

МИКРОСТРУКТУРЕН АНАЛИЗ НА РЕТИНАЛНИТЕ ДЕБЕЛИНА И ВАСКУЛАТУРА В МАКУЛАТА НА ЗДРАВИ ОЧИ С ОПТИЧНА КОХЕРЕНТНА ТОМОГРАФИЯ (ОСТ) И ОСТ АНГИОГРАФИЯ

Дарина Косева¹, Зорница Златарова^{1,2}

¹СБОБАЛ, Варна, Медицински университет – Варна

²Катедра по очни болести и зрителни науки, Факултет по медицина, Медицински университет – Варна

MICROSTRUCTURAL ANALYSIS OF RETINAL MACULAR THICKNESS AND VASCULATURE IN HEALTHY INDIVIDUALS USING OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY (OCT) AND OCT-ANGIOGRAPHY

Darina Koseva¹, Zornitsa Zlatarova^{1,2}

¹Specialized Eye Hospital - Varna

²Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Faculty of Medicine, Medical University of Varna

Адрес за кореспонденция:

Дарина Косева
СБОБАЛ _ Варна
ул. Доуран 15
9002 Варна
e-mail: darikoseva@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цел: Да се изследват дебелината на слоя на ганглийните клетки и на вътрешния плексиформен слой (GCL+IPL) в макулата, дебелината на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител (ILM-RPE) в макулата, както и параметрите на фовеалната аваскуларна зона (FAZ), включително съдова/перфузионна плътност (FAZ Vessel Density, FAZ Perfusion density) при здрави индивиди. Да се оцени влиянието на пола и възрастта върху тези параметри.

Материали и методи: В проучването са включени 122 очи на 63 души, без очно заболяване, на възраст от 6 до 78 г., със зрителната острота без или със корекция, равна на 1.0. Изследването е направено с апарата ZEISS CIRRUS HD-OCT. Използвани са протоколите за „Анализ на ганглийните клетки“, „Анализ на макулната дебелина“ и системата AngioPlex™ OCT ангиография.

Резултати: Установената средна дебелина на комплекса ганглийни клетки и вътрешен плексиформен слой (GCL+IPL) в макулата е $81,80 \pm 7,81$ μm . Средната дебелина на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител (ILM-RPE) в областта на макулата е $283,13 \pm 13,04$ μm .

Средната и минималната GCL+IPL дебелини в макулата, дебелината на ILM-RPE в макулата и средният обем на макулния куб показват статистически значима отрицателна корелация с възрастта. При женския пол средната GCL+IPL дебелина в макулата е статистически значимо по-висока. Не се откри статистически значима зависимост между половете и средната дебелина на ILM-RPE в макулата и средния обем на макулния куб. Средната дебелина на ILM-RPE в централното подполе на макулната област показва статистически значима положителна зависимост с мъжкия пол.

Установената средна площ на фовеоларната аваскуларна зона (FAZ) е $0,245 \pm 0,1$ mm^2 , а средната съдова плътност в централната FAZ е $9,36 \pm 3,12$ mm^{-1} , като средно в цялата фовеоларна аваскуларна зона е $17,34 \pm 2,18$ mm^{-1} . Средната перфузионна плътност във FAZ е $42 \pm 5\%$. Площта на FAZ и периметърът на FAZ показват отрицателна, но не статистически значима корелация с възрастта и положителна статистически значима връзка с женския пол.

Заключение: Резултатите от това проучване предоставят нормативна база данни за параметрите на макулата, измерими с OCT и OCTA при здрави индивиди, което е необходимо за ранна диагностика и оценка на патологичните промени при различни заболявания на ретината

Ключови думи: макула, FAZ, OCT-A

Address for correspondence:

Darina Koseva
Specialized Eye Hospital – Varna
15 Doyran St.
9002 Varna
e-mail: darikoseva@gmail.com

ABSTRACT

Aim: The aim of this article is to generate the normative data of macular ganglion cell layer-inner plexiform layer (GCL+IPL) thickness, macular internal limiting membrane-retinal pigment epithelium (ILM-RPE) thickness, as well as foveal avascular zone (FAZ) metrics, including FAZ vessel density and FAZ perfusion density in healthy individuals. It aimed to evaluate the influence of gender and age over these parameters.

Materials and Methods: A total of 122 eyes of 63 healthy individuals aged between 6 and 78 years, with no ocular disease and best corrected visual acuity of 20/20, were scanned using ZEISS CIRRUS HD-OCT. The protocols used in the study were macular thickness analysis, ganglion cell analysis and the AngioPlex OCT angiography scan, which allows visualization of retinal and choroidal vasculature without the need for contrast dye injection.

Results: The mean thickness of the complex GCL+IPL in the macula was $81.80 \pm 7.81 \mu\text{m}$. The mean thickness of the retina from ILM-RPE in the macular area was $283.13 \pm 13.04 \mu\text{m}$.

The mean and the minimum GCL+IPL thickness in the macula, ILM-RPE thickness in the macular area and the average volume of the macular cube showed significant negative correlation with age. In females the mean GCL+IPL thickness in the macula was significantly higher. We have not found significant correlation between genders and the mean ILM-RPE thickness in the macular area and the average volume of the macular cube. ILM-RPE mean thickness in the central subfield of the macular area showed significant positive correlation with male gender.

The average area of FAZ was $0.245 \pm 0.1 \text{mm}^2$. The mean vascular density in the central FAZ was $9.36 \pm 3.12 \text{mm}^{-1}$, and the average of the entire FAZ was $17.34 \pm 2.18 \text{mm}^{-1}$. The average perfusion density in FAZ was $42 \pm 5\%$. FAZ area and FAZ perimeter showed negative but not significant correlation with age and significant positive correlation with female gender.

Conclusion: Our findings provide normative database for macular parameters in healthy individuals, which is important for early diagnosis and evaluation of pathological changes in various retinal diseases.

Keywords: macula, FAZ, OCT-A

ВЪВЕДЕНИЕ

През последните години са разработени редица компютризирани методики за изобразяване и количествени измервания на ретиналната морфология и дебелини. Една от тези методики е оптичната кохерентна томография (optical coherence tomography – OCT). OCT бързо се наложи в офталмологията като образно изследване, широко използвано за диагностика и проследяване на ретинални заболявания и глаукома (1). OCT е неинвазивно безконтактно изследване, което осигурява напречносрезови изображения с висока резолюция на роговица, ретина, хориоидея и папила на зрителния нерв, които са аналогични на хистологичния срез на тези структури. Спектър-домейн OCT използва спектрометър, за да открие едновременно относителните амплитуди на многото оптични честоти в отразената от тъканта светлина. Това позволява по-бързото добиване на изображения с по-висока резолюция (2). Иновациите в OCT технологиите, свързани с техниката на улавяне на сигнала,

INTRODUCTION

Optical coherence tomography (OCT) is one of the various digital imaging techniques that have been developed to bring objective quantitative calculation of retinal layer thickness and anatomy. OCT has very quickly arisen as a broadly used imaging system in modern ophthalmology. The method is usually used for diagnosing and following diverse retinal pathologies and glaucoma (1). OCT is a method that provides image of the cornea, retina, choroid and optic nerve. It is cross-sectional and corresponding to that of a histological section. Spectral-domain (SD) OCT creates high-resolution images with high rapidity as a result of using a spectrometer detecting the relative amplitudes of many optical frequencies within the backscattered light simultaneously (2). The signal detection technique in OCT technology has had recent progress in development. The transition from time-domain (TD) to SD detection has permitted us to analyze various retinal layers more precisely. SD-OCT outlines better and faster anatomical changes and small lesions in the separate retinal layers (3). OCT has allowed the ophthalmologists to analyze the

от време-домейн ОСТ (time-domain – TD) до спектралната ОСТ (spectral-domain – SD) ни дават възможността да изучаваме отделните ретинални слоеве по-прецизно и за по-малко време. На SD-ОСТ изображенията по-добре се разграничават структурните промени и малките лезии в различните слоеве на ретината (3). ОСТ позволява измерването на дебелините на специфични ретинални слоеве – слой на ганглийните клетки, вътрешен плексиформен слой, централна дебелина на ретината, което дава полезна информация, нужна за диагностицирането и мониторирането на множество очни заболявания.

В последните години ОСТ технологиите претърпяват нови революционни иновации. Най-важната от всички тях е ОСТ ангиографията (ОСТ-А). ОСТ-А вече има важна роля в клиничната офталмология като нов, неинвазивен диагностичен метод, който не се нуждае от инжектиране на контрастна материя и може да допълни и дори в някои случаи да замести флуоресцеиновата ангиография (4). ОСТ-А анализира не само интензитета на отразения сигнал, но и промените във времето на отражението, причинени от движещите се частици (еритроцити), преминаващи през съдовете. Тези промени в ОСТ сигнала, измерени чрез многократно заснемане на ОСТ изображения (В-сканиране) във всяка точка на ретината, позволяват създаването на контрастно изображение между перфузираните съдове и околните тъкани, които не показват времеви промени в ОСТ сигнала поради липсата на движение в тях (5).

Фовеоларната аваскуларна зона (FAZ) е област от ретината в центъра на фовеята, която е лишена от капилляри. Ролята на FAZ и нейните показатели е проучена задълбочено и е установено, че размерът на FAZ е тясно свързан със зрителната острота и може да бъде измерен с добра повторяемост и възпроизводимост от ОСТ-А (6).

По-ранни проучвания, използващи SD-ОСТ при здрави очи, съобщават за промени в профила на ретиналните слоеве във връзка с фактори като възраст и пол (7,8,9). Няколко изследвания сочат, че има зависимост между възрастта и FAZ (10,11).

Няма публикувани изследвания, предоставящи нормативна база данни за измеримите с ОСТ и ОСТ-А параметри в макулата сред българското население, извършени с ZEISS CIRRUS HD-OCT.

ЦЕЛ

Целта на настоящото проучване е да генерира нормативна база данни за дебелината на комплекса ганглиен клетъчен слой и вътрешен плексиформен слой в макулата (GCL+IPL), дебелината на макулата от вътрешна гранична мембрана до ретиналния пигментен епител (ILM-RPE), както и за показателите на фовеоларната аваскуларна зона, включително плътност на съдовете във FAZ и перфузионна плътност във FAZ при здрави индивиди. Да се оцени влиянието на пола и възрастта върху тези параметри.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В проучването са изследвани 122 очи на 63 души между октомври 2018 г. и август 2019 г. Тридесет и шест от

thickness of specific retinal layers – ganglion cell layer, inner plexiform layer, internal limiting membrane, and retinal pigment epithelium. The results from this examination are beneficial for diagnosing ocular conditions and monitoring their evolution in time.

OCT angiography (OCT-A) has been an important progressive improvement of the OCT technology. By now OCT-A has already become an essential function in clinical ophthalmology. OCT-A is a modernized, non-invasive application of optical coherence tomography, which detects changes in reflectivity within retinal tissue. As a dyeless diagnostic device it serves as an addition to, or even a substitute for fluorescein angiography (4). OCT-A regularly captures OCT images (B-scans) at every point of the retina and evaluates not only the force of the returned signal but also the time differences in the reflection caused by the movable blood cells-erythrocytes running through the vessels. This allows the formation of an image contrast between the perfused blood vessels and the surrounding tissues (5). The fovea is surrounded by an area empty of retinal capillaries called foveal avascular zone (FAZ). The function of FAZ and its metrics in eyesight has been studied widely. It has been found, using OCT-A, that the dimensions of FAZ were closely related to vision and can be determined with good repeatability and reproducibility (6).

Earlier studies using SD-OCT in healthy eyes reported changes in the retinal layer profile in relation to factors such as age and sex (7,8,9). Several reports suggest that there is a correlation between age and FAZ (10,11).

There are no published studies providing normative data on ZEISS CIRRUS HD-OCT in the Bulgarian population.

AIM

The purpose of our study was to generate normative database of macular ganglion cell layer- inner plexiform layer (GCL+IPL) thickness, macular internal limiting membrane-retinal pigment epithelium (ILM-RPE) thickness, as well as FAZ metrics, including FAZ vessel density and FAZ perfusion density in healthy individuals. It aimed to evaluate the influence of gender and age over these parameters.

MATERIALS AND METHODS

This study recruited 122 eyes of 63 consecutive patients examined between October 2018 and August 2019. All subjects were from the Bulgarian population, 36 females (70 eyes) and 27 males (52 eyes). The participants received a complete explanation about the study and signed an informed consent form. After a review of medical and family history all subjects underwent thorough ophthalmic evaluation, which included best-corrected visual acuity (BCVA) testing, slit lamp biomicroscopy, fundus examination, OCT and OCT-A. All healthy subjects were between 6 and 78 years old and had clear ocular media, no history of intraocular pressure (IOP) exceeding 21 mmHg, no ocular disease and BCVA of 20/20. Exclusion criteria were current ocular disease, high myopia or hyperopia, clinically relevant opacities of the optic media, low-quality images due to unstable fixation, or severe cataract.

Patients were scanned using Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA). The protocols used in the study were macular thickness analysis, ganglion cell analysis and AngioPlex OCT-A scan.

At OCT scans macular GCL+IPL thickness and macular ILM-RPE thickness were completed automatically and were interpreted by OCT

Microstructural analysis of retinal macular thickness and vasculature in healthy individuals using optical coherence tomography (OCT) and OCT-Angiography

участниците са жени (70 очи) и 27 са мъже (52 очи) на възраст между 6 и 78 години. Участниците са подробно запознати с проучването и са подписали формуляр за информирано съгласие. След снемане на медицинска и фамилна анамнеза всички субекти са преминали щателен офталмологичен преглед, който включва коригирана зрителна острота (BCVA), биомикроскопия, изследване на очно дъно, оптична кохерентна томография и OCT-A. Всички здрави индивиди са с прозрачни очни среди, най-добре коригирана зрителна острота 20/20. Изследваните са без анамнеза за ВОН над 21 mmHg, без очно заболяване. Критериите за изключване са настоящо очно заболяване, високо късогледство или далекогледство, клинично значими помътнявания на очните среди и изображения с ниско качество поради нестабилна фиксация. Пациентите са изследвани с апарат на Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Дъблин, Калифорния, САЩ). Протоколите,

software. In all OCT maps, macular layer thickness detection was performed automatically by device software analysis without manual intervention of the person who operates the machine.

GCL+IPL thickness was measured using the ganglion cell analysis protocol with 6.0 x 6.0 mm volume cube scans, 512x128 pixel scan resolution, presenting quantitative and qualitative evaluation of them. An image of the posterior segment of the eye displayed maps for GCL+IPL thickness and the elliptical measurement annulus was centered about the fovea. The thickness chart showed median and minimal thickness within the elliptical annulus.

Based on the 6 mm x 6 mm data cube captured by the Macular Cube 512x128 pixel scan resolution, the macular thickness analysis permitted analysis concerning retinal qualities as well as retinal quantitative metrics.

The slice navigator enabled simultaneous representation of a chosen spot on line scanning ophthalmoscope (LSO) image, OCT fundus

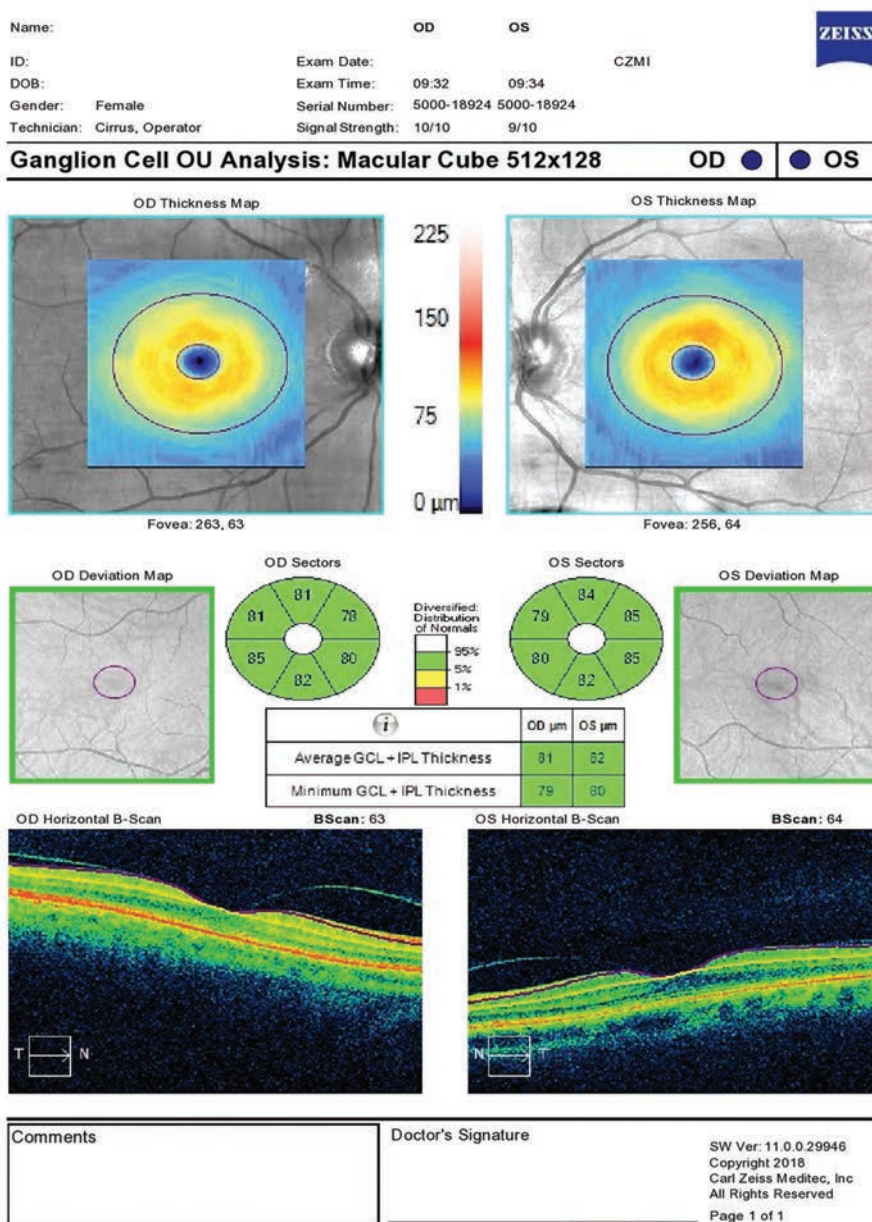


Fig. 1. Ganglion cell OU analysis protocol

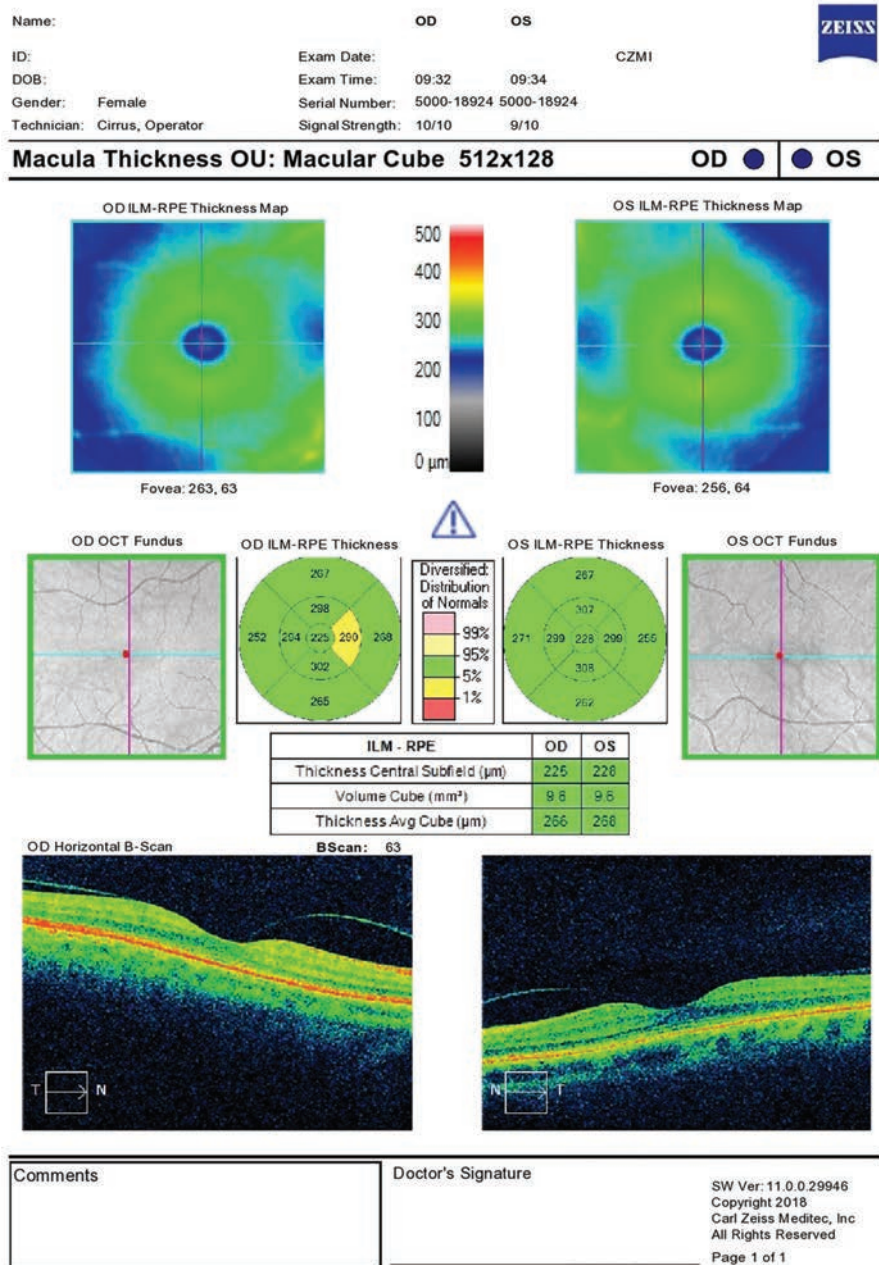


Fig. 2. Macular thickness OU analysis protocol

използвани в изследването, са „Анализ на макулната дебелина“, „Анализ на ганглийните клетки“ и системата AngioPlex™ OCT-A. При OCT сканирането дебелината на слоя ганглийни клетки и на вътрешния плексиформен слой в макулата (GCL+IPL), както и дебелината на ретината от вътрешна гранична мембрана до ретиналия пигментен епител в областта на макулата (ILM-RPE) са определени автоматично и анализирани от OCT софтуер. Във всички OCT карти измерването на дебелината на макулните слоеве се извършва автоматично чрез софтуерен анализ, без ръчна настройка от оператора.

Дебелината на слоя ганглийни клетки и на вътрешния плексиформен слой (GCL+IPL) се измери с помощта на протокол „Анализ на ганглийните клетки“ с куб на сканиране

image, retinal thickness map, layer maps, and OCT image displays. The ETDRS grid (9 regions defined in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) was automatically centered on the fovea with Fovea Finder™. Retinal thickness values, from ILM to RPE, in microns were displayed.

AngioPlex OCT-A allows visualization of retinal and choroidal vasculature without the requirement for contrast dye introduction into the bloodstream. AngioPlex Metrix measurements for the superficial retinal plexus, including vessel/perfusion density and FAZ parameters, were done for 6 x 6 mm scans. Vessel density is the complete length of perfused vasculature per unit area in the measured region; perfusion density is the total area of perfused vasculature per unit area in the measured region.

В обем 6,0x6,0 мм, разделителна способност на сканиране 512x128 пиксела. Картите за GCL+IPL дебелини са наложени върху изображението на очното дъно. Показан е и елипсовидният измервателен пръстен, съсредоточен около фовеята. Таблицата за дебелините показва средна и минимална дебелина в рамките на елипсовидния пръстен.

Въз основа на куб за сканиране в обем 6x6 мм, заснет с разделителна способност 512x128 пиксела, протоколът „Анализът на макулната дебелина“ осигурява качествена и количествена оценка на ретината. На протокола се визуализира изображението от линейния сканиращ офталмоскоп (LSO) с наслагване на карта на дебелината на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител (ILM-RPE). ETDRS решетка (9 области, дефинирани в проучването за ранно лечение на диабетна ретинопатия) автоматично се центрира върху фовеята с Fovea Finder™. Показани са стойностите на дебелината на ретината, от ILM до RPE, в микрони.

AngioPlex OCT-A позволява визуализация на ретиналната васкулатура, без да е необходимо инжектиране на контрастна материя. Измерванията на AngioPlex Metrix за повърхностната ретинална съдова мрежа, включително плътност и перфузия на съдовете и параметри на фовеалната аваскуларна зона (FAZ), са измерени за 6 x 6 мм сканиране. Плътността на съдовете е общата дължина на перфузирана васкулатура на единица площ в района на измерването; перфузионна плътност е общата площ на перфузирана васкулатура на единица площ в областта на измерването.

Връзката между измерените макулни параметри и възрастта на изследваните е отчетена чрез корелационен анализ на Pearson. Зависимостта между проучваните параметри и пола е изследвана с независим пробен t-тест или ANOVA. Резултатите са приети за статистически значими при $p < 0,05$.

Associations between macular measurements and age were examined by Pearson's correlation analysis. Age-stratified comparisons of all macular and retinal nerve measurements between genders were carried out using independent sample t-test or ANOVA. The results were considered to be statistically significant at $p < 0.05$.

All analyses were performed with SPSS software, version 19.0.

RESULTS

One hundred twenty-two eyes of sixty-three normal subjects at a mean age of 46 ± 18 years (from 6 to 78 years old) were included in the study (27 men – 43%; 36 women – 57%).

The mean thickness of GCL+IPL in the macula was $81.80 \pm 7.81 \mu\text{m}$, and the minimum thickness was $78.97 \pm 10.05 \mu\text{m}$. The mean thickness of the retina from ILM to RPE in the macular area was $283.13 \pm 13.04 \mu\text{m}$, with an average volume of the macular cube of $10.19 \pm 0.47 \text{ mm}^3$. The mean thickness of ILM-RPE in the central subfield of the macular area was $259.3 \pm 22.88 \mu\text{m}$.

The influence of age and gender over these parameters was evaluated. The mean and the minimum GCL + IPL thickness in the macula showed significant negative correlation with age ($p = 0.005$, $p = 0.003$). In females the mean GCL+IPL thickness in the macula was significantly higher ($p = 0.024$). The mean macular GCL+IPL thickness in males was $79.96 \mu\text{m}$ and in females it was $83.17 \mu\text{m}$. The mean ILM-RPE thickness in the macular area and the average volume of the macular cube also showed significant negative correlation with age ($p = 0.022$, $p = 0.019$). We have not found significant correlation between genders and the mean ILM-RPE thickness in the macular area and the average volume of the macular cube ($p = 0.214$, $p = 0.211$), but ILM-RPE mean thickness in the central subfield of the macular area showed significant positive correlation with male gender - the mean was measured to be $265 \mu\text{m}$ in males and $255.07 \mu\text{m}$ in females ($p = 0.017$).

Upon analysis of the data obtained from the OCT-A, it was found that the average area of FAZ was $0.245 \pm 0.1 \text{ mm}^2$ and its perimeter was $2.021 \pm 0.49 \text{ mm}$. The established mean vascular density in the

Table 1. Mean values for the measured retinal thicknesses in different age groups

Age Groups in Years	Average GCL+IPL Thickness in μm	Minimum GCL+IPL Thickness in μm	ILM-RPE Thickness Central Subfield in μm	Thickness Average Cube ILM-RPE in μm	Volume Cube in mm^3
0-20	84.22	82.66	253	289.22	10.42
21-40	83.93	81.90	253.9	286.81	10.33
41-60	81.85	78.51	261.61	282.19	10.15
61-80	79.08	75.88	262	279.35	10.05

Table 2. Mean values for the measured OCT-A parameters in different age groups

Age Groups in Years	FAZ Area in mm^2	FAZ Perimeter in mm	Central FAZ Vessel Density in mm^{-1}	Full FAZ Vessel Density in mm^{-1}	Central FAZ Perfusion Density in %	Full FAZ Perfusion Density in %
0-20	0.31	2.3	7.81	16.91	17	41
21-40	0.25	2.05	10.15	18	23	44
41-60	0.23	2.02	9.49	17.29	22	42
61-80	0.23	1.91	8.83	16.9	19	41

Всички анализи са извършени със софтуер SPSS, Версия 19.0.

РЕЗУЛТАТИ

В проучването са включени 122 очи на шейсет и три здрави лица на средна възраст 46 ± 18 години, от които 27 мъже – 43% и 36 жени – 57%.

Установената средна дебелина на комплекса ганглийни клетки и вътрешен плексиформен слой (GCL+IPL) в макулата е $81,80 \pm 7,81$ μm , а минималната дебелина – $78,97 \pm 10,05$ μm . Средната дебелина на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител (ILM-RPE) в областта на макулата е $283,13 \pm 13,04$ μm , със среден обем на макулния куб $10,19 \pm 0,47$ mm^3 . Измерената средната дебелина на ILM-RPE в централното подполе на макулната област е $259,3 \pm 22,88$ μm .

Оцени се влиянието на възрастта и пола върху тези параметри. Средната и минималната GCL+IPL дебелина в макулата показват статистически значима отрицателна корелация с възрастта ($p=0,005$, $p=0,003$). Средната дебелина на GCL+IPL при мъжете е $79,96$ μm , а при жените – $83,17$ μm . При женския пол средната GCL+IPL дебелина в макулата е значително по-висока ($p=0,024$). Средната дебелина на ILM-RPE в макулната област и средният обем на макулното кубче също показват статистически значима отрицателна корелация с възрастта ($p=0,022$, $p=0,019$). Не се установи статистически значима корелация междуполовете и средната дебелина на ILM-RPE в областта на макулата и средния обем на макулния куб ($p=0,214$, $p=0,211$), но средната дебелина на ILM-RPE в централното подполе на макулната област показва статистически значима положителна зависимост с мъжкия пол – тя бе измерена средно 265 μm при мъжете и $255,07$ μm при жените ($p=0,017$).

При анализ на данните, получени от OCT-A, се установи, че средната площ на фовеоларната аваскуларна зона (FAZ) е $0,245 \pm 0,1$ mm^2 , а периметърът ѝ е $2,021 \pm 0,49$ mm . Установената средна съдова плътност в централната FAZ е $9,36 \pm 3,12$ mm^{-1} , а средната в цялата фовеоларна аваскуларна зона е $17,34 \pm 2,18$ mm^{-1} . Измерената средна перфузионна плътност в FAZ е $42 \pm 5\%$, като най-високият процент на перфузионна плътност е във външната част на зоната – $43 \pm 5\%$, последван от вътрешната част на FAZ с $41 \pm 6\%$. Централната част на фовеоларната аваскуларна зона е с най-ниската перфузионна плътност – $21 \pm 8\%$.

Установи се, че площта на FAZ и периметърът на FAZ имат отрицателна, но не статистически значима корелация с възрастта ($p=0,068$, $p=0,075$) и статистически значима положителна корелация с женския пол ($p=0,003$, $p=0,027$). Средните стойности на площта на FAZ са $0,268$ mm^2 при жените и $0,214$ mm^2 при мъжете.

За средната съдова плътност в цялата FAZ и плътността на съдовете в централната зона на FAZ се установи отрицателна, но не статистически значима корелация с възрастта ($p=0,113$, $p=0,354$), няма статистически значима зависимост от пола.

Не се установи статистически значима връзка между централната, вътрешната, външната и пълната перфузионна плътност на FAZ и възрастта или пола.

central FAZ is $9,36 \pm 3,12$ mm^{-1} , and the average of the entire FAZ was $17,34 \pm 2,18$ mm^{-1} . The measured average perfusion density in FAZ was $42 \pm 5\%$, with the highest percent perfusion density in the outer area of the zone – $43 \pm 5\%$, followed by the inner part of FAZ with $41 \pm 6\%$. The central part of FAZ remained with the lowest perfusion density of $21 \pm 8\%$.

The FAZ area and FAZ perimeter showed negative but not significant correlation with age ($p=0,068$, $p=0,075$) and significant positive correlation with female gender ($p=0,003$, $p=0,027$). The mean values for the FAZ area were measured to be $0,268$ mm^2 in females and $0,214$ mm^2 in males.

The full and the central FAZ vessel density also showed negative but not significant correlation with age ($p=0,113$, $p=0,354$) and no correlation with sex.

We have not found a significant correlation between central, inner, outer and full FAZ perfusion density and age or genders.

DISCUSSION

The purpose of this study was to report the normal reference limits for macular layers thickness measurements and vasculature measured by ZEISS CIRRUS 5000 HD-OCT. The measurements included various parameters of full retinal thickness in the macula, GCL+IPL thickness and FAZ metrics for healthy eyes.

The average macular GCL+IPL thicknesses measured using SD-OCT and ranging between 68 and $74,8$ μm have been reported in normal eyes (12,13). The limitations of these studies are that they included only a small number of eyes and did not explore the relationship between macular GCL+IPL thickness and demographic parameters like sex or age. Our result for the mean thickness of GCL + IPL in the macula was $81,80 \pm 7,81$ μm , which is higher than that in the cited studies. The difference in the results may be explained with the fact that the scans were made with different SD-OCT models. In another study Jean-Claude Mwanza et al. published an average GCL-IPL thickness of $82,1 \pm 6,2$ μm (range, $68-101$), whereas the minimum GCL+IPL thickness was $80,4 \pm 6,4$ μm (range, $64-98$) (14). The minimum GCL+IPL thickness in our study was $78,97 \pm 10,05$ μm . The published paper of Jean-Claude Mwanza et al. has results close to ours for GCL+IPL mean and minimum thicknesses. The authors also stratified participants by age groups and found that the GCL-IPL thickness was stable between 18 and 49 years of age and then decreased progressively (14), which corresponds to our finding that the mean and the minimum GCL+IPL thickness in the macula have a significant negative correlation with age. Jean-Claude Mwanza et al. found in their study that the average GCL-IPL did not differ between the sexes, which is in contrast to our results that in females the mean GCL+IPL thickness in the macula is significantly higher.

In our study the mean thickness of ILM-RPE in the central subfield of the macular area was $259,3 \pm 22,88$ μm , thicker than the results in previous study ($200,58 \pm 19,22$ μm) (15). T. Buehren et al. reported mean central subfield thickness (ILM - RPE) based on CirrusTM HD-OCT scan of $263,2$ microns, which is closer to our results (16).

Sruthi Arepalli et al. found that the mean retinal thickness (ILM-RPE) tends to measure slightly higher in younger patients than in older patients. In their study in males the mean central ILM to RPE thickness was slightly higher than in females (15). We found in our study that the mean ILM-RPE thickness in the macular area and the average volume of the macular cube show significant negative correlation with age. We

ОБСЪЖДАНЕ

Целта на това проучване е да се установят нормалните референтни стойности за дебелините на макулните слоеве и васкулатура, измерени с Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT. Изследвани са пълната дебелина на ретината в макулата, дебелината на слоя ганглийни клетки, плюс дебелината на вътрешния плексиформен слой и показатели на фоvealната аваскуларна зона за здрави очи.

При здрави очи в различни проучвания с помощта на SD-OCT е установена средната дебелина на макулния слой ганглийни клетки и на вътрешния плексиформен слой (GCL+IPL) между 68 и 74,8 μm (12,13). Ограниченията на тези изследвания са, че те включват малък брой очи и не търсят връзката между дебелината на макуларния GCL+IPL комплекс и демографски параметри като пол или възраст. Нашият резултат ($81,80 \pm 7,81 \mu\text{m}$) за средната дебелина на ганглийния клетъчен слой и на вътрешния плексиформен слой (GCL+IPL) в макулата е по-висок от този в цитираните проучвания. Разликата в резултатите може да се обясни с факта, че сканирането е направено с различни модели SD-OCT. В друго проучване Jean-Claude Mwanza et al. публикуват средна GCL+IPL дебелина в макулата от $82,1 \pm 6,2 \mu\text{m}$ и минималната дебелина на GCL+IPL в макулата $80,4 \pm 6,4 \mu\text{m}$, което се доближава до получените от нас резултати (14). Авторите също разделят участниците на възрастови групи и установяват, че дебелината на GCL+IPL е стабилна между 18 и 49 години и след това постепенно намалява (14), което съответства на нашия резултат, че средната и минималната дебелина на GCL+IPL в макулата има статистически значима отрицателна зависимост с възрастта. Jean-Claude Mwanza et al. установяват в своето проучване, че няма разлика между половете в средната дебелина на GCL+IPL в макулата, което е в контраст с нашия резултат, че при женския пол средната GCL+IPL дебелина в макулата е статистически значимо по-висока.

В нашето проучване установената средна дебелина на ILM-RPE в централното подполе на макулната област е $259,3 \pm 22,88 \mu\text{m}$ и е по-голяма от резултатите, публикувани в предишно изследване на Ageralli S et al. ($200,58 \pm 19,22 \mu\text{m}$) (15). T. Vuehren et al. отчитат средна дебелина на централното подполе на макулата (ILM-RPE) въз основа на изследване с Cirrus HD-OCT от 263,2 микрона, което е по-близо до нашия резултат (16). Sruthi Ageralli et al. констатираат, че средната дебелина на ретината (ILM-RPE) в макулата има тенденция да бъде малко по-висока при по-младите, отколкото при по-възрастните пациенти. В своето проучване те установяват, че при мъжете средната дебелина на ILM-RPE в макулата е малко по-висока, отколкото при жените (15). В нашето изследване установихме, че средната дебелина на ILM-RPE в макулната област и средният обем на макулното кубче показват статистически значима отрицателна корелация с възрастта. Ние не откриваме статистически значима връзка между половете и средната дебелина на ILM-RPE в макулната област и средния обем на макулното кубче, но средната дебелина на ILM-RPE в централното подполе на макулата показва статистически значима положителна корелация с мъжкия пол.

have not found significant correlation between genders and the mean ILM-RPE thickness in the macular area and the average volume of the macular cube, but ILM-RPE mean thickness in the central subfield of the macular area showed significant positive correlation with male gender.

Part of the purpose of our study was to measure the FAZ area and vessel/perfusion density using OCT-A in patients with normal healthy eyes and to establish a database with normative data for these parameters.

As it can be seen on Fig.3, the mean values for the FAZ area in the superficial capillary retinal plexus that we have collected are slightly lower than those published in three previous studies. Guo J et al. found an average area of the FAZ of $0.373 \pm 0.109 \text{ mm}^2$, Zivkovic et al. - $0.292 \pm 0.048 \text{ mm}^2$, and the closer to our results were those of Magrath et al. - 0.2657 mm^2 (17,18, 19).

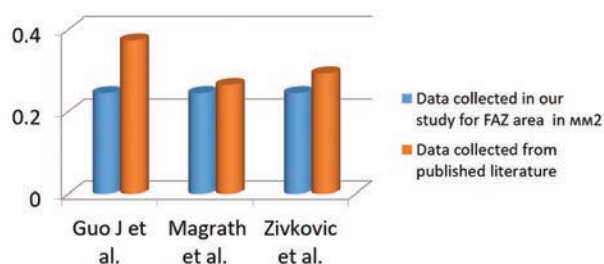


Fig. 3. Comparison between the values for the FAZ area in mm² collected in our study and published in literature

There is a potential role of the microvasculature and blood flow in the pathophysiology of various retinal diseases. In our study the average vessel density of the entire FAZ was $17.34 \pm 2.18 \text{ mm}^{-1}$. In their study Mayss Al-Sheikh et al. determined the repeatability of OCT-A-derived automated vessel density measurements in the superficial retinal layer (SRL) and deep retinal layer (DRL) in healthy individuals. They found a result in the first and second session of $19.43 \pm 3.10 \text{ mm}^{-1}$ and $19.72 \pm 3.78 \text{ mm}^{-1}$ for the SRL (20).

We also measured the average perfusion density in FAZ. As described by Durbin et. al., perfusion density is a variable picturing the total area of perfused vasculature per unit in a region of interest. Within the desired region of interest, the average of the binarized slab is taken and the perfusion density is calculated. They published a result of 42% for average perfusion density in FAZ in SRL, which corresponds fully to the results in our study (21).

In our study the FAZ area showed negative but not significant correlation with age. In a study, Atsushi Fujiwara et al. examining factors affecting the FAZ area in healthy eyes using swept-source optical coherence tomography angiography, also found that age did not significantly correlate with the FAZ area. In contrast to our result where the FAZ area had a significant positive correlation with female gender, Atsushi Fujiwara et al. did not find significant correlation between the FAZ area and gender (22).

CONCLUSION

In this study we evaluated the microstructure of retinal macular thickness and vasculature in healthy human subjects with optical coherence tomography and OCT- A. Our findings provide normative

Втората част от настоящото изследване има за цел да се измери площта на FAZ и плътността/перфузията на съдовете в повърхностния ретинален съдов плексус с помощта на OCT-A при пациенти с нормални здрави очи и да се създаде база с нормативни данни за тези параметри.

Както се вижда от Фиг. 3, средните стойности за площта на FAZ в повърхностния капиларен ретинален сплит, които сме установили, са малко по-ниски от тези, публикувани в три предишни проучвания. Guo J et al. намират средна площ на фовеалната аваскуларна зона от $0,373 \pm 0,109 \text{ mm}^2$, Zivkovic et al. – $0,292 \pm 0,048 \text{ mm}^2$, а най-близо до нашите резултати получават Magrath et al. – $0,265 \text{ mm}^2$ (17,18,19).

Микровакулатурата и притокът на кръв в ретината имат потенциална роля в патофизиологията на различни ретинални заболявания. В нашето проучване средната плътност на съдовете на цялата фовеална аваскуларна зона е $17,34 \pm 2,18 \text{ mm}^{-1}$. В своето изследване Mauss Al-Sheikh et al., определяйки повторимостта на получаваните стойности при автоматизирани измервания на съдовата плътност в повърхностния слой на ретината (SRL) и дълбокия слой на ретината (DRL) с OCT-A при здрави индивиди, получават резултати в първата и втората сесия от $19,43 \pm 3,10 \text{ mm}^{-1}$ и $19,72 \pm 3,78 \text{ mm}^{-1}$ за SRL (20).

Ние проучихме и средната перфузионна плътност на съдовете във FAZ. Както е описано от Durbin et. al., перфузионната плътност е променлива, изобразяваща общата площ на перфузирана васкулатура на единица площ в област на интерес. Те публикуват резултат от 42% за средна перфузионна плътност на FAZ в SRL, което напълно отговаря на резултатите от нашето проучване (21).

В настоящото изследване площта на FAZ показва отрицателна, но не статистически значима корелация с възрастта. Atsushi Fujiwaga и съавтори в проучване, изследващо фактори, влияещи върху FAZ при здрави очи, също установяват, че възрастта не е в значима зависимост с площта на FAZ. За разлика от нашия резултат, че площта на FAZ има статистически значима положителна връзка с женския пол, Atsushi Fujiwaga et al. не намират зависимост между площта FAZ и пола на изследваните здрави индивиди (22).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стойностите на изследваните в настоящото проучване параметри варират в широки граници в световната литература. Получените от нас резултати формират нормативна база данни за българската популация, която е важна за ранната диагностика и оценка на патологичните промени при различни заболявания на ретината.

database, which is important for early diagnosis and evaluation of pathological changes in various retinal diseases.

REFERENCES

1. Mwanza JC, Oakley JD, Budenz DL, Anderson DR. Ability of Cirrus™ HD-OCT optic nerve head parameters to discriminate normal from glaucomatous eyes. *Ophthalmology*. 2011;118(2):241-8.e1. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.06.036.
2. Knight OJ, Girkin CA, Budenz DL, Durbin MK, Feuer WJ. Effect of race, age, and axial length on optic nerve head parameters and retinal nerve fiber layer thickness measured by Cirrus HD-OCT. *Arch Ophthalmol*. 2012;130(3):312-8. doi: 10.1001/archophthol.2011.1576.
3. Murthy RK, Haji S, Sambhav K, Grover S, Chalam KV. Clinical applications of spectral domain optical coherence tomography in retinal diseases. *Biomed J*. 2016;39(2):107–20. doi: 10.1016/j.bj.2016.04.003.
4. Musat O, Colta D, Cernat C, Boariu AM, Alexandru L, Georgescu R, et al. New perspectives in retinal imaging - angio OCT. *Rom J Ophthalmol*. 2016;60(2):63–7.
5. Spaide RF, Klancnik JM, Cooney MJ. Retinal vascular layers imaged by fluorescein angiography and optical coherence tomography angiography. *JAMA Ophthalmol*. 2015;133(1):45–50. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2014.3616.
6. Shiihara H, Terasaki H, Sonoda S, Kakiuchi N, Shinohara Y, Tomita M, et al. Objective evaluation of size and shape of superficial foveal avascular zone in normal subjects by optical coherence tomography angiography. *Sci Rep*. 2018;8(1):10143. doi: 10.1038/s41598-018-28530-7.
7. Won JY, Kim SE, Park YH. Effect of age and sex on retinal layer thickness and volume in normal eyes. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95(46):e5441. doi: 10.1097/MD.0000000000005441.
8. Nieves-Moreno M, Martínez-de-la-Casa JM, Morales-Fernández L, Sánchez-Jean R, Sáenz-Francés F, García-Feijó J. Impacts of age and sex on retinal layer thicknesses measured by spectral domain optical coherence tomography with Spectralis. *PLoS One*. 2018;13(3):e0194169. doi: 10.1371/journal.pone.0194169. eCollection 2018.
9. Ooto S, Hangai M, Tomidokoro A, Saito H, Araie M, Otani T, et al. Effects of age, sex, and axial length on the three-dimensional profile of normal macular layer structures. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(12):8769–79. doi: 10.1167/iovs.11-8388.
10. lafe NA, Phasukkijwatana N, Chen X, Sarraf D. Retinal capillary density and foveal avascular zone area are age-dependent: Quantitative analysis using optical coherence tomography angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57(13):5780–7. doi: 10.1167/iovs.16-20045.
11. Falavarjani KG, Shenazandi H, Naseri D, Anvari P, Kazemi P, Aghamohammadi F, et al. Foveal avascular zone and vessel density in healthy subjects: An optical coherence tomography angiography study. *J Ophthalmic Vis Res*. 2018;13(3):260–5. doi: 10.4103/jovr.jovr_173_17.
12. Wang M, Hood DC, Cho J-S, Ghadiali Q, De Moraes GV, Zhang X, et al. Measurement of local retinal ganglion cell layer thickness in patients with glaucoma using frequency-domain optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(7):875–81. doi: 10.1001/archophthol.2009.145.
13. Bagci AM, Shahidi M, Ansari R, Blair M, Blair NP, Zelkha R. Thickness profiles of retinal layers by optical coherence tomography image segmentation. *Am J Ophthalmol*. 2008;146(5):679–87. doi: 10.1016/j.ajo.2008.06.010.

14. Mwanza J-C, Durbin MK, Budenz DL, Girkin CA, Leung CK, Liebmann JM, et al. Profile and predictors of normal ganglion cell–inner plexiform layer thickness measured with frequency-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(11):7872–9. doi: 10.1167/iops.11-7896.
15. Arepalli S, Srivastava SK, Hu M, Kaiser PM, Dukles N, Reese JL, et al. Assessment of inner and outer retinal layer metrics on the Cirrus HD-OCT Platform in normal eyes. *PLoS ONE* 2018;13(10):e0203324. doi: 10.1371/journal.pone.0203324.
16. Buehren T, Durbin M, Kunath-Fandrei G, Whitby M, Meyer S. Retinal layer segmentation and interpretation using high-definition optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(13):1881.
17. Guo J, She X, Liu X, Sun X. Repeatability and reproducibility of foveal avascular zone area measurements using AngioPlex spectral domain optical coherence tomography angiography in healthy subjects. *Ophthalmologica*. 2017;237(1):21–8. doi: 10.1159/000453112.
18. Zivkovic M, Dayanir V, Kocaturk T, Zlatanovic M, Zlatanovic G, Jaksic V, et al. Foveal avascular zone in normal tension glaucoma measured by optical coherence tomography angiography. *BioMed Res Int*. 2017;2017:1–7. doi: 10.1155/2017/3079141.
19. Magrath GN, Say EAT, Sioufi K, Ferenczy S, Samara WA, Shields CL. Variability in foveal avascular zone and capillary density using optical coherence tomography angiography machines in healthy eyes. *Retina*. 2017;37(11):2102–11. doi: 10.1097/IAE.0000000000001458.
20. Al-Sheikh M, Tepelus TC, Nazikyan T, Sadda SR. Repeatability of automated vessel density measurements using optical coherence tomography angiography. *Br J Ophthalmol*. 2017;101(4):449–52. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-308764.
21. Durbin MK, An L, Shemonski ND, Soares M, Santos T, Lopes M, et al. Quantification of retinal microvascular density in optical coherence tomographic angiography images in diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2017;135(4):370–6. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2017.0080.
22. Fujiwara A, Morizane Y, Hosokawa M, Kimura S, Shiode Y, Hirano M, et al. Factors affecting foveal avascular zone in healthy eyes: An examination using swept-source optical coherence tomography angiography. *PLoS ONE*. 2017; 12(11):e0188572. doi: 10.1371/journal.pone.0188572.