato dei segmenti esterni dei fotorecettori mostra un diradamento statisticamente significativo nei pazienti con AD (Student’s $t=-2.23$, $df=41$, $p=0.02$) rispetto al gruppo di controllo [13].

I pazienti con AD hanno mostrato inoltre un assottigliamento significativo anche delle fibre nervose, delle cellule gangliari, dello strato plessiforme interno e

nucleare interno.

Il RPE Retinal Pigment Epithelium era più spesso nei pazienti con AD; il dato non era tuttavia significativo [13].

Mohammad Hossein et al., in 123 occhi con DME, hanno confrontato il CMT Central Macular Thickness e la BCVA dopo due dosi (2.5 mg e 1.25 mg) di IVZ Intra-Vitreal Ziv-aflibercept versus IVB bevacizumab, ad un anno di distanza [14].

Gli autori hanno classificato i pazienti in base alla percentuale di decremento del CMT: $\leq 9\%$; $10\% \leq 29\%$; $\geq 30\%$ rispetto al dato iniziale.

La BCVA e le variazioni del CMT erano significativamente correlate in tutti gli occhi esaminati ($P < .05$).

Ziv-aflibercept, alla dose di 2.5 mg, ha fatto riscontrare le migliori performance nella riduzione del CMT [13].

Sun, J. K. et al, Scott, I. U. et al., Nussenblatt, R. B. et al. affermano, in ricerche indipendenti, che gli occhi patologici con aumento dello spessore maculare sono generalmente associati a più scarsa acuità visiva [15>17].

Ad esempio, uno spessore maculare più alto, misurato con OCT in retine con occlusione venosa o in corso di uveite, è associato a minore acuità visiva rispetto ai valori basali, in accordo a quanto riferito negli studi SCORE, Standard Care vs. Corticosteroid for Retinal Vein Occlusion e MUST, Multicentre Uveitis Steroid Treatment [14>16].

Per comprendere meglio i dati patologici è interessante conoscere la correlazione tra spessore maculare e VA in soggetti sani.

L'idea che una macula più spessa rifletta un numero di cellule più numerose, specialmente gangliari, non è affermazione senza base scientifica, lontana dalla realtà [18].

Stanley Poh et al. evidenziano che, nella retina interna di soggetti sani, lo spessore medio GCIPL Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer era significativamente associato a una BCVA e funzionalità visiva complessiva migliore [19]. Questa stessa correlazione non era riscontrabile per la retina esterna.

La slab GCIPL è stata dagli autori determinata e delimitata tra lo strato delle fibre nervose e lo strato plessiforme interno; lo spessore complessivo della retina tra la membrana limitante interna e RPE; la retina esterna tra lo strato plessiforme esterno e il tappeto delle cellule dell'epitelio pigmentato retinico (Fig. 5) [19].

Nello studio è stato utilizzando il Cirrus High-Definition OCT (HD-OCT, Carl Zeiss Meditec, Dublin, California, USA software V 6.5.).

Il dato anatomico che le cellule ganglionari localizzate maggiormente nella retina interna siano strettamente correlate alla VA è un dato in accordo alla vasta letteratura che correla spessore GCIPL e outcomes visivi in occhi sani.

Gli autori, in questo loro lavoro dei primi mesi del 2020, dopo disamina di 7744 occhi in 4450 soggetti asiatici sani di tre diverse etnie (Cinese, Malese, e Indiana; età media 58.8 ± 8.6 aa) confermano che spessori maculari e dello strato GCIPL più elevati sono associati ad una migliore VA (all $p \leq 0.001$) [19].

Nel loro studio queste caratteristiche strutturali sono state determinanti anche per la funzione visiva complessivamente considerata.

Performance simili erano ugualmente presenti sia nel gruppo dei pazienti più giovani (<60 anni) che dei più anziani.

Altro parametro studiato dagli autori è stata la lunghezza assiale. I migliori risultati sono stati riscontrati

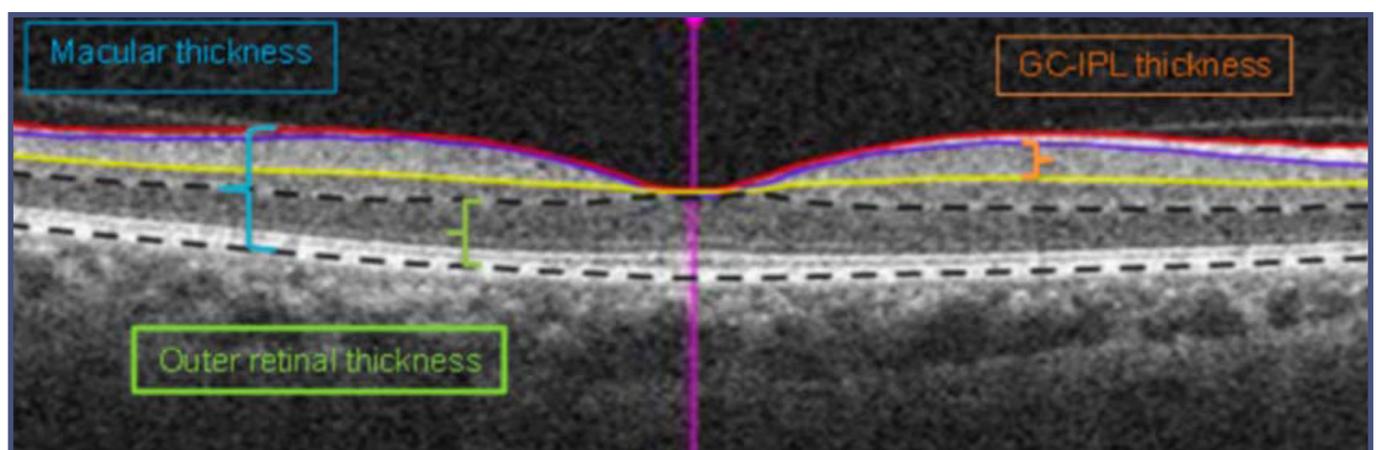


Fig. 5 - OCT B-Scan orizzontale in macula passante per la fovea. La parentesi blu indica lo spessore retinico complessivo, la parentesi arancione lo spessore del plesso ganglionare-plessiforme interno, la parentesi verde lo spessore della retina esterna.

(by Stanley Poh et al. Sci Rep. 2020; 10: 6142. Published online 2020 Apr 9. doi: 10.1038/s41598-020-63063-y).

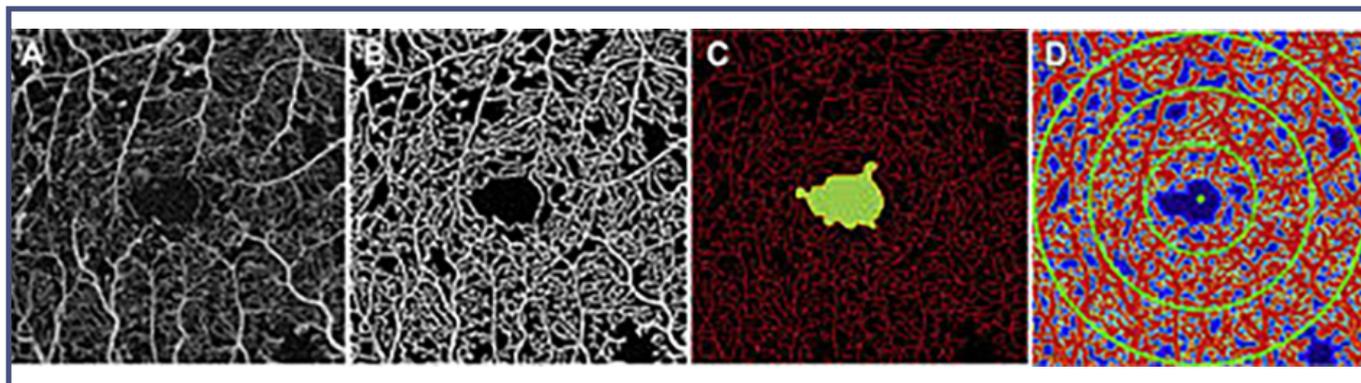


Fig. 6 - Imaging dell'analisi vascolare quantitativa. (A) angiografia originale OCT, (B) mappa dell'imaging average vessel density e della tortuosità vascolare, (C) skeleton map fovea avascular zone, (D) dimensione frattale vessel density. Il cerchio verde mostra tre aree rispettivamente di 1 mm, 2 mm e 3 mm di diametro.

(by Yi-Ting Hsieh et al. *Ophthalmol Retina*. 2019 October ; 3(10): 826–834. doi:10.1016/j.oret.2019.04.027).

in presenza di diametri bulbari ≤ 25 mm; erano assenti con lunghezze assiali maggiori.

Gli incrementi visivi sono stati stabiliti per intervalli di $20 \mu\text{m}$ di spessore maculare e GCIPL rispetto ai valori medi di base [19].

L'area maculare è stata suddivisa in nove sezioni, attenendosi all'ETDRS, con tre ring circolari a diametro crescente, (1 mm central subfield, 3 mm inner ring, 6 mm outer ring).

Lo spessore retinico ritrovato dell'intera macula è stato uguale a $276.0 \pm 13.4 \mu\text{m}$; nell'area del central subfield $246.1 \pm 21.5 \mu\text{m}$; nello strato GCIPL $80.4 \pm 7.1 \mu\text{m}$; lo spessore della retina esterna $123.3 \pm 8.5 \mu\text{m}$ [19].

A conclusione del loro interessante lavoro gli autori hanno confermato l'importanza e l'essenzialità dello spessore maculare per la funzionalità dell'intera retina, in particolare per la sensibilità al contrasto, la stereoacuità, l'integrità del campo visivo, in accordo con altri importanti studi [20,21].

Yi-Ting Hsieh et al. hanno analizzato in cinquanta occhi di altrettanti pazienti con DME e 22 occhi sani, cinque possibili biomarkers OCTA: FAZ-A Foveal Avascular Zone Area, FAZ-CI Contour Irregularity, AVC Average Vessel Caliber, VT Vessel Tortuosity, e VD Vessel Density (Fig. 6) [22].

La BCVA e il CRT Central Retinal Thickness sono stati considerati, misurati e correlati tra i due gruppi.

Gli occhi con DME presentavano i biomarkers peggiori (AVC, VT, FAZ-A e FAZ-CI), con più bassa VD rispetto al gruppo di controllo ($P < 0.001$ for all).

Dopo aver eseguito 3 iniezioni consecutive con ranibizumab, questi biomarkers miglioravano, senza però ritornare ai livelli iniziali [22].

Oltre tutti i biomarkers descritti e considerati, la parafoveal vessel density nello strato superficiale retinico è risultato l'indicatore indipendente più attendibile per

il miglioramento visivo dopo trattamento, marker utile per la prognosi durante terapie con anti-VEGF in retine con DME [22].

Anche se gli anticorpi contro i VEGF e la terapia steroidea hanno dimostrato indubbia efficacia visiva in corso di DME, come riferito da Lattanzio et al. [23], alcuni pazienti risultano tuttavia non rispondenti alla terapia.

L'OCT angiography ha mostrato una migliore risoluzione e definizione della struttura vascolare rispetto alla FA fluorescein angiography, potendo evidenziare particolari strutturali e vascolari settoriali non visibili con mezzo di contrasto [24].

Serizawa S et al. ipotizzano che la persistenza del danno fotorecettoriale, la distruzione della zona ellissoide e la persistenza dell'ischemia maculare in corso di DME siano markers correlati all'assenza di risposta terapeutica, anche in presenza di remissione dello spessore retinico; tutti sono risultati efficaci parametri che gli OCTA permettono di delineare ed evidenziare [25].

Moein HR et al., a supporto di questi riscontri, hanno dimostrato correlazioni significative tra la disorganizzazione della retina interna, le aumentate aree FAZ Foveal Avascular Zone e più basse VA in pazienti con risoluzione del DME [26].

Durbin MK et al. [27] confermano tutti i dati descritti, ribadendo la correlazione tra VD e VA nella DR Diabetic Retinopathy per lo strato retinico vascolare superficiale, non per lo strato retinico vascolare profondo, in linea con i risultati di Yi-Ting Hsieh et al., precedentemente discussi [22].

Gli artefatti di proiezione e l'attenuazione del segnale nella retina profonda, particolarmente inficanti nell'imaging vascolare in corso di DME, sono determinanti per giustificare questi riscontri nella retina iuxta-recettoriale.

Per completezza, nello studio di Yi-Ting Hsieh et al.,

la VD ha mostrato una correlazione al miglioramento visivo dopo trattamento nel DCP Deep Capillary Plexus di entità inferiore rispetto al SCP Superficial Capillary Plexus.

Con una più precisa rimozione degli artefatti da proiezione in futuro anche il plesso capillare intermedio e il DCP potrebbero offrire risultati di correlazione più affidabili in tal senso [22].

Il SCP è stato determinato a partire da $3\mu\text{m}$ al di sotto della MLI Internal Limiting Membrane fino a $15\mu\text{m}$ sotto lo strato plessiforme interno, mentre il DCP è stato individuato tra $15\mu\text{m}$ a $70\mu\text{m}$ al di sotto dello strato plessiforme interno ($55\mu\text{m}$) [22].

Ultimate Goal

Noriko Terada et al., in un lavoro del 2020, hanno descritto ed individuato un nuovo biomarker tomografico correlato alla possibilità di remissione della DME con terapia anti-VEGF [28].

Nel loro studio retrospettivo su 110 occhi di 110 pazienti naïve al trattamento con DME che coinvolgeva il centro, il riscontro di pareti ispessite nel contesto delle cisti intraretiniche era un segno predittivo di resistenza alla terapia con anti-VEGF (Fig. 7, Fig. 8).

I pazienti con cavità cistiche a pareti ispessite in area foveale (hyperreflective walls) avevano visus maggiormente deteriorato con aumentata distruzione dei fotorecettori rispetto a contesti retinici senza questi particolari segni tomografici (rispettivamente $P=0.008$ e $P<0.001$).

La presenza di pareti ispessite è risultata, contro ogni altra evidenza, un marker significativo nel predire la

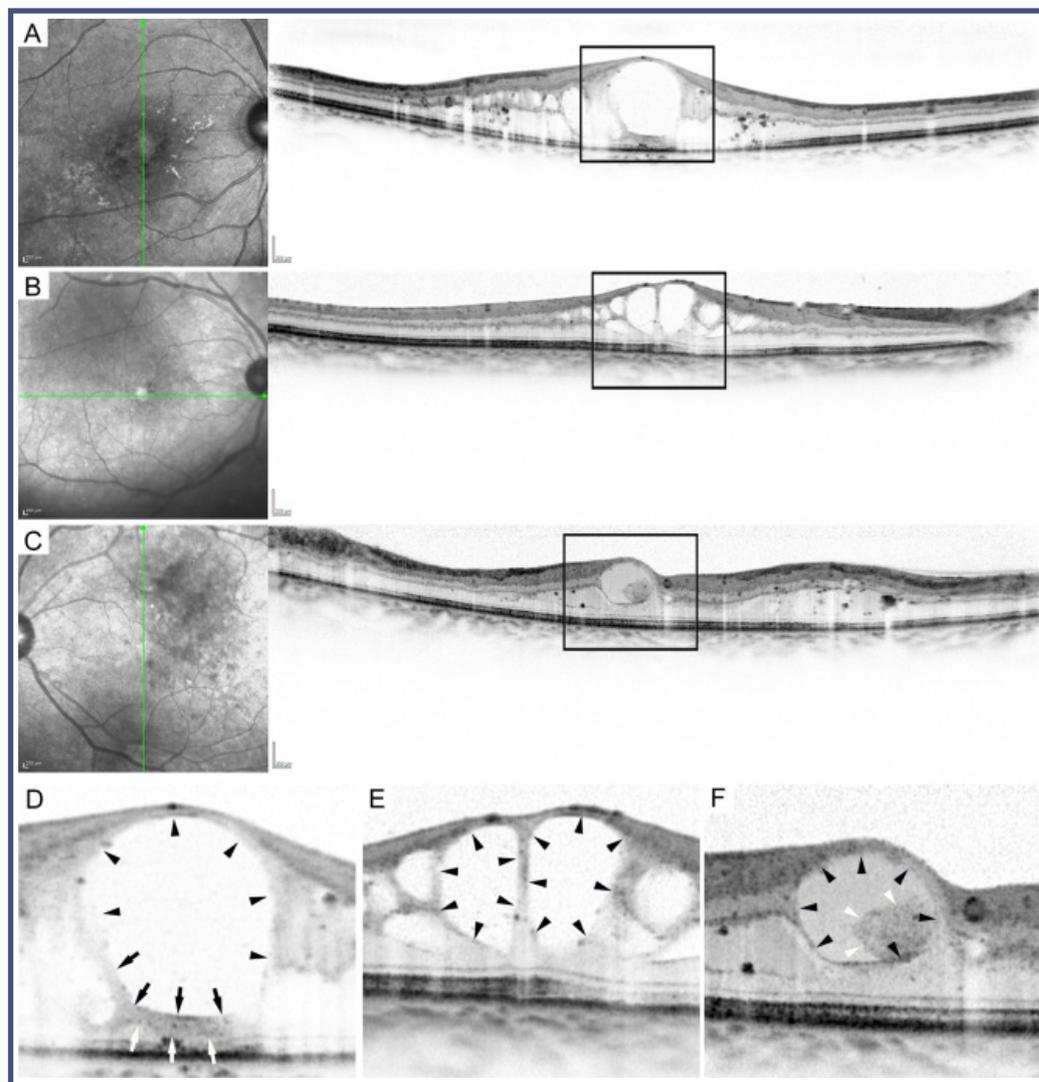


Fig. 7 - Pareti iperriflettenti (hyperreflective walls) nel contesto di cavità cistiche per DME. (A,D) Pareti iperriflettenti indicate da frecce bianche e nere presenti nel contorno inferiore delle cavità cistiche in uomo di 57 anni con NPDR moderata. (B,E) Spazi cistoidi senza pareti ispessite. (C,F) Depositi iperriflettenti nelle cavità cistiche indicate da punte di frecce bianche in uomo di 56 anni con NPDR severa. (D,F) Rettangoli d'ingrandimento delle immagini in (A,C). Scala = 200.

(by NorikoTerada et al. Scientific Reports | (2020) 10:7299 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64332-6>).

persistenza del DME al trattamento con ranibizumab somministrato con regime di PRN [28].

Le pareti ispessite delle cavità cistiche erano individuabili sulla superficie delle cisti in modo incompleto. Lo spessore delle pareti era mediamente $51\mu\text{m}$ ($48-56\mu\text{m}$), mentre la riflettività relativa delle pareti era $51,8$ ($44,0-58,5$), adottando criteri validati di classificazione.

Nel loro studio le pareti ispessite si potevano evidenziare in sezioni B-scan sulla volta superiore, inferiore o tra le pareti divisorie delle cisti, frequentemente accompagnate da foci iperriflettenti nelle loro cavità, corrispondenti a macrofagi ricchi di lipidi.

L'accumulo di tali cellule infiammatorie si è supposto

possa contribuire alla formazione dell'ispessimento delle pareti stesse [28], promuovere la formazione di cicatrici fibrotiche e/o gliotiche, anche se non si è potuto stabilire con precisione la natura istologica dell'ispessimento delle pareti stesse.

Altre ricerche individuano la presenza di fibre di Henle o cellule di Müller nell'ispessimento laterale delle pareti, fotorecettori nell'ispessimento inferiore con o senza accumulo di fibrina [29>32].

Non sono state ritrovate associazioni tra pareti iperreflettenti negli strati interni ed esterni della retina e fluido sottoretinico o alterazioni vitreoretiniche; al contrario erano presenti distruzione delle bande EZ, ellissoide, oltre il riscontro di DRIL, Disorganization of the Retinal Inner Layers (disorganizzazione degli strati retinici interni, rispettivamente $P < 0.001$ e $P = 0.032$) [28].

Questo studio potrebbe dare una spiegazione alla resistenza verso terapia intravitreale in alcuni pazienti con DME [23].

Secondo analisi multivariate, le pareti iperreflettenti al basale avevano infatti un rischio significativamente più alto di non remissione a 18 mesi di follow-up [28].

Passare da biomarker strutturali generici come lo spessore maculare, a biomarker specifici come le "hyperreflective walls", sarà un passo avanti decisivo nell'imaging tomografico per migliorare la diagnosi e il timing terapeutico, farmacologico e chirurgico, per molte patologie neuro-corio-retiniche.

Jing Zou et al. hanno condotto uno studio, recentemente pubblicato, per individuare la correlazione tra membrane epiretinali ERM Epiretinal Membrane e VA (Fig. 9). I risultati dei 105 pazienti esaminati

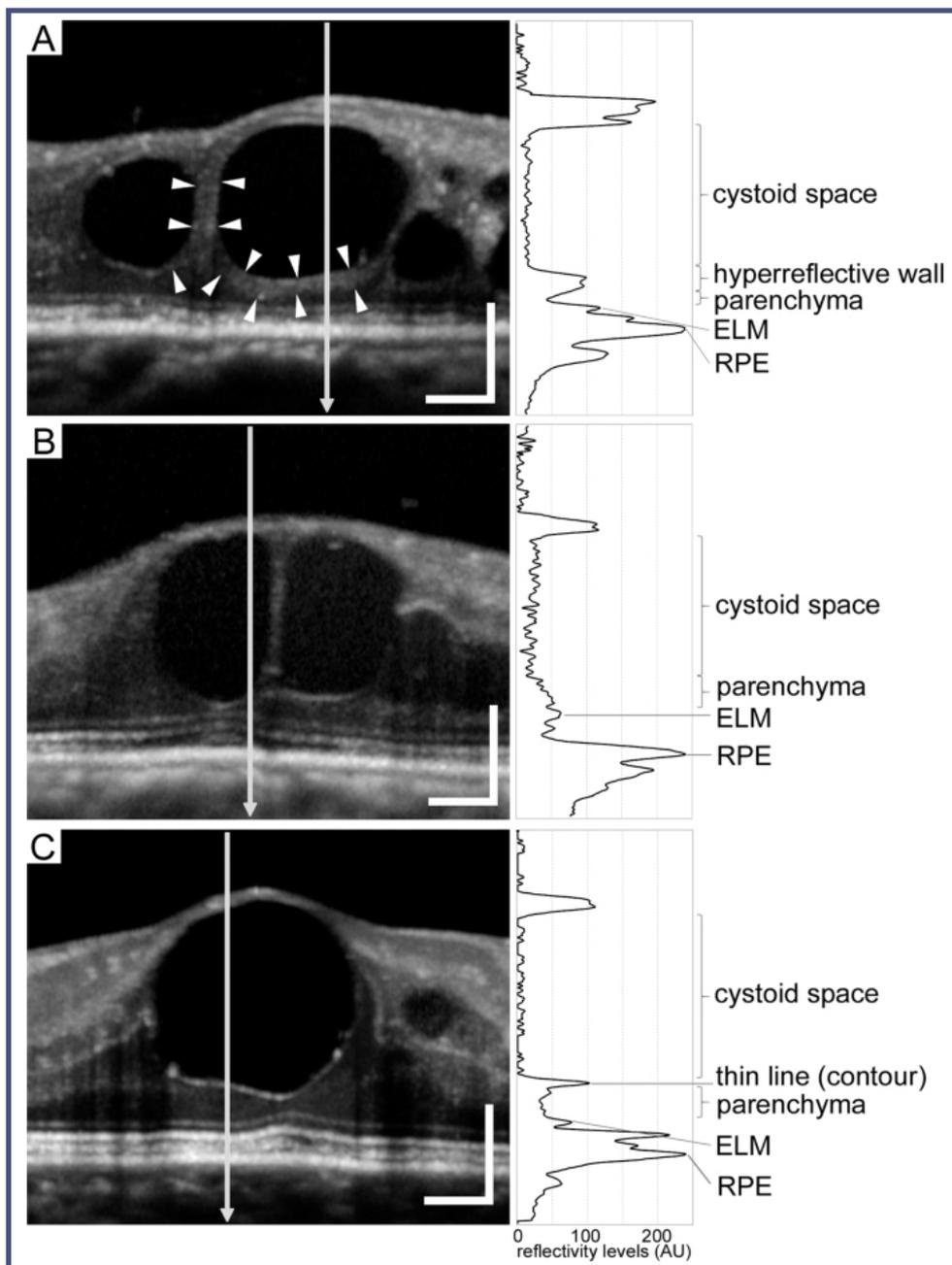


Fig. 8 - Patterni riflettenti nelle cavità cistiche in DME. Le cavità cistiche sono composte da bande ispessite e iperreflettenti (A), parenchima retinico (B), pareti cistiche sottili ed iperreflettenti (C). La colonna di destra indica il livello di riflettanza lungo la freccia che taglia verticalmente l'imaging di sinistra; è stato utilizzando il "Plot Profile" function in Image version 1.52 software (NIH, Bethesda, MD). Scale bar = 200 μ m.

(by Noriko Terada et al. Scientific Reports | (2020) 10:7299 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64332-6>).

indicano che quasi tutti gli strati retinici sono interessati dagli effetti trattivi delle ERM nell'area maculare. Tutti i pazienti sono stati scannerizzati con SD-OCT a 512×128 scan nei 6×6 mm in macula (Carl Zeiss Meditec Inc, Dublin, CA, USA). I risultati del loro studio con l'analisi lineare di regressione multipla mostra che lo spessore dello strato INL in area foveale, parafoveale e perifoveale era associato alla VA in tutti i 105 pazienti esaminati ($R^2 = 0.344$, $P < 0.001$; $R^2 =$

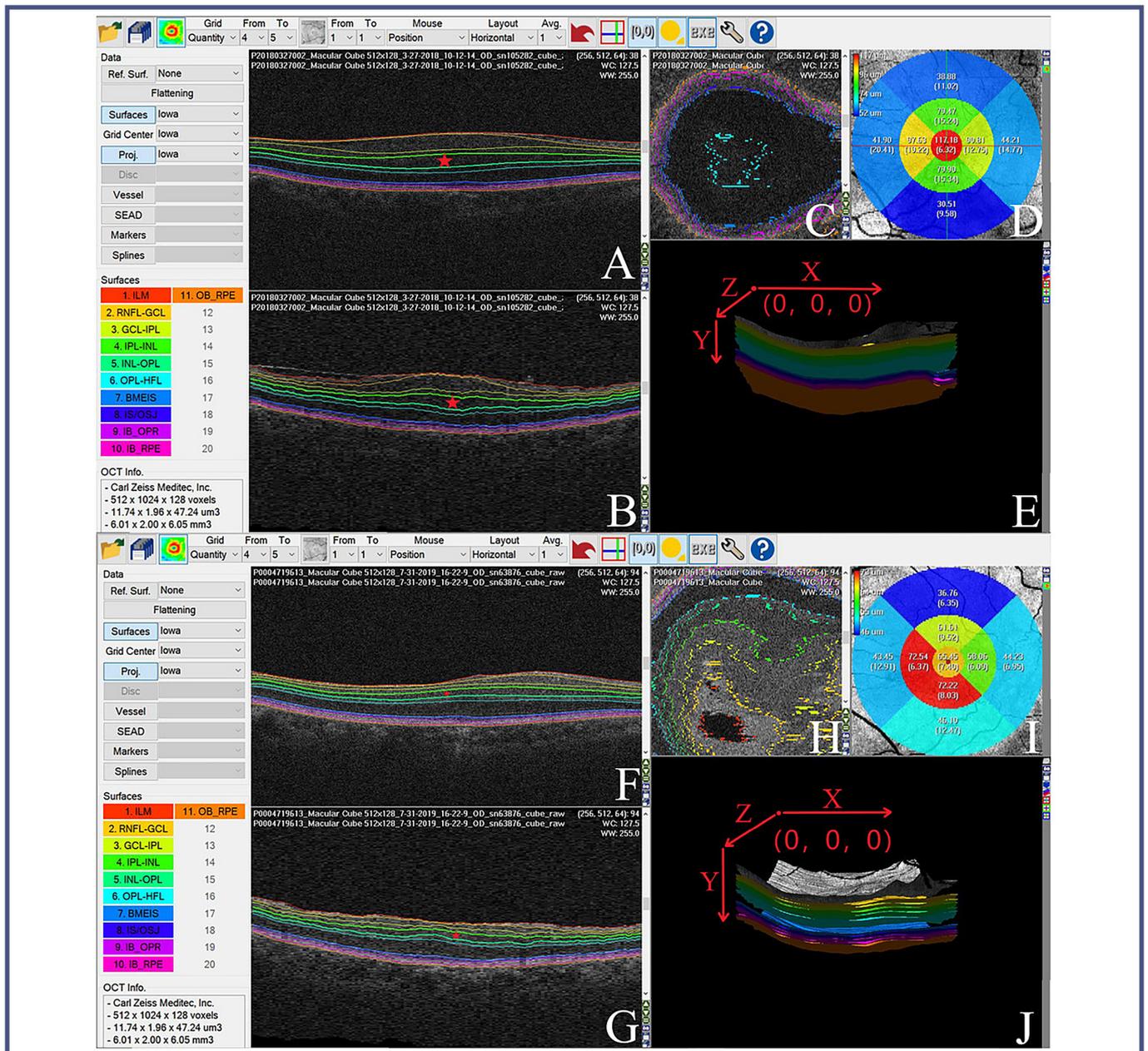


Fig. 9 - Gli autori utilizzano l'algoritmo Iowa Reference per segmentare e misurare lo spessore degli strati retinici con OCT in un paziente con ERM prima e dopo intervento. La INL è significativamente più sottile dopo chirurgia.

- (A) Imaging pre-operatorio B scan OCT XY. L'algoritmo utilizzato segmenta automaticamente i limiti nell'imaging OCT e colora le linee di separazione tra strati adiacenti. Gli strati retinici dalla superficie retinica interna a quella esterna sono così identificati: retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL), outer plexiform layer (OPL), outer nuclear layer (ONL), photoreceptor inner/outer segments (IS/OS), outer segment (OS), e retinal pigment epithelium (RPE). La stella rossa a cinque punte nell'imaging OCT rappresenta lo strato INL.
- (B) Imaging OCT B-scan ZY pre-operatorio. Le linee colorate rappresentano l'interfaccia tra due adiacenti strati retinici; gli strati sono così identificati: RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IS/OS, OS e RPE. La stella rossa a cinque punte nell'imaging OCT rappresenta lo strato INL.
- (C) Imaging OCT XZ pre-operatorio. Le linee colorate rappresentano le interfacce tra due strati retinici adiacenti.
- (D) Media dello spessore INL in ciascun sottogruppo.
- (E) Imaging 3D OCT e suo orientamento nei piani X, Y e Z.
- (F) Imaging OCT B scan post-operatorio. Le linee colorate rappresentano l'interfaccia tra due adiacenti strati retinici; gli strati sono così identificati: RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IS/OS, OS e RPE. La stella rossa a cinque punte rappresenta nell'imaging OCT lo strato INL.
- (G) Imaging OCT ZY post-operatorio. Gli strati retinici sono così individuati: RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IS/OS, OS e RPE. La stella rossa a cinque punte rappresenta nell'imaging OCT lo strato INL.
- (H) Imaging OCT ZY post-operatorio. Le linee colorate rappresentano l'interfaccia tra due adiacenti strati retinici.
- (I) Imaging OCT dello spessore retinico medio INL in ciascun sottogruppo nel post-operatorio.
- (J) Imaging OCT 3D e suo orientamento nei piani X, Y e Z. (modificato da Jing Zou et al. (2020), PeerJ, DOI 10.7717/peerj.9481).

0.427, $P < 0.001$; e $R^2 = 0.340$, $P < 0.001$, rispettivamente). I 31 pazienti operati mostravano a sei mesi un decremento significativo dello spessore ($P \leq 0.012$) nelle aree foveali per gli strati INL, inner plexiform layer (IPL), e outer nuclear layer (ONL); per la parafoveal retinal nerve fiber layer (RNFL), IPL, INL, e ONL; per la perifoveal RNFL, IPL, INL, ganglion cell layer (GCL), outer plexiform layer (OPL), e photoreceptor layer (PRL). Gli autori hanno trovato una debole relazione tra VA post-operatorio e lo spessore RNFL pre-operatorio in area foveale e perifoveale ($r = 0.404$ e $r = 0.359$, rispettivamente); una correlazione moderata è stata invece ritrovata tra VA post-operatorio e lo spessore pre-operatorio INL in area foveale e parafoveale ($r = 0.529$ e $r = 0.583$, rispettivamente) nei 31 pazienti sottoposti a chirurgia ($P \leq 0.047$). Infine lo spessore dello strato INL in area foveale, parafoveale e perifoveale mostra una correlazione moderata/forte con il visus ($r = 0.507$, 0.644 , and 0.548 , rispettivamente), con un

aumento della VA \geq di 2 linee nei pazienti operati ($P \leq 0.038$). Gli autori concludono evidenziando la positiva correlazione tra lo spessore di INL in area foveale, parafoveale, perifoveale e VA nel periodo pre-operatorio, e VA dopo vitrectomia, indicandolo come soddisfacente marker predittivo e prognostico per ERM [33].

Anche per questa patologia l'intento è stato trovare markers retinici predittivi per la VA. La ricerca della dipendenza struttura retinica /funzione visiva sarà in futuro sempre più presente con l'utilizzo degli OCT/OCTA.

Arrivare ad una diagnosi tomografica, per quanto possibile "cellulare", è la strada giusta per migliorare l'inquadramento clinico e indirizzare l'azione chirurgica. Ulteriore passo avanti sarà predisporre, in base ai dati tomografici, il timing operatorio, interpretare i dati strutturali in un'ottica funzionale, dinamica, inquadrare ogni segno angio-tomografico oltre le mere varianze di riflettività strutturale e di densità vascolare. ■

REFERENCES

- 1) Maria Salud García-Gutiérrez, Francisco Navarrete, Francisco Sala. Biomarkers in Psychiatry: Concept, Definition, Types and Relevance to the Clinical Reality. *Psychiatry*, 15 May 2020 <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2020.00432>.
- 2) Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* (2001) 69(3):89–95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989.
- 3) https://it.wikipedia.org/wiki/National_Institutes_of_Health.
- 4) Robert L Holland. What makes a good biomarker? *Advances in Precision Medicine*, vol 1, issue 1, 2016.
- 5) Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. The Relationship between OCT-measured Central Retinal Thickness and Visual Acuity in Diabetic Macular Edema. *Ophthalmology*. 2007 March; 114(3):525–536. doi:10.1016/j.ophtha.2006.06.052.
- 6) Neil M. Bressler, Allison R. Edwards, Andrew N. Antoszyk, Roy W. Beck, David J. Browning, Antonio P. Ciardella, Ronald P. Danis, Michael J. Elman, Scott M. Friedman, Adam R. Glassman, Jeffrey G. Gross, Helen K. Li, Timothy J. Murtha, Thomas W. Stone, and Jennifer K. Sun. Retinal Thickness on Stratus Optical Coherence Tomography in People with Diabetes and Minimal or No Diabetic Retinopath. *Am J Ophthalmol*. 2008 May;145(5):894–901.
- 7) Michèle Augsburger & Gian-Marco Sarra & Pascal Imesch. Treat and extend versus pro re nata regimens of ranibizumab and aflibercept in neovascular age-related macular degeneration: a comparative study. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* (2019) 257:1889–1895 <https://doi.org/10.1007/s00417-019-04404-0>.
- 8) Aronson JK. Biomarkers and surrogate endpoints. *Br J Clin Pharmacol*.2005;59:491–4.
- 9) Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med*. 1965;58:295.
- 10) Ronald P Danis, Srinivas Sadda, Jenny Jiao, Xiao-Yan Li, Scott M Whitcup. Relationship between retinal thickness and visual acuity in eyes with retinal vein occlusion treated with dexamethasone implant. *Retina*. 2016 Jun;36(6):1170-6. doi: 10.1097/IAE.0000000000000851.
- 11) Buyse M, Sargent DJ, Grothey A, Matheson A, De Gramont A. Biomarkers and surrogate end points—the challenge of statistical validation. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7:309–17.
- 12) Prateep Phadikar, Sandeep Saxena, Surabhi Ruia, Timothy Y. Y. Lai, Carsten H. Meyer and Dean Elliott. The potential of spectral domain optical coherence tomography imaging based retinal biomarkers. Phadikar et al. *Int J Retin Vitro* (2017) 3:1 DOI 10.1186/s40942-016-0054-7.
- 13) Luis Jáñez-Escalada, Lucía Jáñez-García, Elena Salobar-García, Alejandro Santos-Mayo, Rosa de Hoz, Raquel Yubero, Pedro Gil & José M. Ramírez. Spatial analysis of thickness changes in ten retinal layers of Alzheimer's disease patients based on optical coherence tomography. *Scientific Reports* (2019)9:13000. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49353-0>.

segue →

REFERENCES

- 14) Mohammad Hossein, Jabbarpoor Bonyadi, Ahmadreza Baghi, Alireza Ramezani, Mehdi Yaseri, Masoud Soheilian. Correlation of Macular Thickness and Visual Acuity in DME Treated by Two Doses of Intravitreal Ziv-Aflibercept Versus Bevacizumab: Analysis of a Randomized, Three-Armed Clinical Trial. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2019 Nov 1;50(11):684-690. doi: 10.3928/23258160-20191031-03.
- 15) Sun, J. K. et al. Disorganization of the Retinal Inner Layers as a Predictor of Visual Acuity in Eyes With Center-Involved Diabetic Macular Edema. *JAMA Ophthalmol*. 132, 1309 (2014).
- 16) Scott, I. U. et al. SCORE Study Report 1: Baseline Associations between Central Retinal Thickness and Visual Acuity in Patients with Retinal Vein Occlusion. *Ophthalmology* 116, 504–512 (2009).
- 17) Nussenblatt, R. B., Kaufman, S. C., Palestine, A. G., Davis, M. D. & Ferris, F. L. Macular Thickening and Visual Acuity. *Ophthalmology* 94, 1134–1139 (1987).
- 18) Provis, J. M., Dubis, A. M., Maddess, T. & Carroll, J. Adaptation of the central retina for high acuity vision: Cones, the fovea and the avascular zone. *Prog. Retin. Eye Res*. 35, 63–81 (2013).
- 19) Stanley Poh, Yih-ChungTham, Miao Li Chee, Wei Dai, Shivani Majithia, Zhi Da Soh, Eva K. Fenwick, YijinTao, SahilThakur, Tyler Hyungtaek Rim, Charumathi Sabanayagam & Ching-Yu Cheng. Association between Macular Thickness Profiles and Visual Function in Healthy Eyes: The Singapore Epidemiology of Eye Diseases (SEED) Study. *Scientific Reports* (2020) 10:6142. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63063-y>.
- 20) Subhi, Y., Henningsen, G. Ø., Larsen, C. T., Sørensen, M. S. & Sørensen, T. L. Foveal Morphology Affects Self-Perceived Visual Function and Treatment Response in Neovascular Age-Related Macular Degeneration: A Cohort Study. *PLoS ONE* 9, e91227 (2014).
- 21) Provis, J. M., Dubis, A. M., Maddess, T. & Carroll, J. Adaptation of the central retina for high acuity vision: Cones, the fovea and the avascular zone. *Prog. Retin. Eye Res*. 35, 63–81 (2013).
- 22) Yi-Ting Hsieh, MD, Minhaj Nur Alam, David Le, Chia-Chieh Hsiao, Chang-Hao Yang, Daniel L. Chao, Xincheng Yao. OCT Angiography Biomarkers for Predicting Visual Outcomes after Ranibizumab Treatment for Diabetic Macular Edema. *Ophthalmol Retina*. 2019 October; 3(10): 826–834. doi:10.1016/j.oret.2019.04.027.
- 23) Lattanzio R, Cicinelli MV, Bandello F. Intravitreal steroids in diabetic macular edema. *Dev Ophthalmol*. 2017;60:78–90. [PubMed: 28427068].
- 24) Douvali M, Chatziralli IP, Theodosiadis PG, et al. Effect of macular ischemia on intravitreal ranibizumab treatment for diabetic macular edema. *Ophthalmologica*. 2014;232: 136–143.[PubMed: 25171753].
- 25) Serizawa S, Ohkoshi K, Minowa Y, Soejima K. Interdigitation zone band restoration after treatment of diabetic macular edema. *Curr Eye Res*. 2016;41:1229–1234. [PubMed: 26828673].
- 26) Moein HR, Novais EA, Rebhun CB, et al. Optical coherence tomography angiography to detect macular capillary ischemia in patients with inner retinal changes after resolved diabetic macular edema. *Retina*. 2018;38:2277–2284. [PubMed: 29068912].
- 27) Durbin MK, An L, Shemonski ND, et al. Quantification of retinal microvascular density in optical coherence tomographic angiography images in diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2017;135:370–376. [PubMed: 28301651].
- 28) Noriko Terada, Tomoaki Murakami, Akihito Uji, Yoko Dodo, Yuki Mori & Akitaka Tsujikawa. Hyperreflective Walls in Foveal Cystoid Spaces as a Biomarker of Diabetic Macular Edema Refractory to Anti-VEGF Treatment. *Scientific Reports* 1 (2020) 10:7299 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64332-6>.
- 29) Tso, M. O. Pathology of cystoid macular edema. *Ophthalmology*. 89, 902–915 (1982).
- 30) Imai, H., Otsuka, K., Tetsumoto, A., Miki, A. and Nakamura, M. Effectiveness of En Bloc Removal of Fibrinogen-Rich Component of Cystoid Lesion for the Treatment of Cystoid Macular Edema. *Retina*. (2018).
- 31) Mizutani, M., Gerhardinger, C. & Lorenzi, M. Muller cell changes in human diabetic retinopathy. *Diabetes*. 47, 445–449 (1998).
- 32) Wynn, T. A. & Ramalingam, T. R. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med*. 18, 1028–1040 (2012).
- 33) Jing Zou, Wei Tan, Wenlong Huang, Kangcheng Liu, Fangling Li and Huizhuo Xu. Association between individual retinal layer thickness and visual acuity in patients with epiretinal membrane: a pilot study. Zou et al. (2020), *PeerJ*, DOI 10.7717/peerj.9481.