

## МИКРОСТРУКТУРНИ ПРОМЕНИ В МАКУЛАТА ПРИ ДИАБЕТИЦИ БЕЗ И СЪС ЛЕКА ФОРМА НА ДИАБЕТНА РЕТИНОПАТИЯ

Дарина Косева, Зорница Златарова

Катедра по очни болести и зрителни науки, Медицински факултет,  
Медицински университет – Варна

## MICROSTRUCTURAL CHANGES OF THE MACULA IN DIABETIC PATIENTS WITH AND WITHOUT MILD DIABETIC RETINOPATHY

Darina Koseva, Zornitsa Zlatarova

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

### Адрес за кореспонденция:

Дарина Косева  
Факултет „Медицина“  
Медицински университет – Варна  
Ул. „Марин Дринов“ 55  
Варна, 9002  
e-mail: darikoseva@gmail.com

### Address for correspondence:

Darina Koseva  
Faculty of Medicine  
Medical University of Varna  
55 Marin Drinov St  
9002 Varna  
e-mail: darikoseva@gmail.com

### РЕЗЮМЕ

**Въведение:** Захарният диабет (ЗД) е хетерогенна група заболявания, характеризираща се с хипергликемия, вследствие на абсолютна или относителна липса на инсулинова продукция или действие. Крайна органна дисфункция, предизвикана от хронично повишени нива на кръвната глюкоза, засяга сърце, бъбреци, нервна система и ретина.

**Цел:** Сравнение на количествените показатели, характеризиращи ретиналните дебелени и обем в макулата при пациенти със захарен диабет, без и със лека степен на диабетна ретинопатия (ДР) и здрави очи.

**Материали и методи:** Изследвани са 212 души, разпределени в три групи – здрави индивиди, диабетици без и със лека степен ДР. Използва се апаратът ZEISS CIRRUS HD-OCT и проучването се провежда с помощта на протоколите „Macilar cube 512x128“, „Macula thickness analysis“ и „Ganglion cell analysis“. Анализираха се дебелината на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител, както и дебелина на слоя на ганглийните клетки и вътрешния плексиформен слой в макулата.

**Резултати:** Статистически значима разлика между обособените групи пациенти се откри за средната и минималната дебелина на слоя ганглийни клетки + вътрешен плексиформен слой. Не се установи значима разлика в средните стойности между групите пациенти за средната дебелина на ретината в макуларния куб, дебелината на ретината във фовеята и обема на макуларния куб.

**Заклучение:** Най-същественият извод от проучването ни е, че няма загуба на ганглийни клетки и намаляване на дебелината на вътрешните слоеве на ретината, която да предшества появата на уврежданията на микросъдовете в ретината, а двата процеса протичат едновременно.

**Ключови думи:** *диабет, диабетна ретинопатия, невродегенерация, оптична кохерентна томография*

### ABSTRACT

**Introduction:** Diabetes mellitus (DM) is a group of diseases characterized by hyperglycemia due to an absolute or relative lack of insulin production or action. Extreme organ dysfunction, caused by chronically elevated blood glucose levels, affects the heart, kidneys, nervous system and retina.

**Aim:** The aim of this article is to compare the macular retinal thicknesses and volume in patients with DM with and without mild diabetic retinopathy (DR) and healthy eyes.

**Materials and Methods:** The people studied, 212 in total, were divided into three groups—healthy controls, diabetics without DR, and diabetics with a mild DR. In our study the ZEISS CIRRUS HD-OCT device was used as well as the Macular Cube 512x128, Macular Thickness Analysis, and Ganglion Cell Analysis protocols were used. We analyzed the thickness of the retina from the inner limiting membrane to the retinal pigment epithelium, as well as the thickness of the ganglion cell layer, and the inner plexiform layer in the macula.

**Results:** A statistically significant difference between the groups was found for the mean and the minimum thickness of the ganglion cell + inner plexiform layer. No significant difference in mean values between patient groups for mean macular cube retinal thickness, foveal retinal thickness, and macular cube volume was found.

**Conclusion:** There is no loss of ganglion cells and a decrease in the thickness of the inner layers of the retina in the macula that precedes the appearance of retinal microvascular damage, and the two processes occur simultaneously.

**Keywords:** diabetes, diabetic retinopathy, neurodegeneration, optical coherence tomography

## ВЪВЕДЕНИЕ

Захарният диабет (ЗД) е хетерогенна група заболявания, характеризираща се с хипергликемия, вследствие на абсолютна или относителна липса на инсулинова продукция или действие. Крайна органна дисфункция, предизвикана от хронично повишени нива на кръвната глюкоза, засяга сърце, бъбреци, нервна система и ретина (1). Броят на пациентите, болни от ЗД през 2015 година глобално, е бил около 415 милиона. Очакванията на Международната диабетна федерация (The International Diabetes Federation – IDF) са достигане на 640 милиона диабетици в световен мащаб до 2040 година (2). Най-честото усложнение на ЗД – от микроваскуларен характер, е диабетната ретинопатия (ДР). Логично на увеличаващата се честота на ЗД се увеличава и честотата на ДР, което според СЗО я прави приоритетно очно заболяване в целия свят. От ДР страдат около една трета от диабетниците и се приема, че 10% от тях имат застрашаваща зрението степен на ретинопатия (3).

В светлината на редица по-съвременни проучвания ДР се определя като хронична невросъдова дегенерация, която засяга микросъдовете и невроглията в ретината (4,5).

От невроните, които се събират в зрителния нерв, една трета произлизат от макулата. Макулата също така има повишени метаболитни нужди поради високия брой конусчета, намиращи се там (6,7). Следва да се направи заключението, че структурната цялост на макулата би била компрометирана при наличие на метаболитно заболяване като ЗД. При пациенти с диабетен макулен едем доказано са налице ретинни структурни промени и увеличена дебелина на ретината (8,9). Дали промените в дебелината на макулата съществуват при диабетици без макулен оток и с лека степен на непролиферативна ДР?

ДР безспорно е заболяване, включващо невродегенеративна компонента, но кога настъпва тази невродегенерация – има ли в ранните етапи на ДР, преди микроваскуларните промени, загуба на ганглийни клетки и намаляване на дебелината на вътрешните слоеве на ретината?

В нашето проучване потърсихме отговор точно на тези два въпроса.

## INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) is a group of diseases characterized by hyperglycemia due to an absolute or relative lack of insulin production or action. Extreme organ dysfunction, caused by chronically elevated blood glucose levels, affects the heart, kidneys, nervous system, and retina (1). The number of patients with DM in 2015 was around 415 million globally. The International Diabetes Federation (IDF) expects the number of diabetics to reach 640 million worldwide by 2040 (2). The most common microvascular complication of DM is diabetic retinopathy (DR). The incidence of DR is also increasing and, according to World Health Organization, it is already a priority eye disease worldwide. About a third of diabetes patients suffer from DR, 10% of them have a vision threatening retinopathy (3).

Diabetic retinopathy is defined as chronic neurovascular degeneration affecting retinal microvessels and neuroglia (4,5).

A third of the neurons converging in the optic nerve come from the macula. The macula also has increased metabolic needs due to the high number of cones located there (6, 7). This leads to the conclusion that the structural integrity of the macula would be compromised in the presence of a metabolic disease such as DM. Retinal structural changes and increased retinal thickness have been observed in patients with diabetic macular edema (8, 9). Do changes in the thickness of the macula exist in diabetics without macular edema and with a mild non-proliferative DR?

Without doubt DR is a disease with a neurodegenerative component, but when does this neurodegeneration occur—is there loss of ganglion cells and decreased thickness of the inner retinal layers in early stages of DR before microvascular changes?

In our study we searched for answers of these two questions.

## AIM

The aim of this article is to compare the macular retinal thicknesses and volume in patients with DM with and without mild DR and healthy eyes.

## MATERIALS AND METHODS

The used methods are clinical and statistical. The study protocol adheres to the tenets of the Declaration of Helsinki and has been approved by the Research Ethics Committee at MU–Varna. All patients gave signed informed consent before the study was conducted.

## ЦЕЛ

Целта на проучването е да се сравнят количествените показатели, характеризиращи ретиналните дебелини и обем в макулата при пациенти със захарен диабет, без и със лека степен на диабетна ретинопатия и здрави очи.

## МЕТОДИ

Методите, използвани за получаването и обработването на информацията, са клинични и статистически. Протоколът на проучването се придържа към принципите на Декларацията от Хелзинки за правата на изследваните лица и е одобрен от Комисията по етика на научните изследвания при МУ-Варна. Всички пациенти са предали подписано информирано съгласие преди провеждане на изследването.

### Дизайн на проучването

Период и място на провеждане на проучването – октомври 2018 – март 2020 година в „СБОБАЛ-Варна“ ЕООД. Общо включените в изследването индивиди са 212, от които мъжете са 92 (43,4%), а жените 120 (56,6%). Пациентите са разпределени в две основни групи:

- I контролна група – 75 здрави индивиди без наличие на ЗД – 148 очи
- II група – 137 индивиди с наличие на захарен диабет – 248 очи

II A подгрупа: болни от ЗД, без ДР – 71 пациенти – 140 очи

II B подгрупа: болни от ЗД, с лека НПДР (според класификацията на Интернационалния съвет по офталмология, International Council of ophthalmology – ICO) – 66 пациенти – 108 очи.

### Протокол на проучването

В началото на изследването на всеки субект се сне медицинска и фамилна анамнеза по данни на пациента и на придружаващата документация. Следваща стъпка бе провеждането на щателен офталмологичен преглед, включващ най-добра коригирана зрителна острота (BCVA), измерване на ВОН, биомикроскопия, изследване на очно гъно (стереоофталмоскопия с +90 D леща) и оптична кохерентна томография.

На всеки участник в изследването се извърши стандартен унифициран тест за зрителна острота. Измерването на ВОН се осъществи с аланационен Perkins тонометър, а прегледът на преден очен сегмент – с биомикроскоп. След постигане на мидриаза се извърши стереоофталмоскопия за оглед на очното гъно с безконтактна +90 D леща. Белези в очното гъно за умерена непролиферативна ДР (НПДР), тежка НПДР, или пролиферативна ДР (ПДР) бяха критерий за изключване от проучването. В случай че във фундуса имаше наличие на микроаневризми (белези на лека степен на НПДР, според класификацията на ICO), пациентите бяха разпределени в подгрупа II B – болни от ЗД, с лека НПДР.

Като последна стъпка от офталмологичния преглед се проведе изследване на всеки участник в проучването с апарат Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Дъблин, Калифорния, САЩ). Постигна се визуализация на очното гъно с най-висока разделителна способност. Скениращ протокол, използван в изследването, беше „Macilar cube 512x128“. Този протокол скенира серия от 128 хоризонтални В-скена, всеки съставен

## Study Design

Patients were recruited in the Specialized Eye Hospital for Active Treatment in Varna from October 2018 through March 2020. A total of 212 individuals were included in the study, of them 92 (43.4%) were men and 120 (56.6%) were women. Patients were divided into two main groups:

- I control group—75 healthy individuals without diabetes (148 eyes)
- II group—137 individuals with diabetes mellitus (248 eyes)

IA subgroup: patients with DM without DR—71 patients (140 eyes)

IIB subgroup: patients with DM, with mild DR (according to the classification of the International Council of Ophthalmology (ICO))—66 patients (108 eyes)

## Study Protocol

At the beginning of the study, each subject's medical and family history was taken. The next step was to perform a complete ophthalmological examination, including best-corrected visual acuity (BCVA), IOP measurement, biomicroscopy, fundus examination (stereo-ophthalmoscopy with +90 D lens), and optical coherence tomography (OCT).

A standard unified visual acuity test was performed on each study participant. The measurement of IOP was carried out with an applanation Perkins tonometer, and the examination of the anterior eye segment—with a biomicroscope. Stereo-ophthalmoscopy was performed with a non-contact +90 D lens. Fundus signs for moderate non-proliferative DR (NPDR), severe non-proliferative DR (PNDR), or proliferative DR (PDR) were exclusion criteria. In case of microaneurysms present in the fundus (signs of a mild degree of NPDR, according to the ICO classification), the patients were allocated to subgroup IIB.

Each study participant was also examined with a Zeiss Cirrus 5000 HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA). High resolution fundus visualization was achieved. Scanning protocol used in the study was Macular Cube 512x128. This protocol scans a series of 128 horizontal B-scans, each composed of 512 A-scans, as well as one central horizontal B-scan with high-definition (HD) quality. The protocol gives information about the volume of a three-dimensional cube of dimensions 6mm/6mm/6mm and for the retinal thickness in the 9 sectors defined by the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS). Analysis protocols used in the study were Macular Thickness Analysis and Ganglion Cell Analysis. Thanks to the Macular Thickness Analysis protocol, retinal thickness values from the inner limiting membrane to the retinal pigment epithelium were shown in microns. The thickness of the ganglion cell layer and the inner plexiform layer was measured using the Ganglion Cell Analysis protocol with a cube per scan volume 6.0 x 6.0 mm, scan resolution 512 x 128 pixels. Fig. 1 depicts the protocols used in the study.

We analyzed the thickness of the retina from the inner limiting membrane to the retinal pigment epithelium (ILM-RPE) in the macula, which included thickness of the retina in the central subfield of the macula (thickness central subfield,  $\mu\text{m}$ ), volume of the macular cube (volume cube,  $\text{mm}^3$ ) and average thickness in the macular cube (thickness avg cube,  $\mu\text{m}$ ). We also analyzed the average and minimum thickness of the ganglion cell layer and the inner plexiform layer (average/minimum GCL+IPL,  $\mu\text{m}$ ) in the macula.

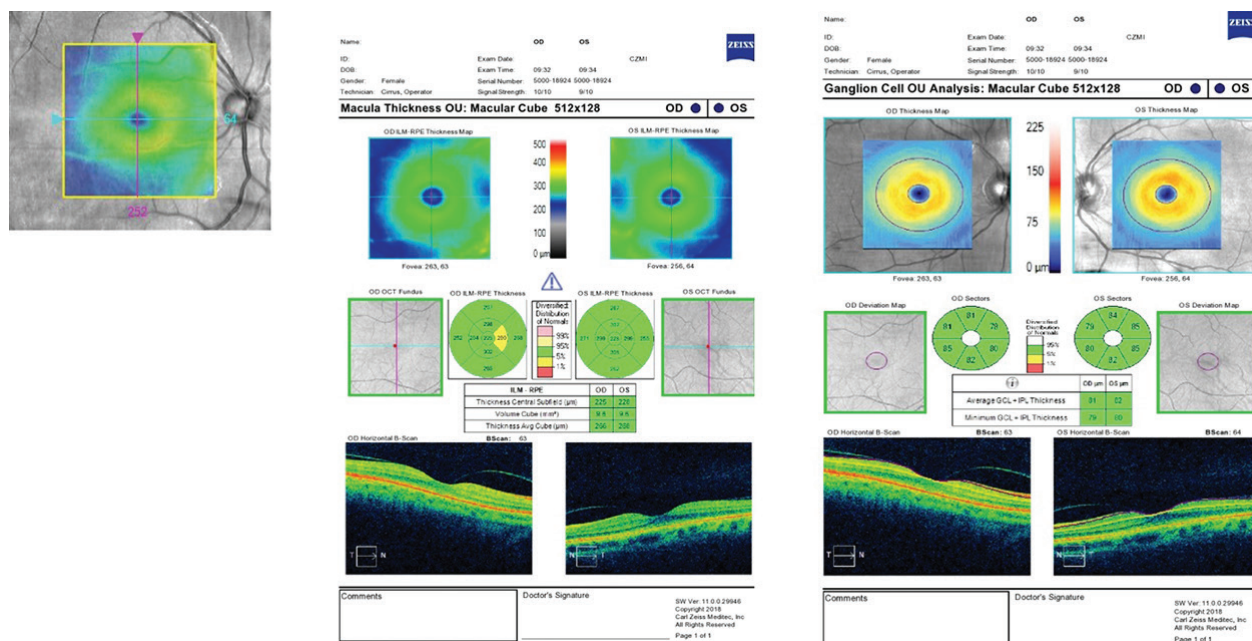


Fig. 1. Macular Cube 512x128, Macular Thickness Analysis, and Ganglion Cell Analysis protocols.

от 512 А-скена, както и един централен хоризонтален В-скен с HD (high definition) качество и даващ информация за обема на триизмерен куб с размери 6mm/6mm/6mm и за дебелината на ретината в 9-те картографски сектора, определени от проучването за ранно лечение на диабетна ретинопатия (ETDRS). Анализните протоколи, използвани в изследването, бяха „Macula thickness analysis“ и „Ganglion cell analysis“. Благодарение на протокола „Macula thickness analysis“ бяха показани стойностите на дебелината на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен епител в микрони. Дебелината на слоя ганглийни клетки и вътрешния плексиформен слой се измери с помощта на протокол „Ganglion cell analysis“ с куб на сканиране в обем 6,0 x 6,0 мм, разделителна способност на сканиране 512x128 пиксела. На фигура 1 са изобразени използваните в проучването протоколи.

На анализ подложихме дебелината на ретината от вътрешната гранична мембрана до ретиналния пигментен

**Statistical Analysis**

Appropriate statistical methods were consistently applied to achieve the aim of the study- empirical distribution, Kolmogorov-Smirnov test, hypothesis testing. Results were considered statistically significant at  $p < 0.05$ . All statistical methods were performed using the statistical software package SPSS 20.0.0., MedCalc 11.6., and Statistica 5.0.

**RESULTS**

**Characteristics of the Groups Studied**

The 212 individuals surveyed were divided by demographics and health status. This distribution is shown in Table 1. The distribution by gender and age in the healthy control group corresponds to that in the group of diabetics. The average age of diabetics (II group) was  $58 \pm 16$  years. The mean age of patients with mild DR (IIB subgroup) was approximately  $59 \pm 11.73$  years and the mean age of patients without DR (IIA subgroup) was

Table 1. Patient distribution by age, gender, and health status.

Age (Years)	Patients			With Diabetes Mellitus			Healthy Controls		
	Males	Females	Total	Males	Females	Total	Males	Females	Total
up to 20	1		1	1		1			
21-30	5	9	14	1	2	3	4	7	11
31-40	10	6	16	5	6	11	5		5
41-50	8	25	33	6	12	18	2	13	15
51-60	28	33	61	21	24	45	7	9	16
61-70	28	23	51	19	15	34	9	8	17
71-80	8	22	30	4	17	21	4	5	9
80+	4	2	6	3	1	4	1	1	2
Total	92	120	212	60	77	137	32	43	75

епител (ILM-RPE) в макулата, което включи дебелина на ретината в централното подполе на макулата (Thickness central subfield,  $\mu\text{m}$ ), обем на макулния куб (Volume cube,  $\text{mm}^3$ ) и средна дебелина в макулния куб (Thickness Avg Cube,  $\mu\text{m}$ ). Допълнително анализирахме и показателите средна и минимална дебелина на слоя на ганглийните клетки и

$57 \pm 14$  years. The difference between the mean age of subjects with DR and without DR is not considered statistically significant.

**Comparison Between the Groups of Thicknesses and Volume**

Table 2 shows the measured values of all the indicators studied for each patient group.

Table 2. Comparison between the three studied groups in terms of thickness and volume in the macula.

	Group I—healthy eyes	IIA Subgroup	IIB Subgroup
ILM-RPE thickness avg cube	281.61 $\mu\text{m} \pm 12.34 \mu\text{m}$	278.18 $\mu\text{m} \pm 14.61 \mu\text{m}$	281.385 $\mu\text{m} \pm 19.444 \mu\text{m}$
Avg ILM-RPE thickness centr. subfield	260,21 $\mu\text{m} \pm 20,42\mu\text{m}$	255,55 $\mu\text{m} \pm 22,40\mu\text{m}$	260,1 $\mu\text{m} \pm 30,18\mu\text{m}$
ILM-RPE vol. cube	10.14 $\text{mm}^3 \pm 0.44 \text{mm}^3$	10 $\text{mm}^3 \pm 0.55 \text{mm}^3$	10.131 $\text{mm}^3 \pm 0.697 \text{mm}^3$
Average GCL+IPL thickness	81.07 $\mu\text{m} \pm 7.17 \mu\text{m}$	80.63 $\mu\text{m} \pm 7.59 \mu\text{m}$	75.492 $\mu\text{m} \pm 13.167 \mu\text{m}$
Minimum GCL+IPL thickness	78.18 $\mu\text{m} \pm 8.29\mu\text{m}$	77.73 $\mu\text{m} \pm 8.54 \mu\text{m}$	69.477 $\mu\text{m} \pm 15.627 \mu\text{m}$

вътрешния плексиформен слой (average/ minimum GCL+IPL,  $\mu\text{m}$ ) в макулата.

**Статистически анализ**

За постигане на целта на проучването са приложени последователно подходящи статистически методи – анализ на емпирични разпределения, тест на Колмогоров–Смирнов, методи за статистическа проверка на хипотези. Резултатите са приети за статистически значими при  $p < 0,05$ . Изпълнението на всички статистически методи е проведено с помощта на статистически софтуерен пакет SPSS 20.0.0., MedCalc 11.6. и Statistica 5.0.

**РЕЗУЛТАТИ**

**Характеристики на изследваните групи**

Изследваните 212 индивиди са разпределени по демографски характеристики и здравен статус и това разпределение е поместено в таблица 1.

Разпределението по пол и възраст в групата на здравите контроли съответства на това в групата на лицата със ЗД. Средната възраст на пациентите с наличие на ЗД (II група) е 58 години с отклонение  $\pm 16$  години. Средната възраст на пациентите с наличие на ДР (II B подгрупа) е приблизително 59 години, с отклонение  $\pm 11,73$  г., а средната възраст на пациентите без наличие на ДР (II A подгрупа) е 57 г. с отклонение от  $\pm 14$  години. Разликата между средната възраст на лицата с ДР и без ДР не се приема за статистически значима.

**Сравнение между трите групи на дебелини и обем**

В таблица 2 са поместени измерените стойности на всички изследвани показатели за всяка една от групите пациенти. За изследваните показатели – средна дебелина на ретината в макулния куб, дебелина на ретината в централното подполе на макулата (фовеална дебелина) и обем на макулния куб, след статистическа обработка на данните ние не откриваме

For the average retinal thickness in the macular cube, the retinal thickness in the central subfield of the macula (foveal thickness), and the volume of the macular cube no significant difference in their mean values was found between the three groups of patients after statistical processing of the data.

A statistically significant difference in the mean values of average GCL+IPL thickness between Group I and Group IIB, as well as between Group IIA and Group IIB was found. The mean values of the ganglion cell layer + inner plexiform layer between Group I and Group IIA did not differ significantly ( $p=0.009$ ).

Following the statistical analysis, a significantly lower minimum thickness of the ganglion cell layer and the inner plexiform layer in Group IIB compared to Group I and Group IIA ( $p=0.0006$ ) was established. However, no such difference was found for this layer between Group I and Group IIA.

**DISCUSSION**

According to the results of the study, Zeiss Cirrus OCT has no ability of early detection of subclinical macular thickness changes in diabetics without DR or with mild DR compared to healthy control eyes.

There are studies on the subject that support our statement: in the macular thickness of healthy people and those with DM without DR or with mild DR significant differences are not observed (10, 11). There are also opposite statements such is the work of Rodrigues et al., 2015. They also conducted a study among three groups of patients: without diabetes, with type 2 DM without DR, and patients with DM with mild DR. The team reached an interesting conclusion: the thinning of one or more retinal layers developed as the disease progressed, but it took several years to manifest. The reason for author’s conclusion was the statistically significant decrease in mean macular retinal thickness in the group of patients with mild DR ( $P=0.032$ ) compared with the control group in the study (12).

The literature review widely supports the lack of differences we found in the retinal thickness of the central macular subfield between the eyes of healthy individuals and diabetics (10–14). Verma et al., Jiang et al.,

значима разлика в средните им стойности между трите групи пациенти.

В хода на изследването се установи статистически значима разлика в средните стойности на показателя Average GCL+IPL Thickness между група I и група II B, както и между група II A и група II B. Средните стойности на слоя ганглийни клетки + вътрешен плексиформен слой не се различават значимо между група I и група II A ( $p=0.009$ ).

След статистическия анализ се изясни значимо по-ниска минимална дебелина на слоя ганглийни клетки и вътрешния плексиформен слой в група II B спрямо група I и група II A ( $p=0.0006$ ). Такава разлика за този слой обаче не се откри между група I и група II A.

## ДИСКУСИЯ

Според нашите резултати използваният в проучването Zeiss Cirrus OCT няма възможност за ранно откриване на промени от субклиничен характер на макулната дебелина в очите на диабетици без ДР или лека НПДР в сравнение със здрави контролни очи.

Съществуват проучвания от публикуваната по въпроса литература, които подкрепят нашето твърдение, а именно: значими разлики в дебелината на ретината в макулата на здрави хора и такива със ЗД без ДР или с лека ДР не се наблюдават (10,11). Откриват се също така и публикации, твърдящи обратното на нас. Такъв е трудът на Rodrigues et al., които през 2015 година провеждат проучване също сред три групи пациенти: без диабет, с тип 2 ЗД без ДР и пациенти със ЗД с лека ДР. Колективът стига до интересен извод: изтъняването на един или повече слоеве на ретината се развива с прогресията на заболяването, но изисква няколко години да се прояви. Причините за достигането до този извод са, че в проучването на Rodrigues и екип съществува статистически значимо намаляване на средната дебелина на ретината в макулата при групата пациенти с лека степен ДР ( $P=0,032$ ) в сравнение с контролната група (12).

Липсата на установени от нас разлики в ретиналната дебелина на централното макуло подполе между очите на здрави индивиди и на диабетици се подкрепя широко от направения литературен обзор по темата (10,11,12,13,14). В противоречие на нас стоят изследвания като тези на Verma et al, Jiang et al. и Dumitrescu et al., които отчитат намалена фовеална дебелина при пациенти със ЗД без ДР в сравнение със здрави хора (15,16,17). Според авторите високо вероятно е резултатите от техните проучвания да отразяват изменения от неврогенеративен характер (ганглийноклетъчна дегенерация).

Dan Peng et al. сравняват обема на макулата при здрави лица, диабетици без ДР и пациенти с лека ДР. Те наблюдават статистически значимо увеличен макулен обем в групата на диабетно болните с развита ДР, сравнено с пациентите от групата на диабетиците без ДР, както и в сравнение с лицата от контролната група (18). Ние, от друга страна, не наблюдаваме такива промени в нашето проучване. Вероятно е промени в обема на макулата да са асимптоматични и субклинични и да не засягат остротата на зрението, тъй като в труда на Dan Peng и екип авторите установяват

and Dumitrescu et al. report reduced foveal thickness in patients with DM without DR compared to healthy individuals, which is contrary to our results (15–17). According to the authors, it is highly likely that the results of their studies reflect changes of a neurodegenerative nature (ganglion cell degeneration).

Dan Peng et al. compared macular volume in healthy individuals, diabetics without DR, and patients with mild DR. They observed a statistically significantly increased macular volume in the group of diabetic patients with developed DR compared to patients in the group of diabetics without DR, as well as compared to subjects in the control group (18). We, on the other hand, did not observe such changes in our study. It is likely that changes in macular volume are asymptomatic and subclinical and do not affect visual acuity, as Dan Peng et al. found slight morphological changes in the macula without clinically evident vision loss.

Few are the publications reporting absent or minor loss of retinal ganglion cell nuclei and dendrites in patients with DM and mild DR (19,20). In the majority of published studies, a significant difference in average/minimum GCL+IPL thickness is found between healthy individuals and DM patients with mild DR (21–24) Among diabetics without DR, mild DR, or PDR, Chhablani and team reported similar GCL+IPL thinning (22).

In relation to our results of no statistically significant difference in GCL+IPL thicknesses between the group of healthy subjects and the group of subjects with DM without DR, it would be important to mention a study by Gerendas et al. from 2019 (25). They studied 150 patients with DM who were compared with 150 healthy subjects and the result was surprising—a significant thickening of the GCL+IPL in the diabetic eyes. The authors interpreted this finding in several ways. First, the high number of type 1 diabetics in their study was cited as a reason, with the idea that in type 2 diabetes the lipid profile of patients is worsened, and accordingly, the thinning of the ganglion cell layer and the inner plexiform layer in the macula is due to hyperlipidemia and the thickening of the GCL+IPL is masked. The authors' second hypothesis states: the GCL+IPL thickens more in diabetics who develop diabetic macular edema (DME) in the future, and the layer remains stable in patients who do not develop DME. According to the third possible explanation two pathways of changes in the GCL+IPL layers of DM patients with or without mild DR compared to healthy controls were observed—neurodegenerative with thinning of the GCL+IPL to neuronal atrophy, and vascular with thickening of the GCL+IPL as an indication for the subsequent occurrence of DME (25). However, there are numerous studies that obtain results identical to ours. No differences are reported between the groups of healthy individuals and individuals with DM without DR regarding the average or minimum thickness of the GCL+IPL in the macula (26–28).

## CONCLUSION

Healthy subjects, diabetics without DR, and diabetics with mild NPDR did not have a significant difference in retinal thickness and volume in the macula, but statistically significant differences were found in the ganglion cell layer and the inner plexiform layer. In conclusion, we cannot confirm the presence of increased macular thickness in diabetics without macular edema. We also believe that there is no loss of ganglion cells or a thickness reduction of the inner retinal layers prior to the appearance of retinal microvascular damage and both processes occur simultaneously.

леки морфологични промени в макулата без клинично да се установява очевидно влошаване на зрението при изследваните от тях пациенти.

Публикациите, докладващи липса или незначителна загуба на ретинални ганглионоклетъчни ядра и дендрити при пациенти със ЗД и лека ДР, са малко на брой (19,20). Значима разлика в показателите Average/Minimum GCL+IPL Thickness се установява между здравите лица и болните от ЗД с лека ДР в по-голям брой от публикуваните проучвания (21,22,23,24). Сред диабетици без ДР, с лека степен ДР или с ПДР Chhablani и екип съобщават за сходно GCL+IPL изтъняване (22).

Във връзка с нашите резултати за липса на статистически значима разлика в дебелините на GCL+IPL между групата на здравите лица и групата на лицата със ЗД без ДР, би било важно да споменем едно проучване на Gerendas и колеги от 2019 година (25). Изследвани са 150 пациенти със ЗД, които са сравнени със 150 здрави лица, а резултатът е учудващ – сигнификантно удебеляване на GCL+IPL дебелината при диабетниците. Авторите тълкуват това свое откритие по няколко начина. Първо, като причина се посочва високият брой диабетици тип 1 в тяхното изследване с идеята, че при диабет тип 2 липидният профил на болните е влошен и съответно изтъняването на слоя ганглионони клетки и на вътрешния плексиформен слой в макулата се дължи на хиперлипидемия и удебеляването на GCL+IPL е маскирано. Втората хипотеза на авторите гласи: GCL+IPL се удебелява повече при диабетниците, които развиват диабетен макулен едем (ДМЕ) в бъдеще и слоят остава стабилен при пациенти, които не развиват ДМЕ. Два пътя на промени на GCL+IPL слоевете на болни от ЗД без или със лека ДР спрямо здрави контроли се наблюдават според третото вероятно обяснение на получените резултати – невродегенеративен с изтъняване на GCL+IPL до атрофия на невроните и съдов с удебеляване на GCL+IPL като индикация за последваща поява на ДМЕ (25).

Все пак по-многобройни са проучванията, които получават резултати, идентични на нашите – не се отчитат разлики между групите здрави лица и лица със ЗД без ДР по отношение на средната или минималната дебелина на GCL+IPL в макулата (26,27,28).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При здрави хора, диабетици без ДР и диабетици с лека степен на НПДР нямат значима разлика в дебелината и обема на ретината в макулата, но статистически значими разлики се долавят при слоя ганглионони клетки и вътрешния плексиформен слой. В заключение на тези резултати ние не можем да потвърдим наличието на увеличена макулна дебелина при диабетици без макулен оток. Смятаме също, че преди появата на уврежданията на микросъдовете в ретината няма загуба на ганглионони клетки и намаляване на дебелината на вътрешните слоеве на ретината, а вата процеса протичат едновременно.

## REFERENCES

1. Alam U, Asghar O, Azmi S, Malik RA. Chapter 15. General aspects of diabetes mellitus. In: Zochodne DW, Malik RA, editors. Handbook of Clinical Neurology [Internet]. Elsevier; 2014 [cited 09 January 2019]. pp. 211–22. (Diabetes and the Nervous System; vol. 126). Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444534804000151>
2. Papatheodorou K, Banach M, Bekiari E, Rizzo M, Edmonds M. Complications of Diabetes 2017. J Diabetes Res. 2018;2018:3086167. doi: 10.1155/2018/3086167.
3. Sivaprasad S, Pearce E. The unmet need for better risk stratification of non-proliferative diabetic retinopathy. Diabet Med. 2019;36(4):424–33. doi: 10.1111/dme.13868.
4. Villarroel M, Ciudad A, Hernández C, Simó R. Neurodegeneration: An early event of diabetic retinopathy. World J Diabetes. 2010;1(2):57–64. doi: 10.4239/wjd.v1.i2.57.
5. Barber AJ, Gardner TW, Abcouwer SF. The significance of vascular and neural apoptosis to the pathology of diabetic retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52(2):1156–63. doi: 10.1167/iov.10-6293.
6. Apple DJ. Anatomy and histopathology of the macular region. Int Ophthalmol Clin. 1981;21(3):1–9. doi: 10.1097/00004397-198102130-00003.
7. Aguilar E. Endothelial proliferation in diabetic retinal microaneurysms. Arch Ophthalmol. 2003;121(5):740–1. doi: 10.1001/archoph.121.5.740.
8. Otani T, Kishi S, Maruyama Y. Patterns of diabetic macular edema with optical coherence tomography. Am J Ophthalmol. 1999;127(6):688–93. doi: 10.1016/s0002-9394(99)00033-1.
9. Yang CS, Cheng CY, Lee FL, Hsu WM, Liu JH. Quantitative assessment of retinal thickness in diabetic patients with and without clinically significant macular edema using optical coherence tomography. Acta Ophthalmol Scand. 2001;79(3):266–70. doi: 10.1034/j.1600-0420.2001.790311.x.
10. Asefzadeh B, Fisch BM, Parenteau CE, Cavallerano AA. Macular thickness and systemic markers for diabetes in individuals with no or mild diabetic retinopathy. Clin Experiment Ophthalmol. 2008;36(5):455–63. doi: 10.1111/j.1442-9071.2008.01769.x.
11. Massin P, Erginay A, Haouchine B, Mehdi AB, Paques M, Gaudric A. Retinal thickness in healthy and diabetic subjects measured using optical coherence tomography mapping software. Eur J Ophthalmol. 2002;12(2):102–8. doi: 10.1177/112067210201200205.
12. Rodrigues EB, Urias MG, Penha FM, Badaró E, Novais E, Meirelles R, et al. Diabetes induces changes in neuroretina before retinal vessels: a spectral-domain optical coherence tomography study. Int J Retina Vitre. 2015;1(1):4. doi: 10.1186/s40942-015-0001-z.
13. Srinivasan S, Pritchard N, Sampson GP, Edwards K, Vagenas D, Russell AW, et al. Retinal thickness profile of individuals with diabetes. Ophthalmic Physiol Opt J Br Coll Ophthalmic Opt Optom. 2016;36(2):158–66. doi: 10.1111/opo.12263.
14. Bressler NM, Edwards AR, Antoszyk AN, Beck RW, Browning DJ, Ciardella AP, et al. Retinal thickness on stratus optical coherence tomography in people with diabetes and minimal or no diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol. 2008;145(5):894–901. doi: 10.1016/j.ajo.2007.12.025.
15. Verma A, Rani PK, Raman R, Pal SS, Laxmi G, Gupta M, et al. Is neuronal dysfunction an early sign of diabetic retinopathy? Microperimetry and spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) study in individuals with diabetes, but no diabetic retinopathy. Eye Lond Engl. 2009;23(9):1824–30. doi: 10.1038/eye.2009.184.

16. Dumitrescu AG, Istrate SL, Iancu RC, Guta OM, Ciuluvica R, Voinea L. Retinal changes in diabetic patients without diabetic retinopathy. *Romanian J Ophthalmol*. 2017;61(4):249–55.
17. Jiang J, Liu Y, Chen Y, Ma B, Qian Y, Zhang Z, et al. Analysis of changes in retinal thickness in type 2 diabetes without diabetic retinopathy. *J Diabetes Res*. 2018; 2018:3082893. doi: 10.1155/2018/3082893.
18. Peng XD, Shen J, Shen W, Zhu LN, Liu L. Macular thickness and macular volume in diabetic patients without apparent visual loss. *Int Eye Sci*. 2015;15:95–7.
19. Demir M, Oba E, Sensoz H, Ozdal E. Retinal nerve fiber layer and ganglion cell complex thickness in patients with type 2 diabetes mellitus. *Indian J Ophthalmol*. 2014;62(6):719–20. doi: 10.4103/0301-4738.136234.
20. Carbonell M, Alonso N, Castelblanco E, Real J, Ramírez-Morros A, Simó R, et al. Assessment of inner retinal layers and choroidal thickness in type 1 diabetes mellitus: a cross-sectional study. *J Clin Med*. 2019;8(9):1412. doi: 10.3390/jcm8091412.
21. Araszkiewicz A, Zozulinska-Ziolkiewicz D. Retinal neurodegeneration in the course of diabetes-pathogenesis and clinical perspective. *Curr Neuropharmacol*. 2016;14(8):805–9. doi: 10.2174/1570159x14666160225154536.
22. Chhablani J, Sharma A, Goud A, Peguda HK, Rao HL, Begum VU, et al. Neurodegeneration in type 2 diabetes: evidence from spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(11):6333–8. doi: 10.1167/iovs.15-17334.
23. van Dijk HW, Kok PHB, Garvin M, Sonka M, DeVries JH, Michels RPJ, et al. Selective loss of inner retinal layer thickness in type 1 diabetic patients with minimal diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(7):3404–9. doi: 10.1167/iovs.08-3143.
24. Cabrera DeBuc D, Somfai GM. Early detection of retinal thickness changes in diabetes using optical coherence tomography. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2010;16(3):MT15-21.
25. Gerendas BS, Hatz K, Kaider A, Zulewski H, Lehmann R, Montuoro A, et al. Ganglion cell layer thickening in well-controlled patients with type 1 diabetes: an early sign for diabetic retinopathy? *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2020;98(3):e292–300. doi: 10.1111/aos.14273.
26. Toprak I, Fenkci SM, Fidan Yaylali G, Martin C, Yaylali V. Early retinal neurodegeneration in preclinical diabetic retinopathy: a multifactorial investigation. *Eye (Lond)*. 2020;34(6):1100-1107. doi: 10.1038/s41433-019-0646-1.
27. Tavares Ferreira J, Alves M, Dias-Santos A, Costa L, Santos BO, Cunha JP, et al. Retinal neurodegeneration in diabetic patients without diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57(14):6455–60. doi: 10.1167/iovs.16-20215.
28. Kołodziej M, Waszczykowska A, Korzeniewska-Dyl I, Pyziak-Skupien A, Walczak K, Moczulski D, et al. The HD-OCT study may be useful in searching for markers of preclinical stage of diabetic retinopathy in patients with type 1 diabetes. *Diagn Basel Switz*. 2019;9(3):105. doi: 10.3390/diagnostics9030105.