



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA 3139

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LA AFECTACIÓN
SUBCLÍNICA DE LA MICROVASCULARIZACIÓN RETINIANA
Y COROIDEA POR MEDIO DE LA ANGIOGRAFÍA POR
TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA SWEPT-SOURCE

TESIS DOCTORAL

Lidia Remolí Sargues

Junio, 2023

Directores

Verónica Castro Navarro

Pascual Medina Beso

INFORME DIRECTORES/AS Y TUTOR/A PARA DEPÓSITO DE TESIS

Director (es) / Codirector (es):

1.- Apellidos y nombre: Verónica Castro Navarro N.I.F. 53657097Y, Departamento/Instituto: Oftalmología Centro: Consorcio Hospital General Universitario de Valencia

2.- Apellidos y nombre: Pascual Medina Beso N.I.F. 52632881A, Departamento/Instituto: Fisiología Centro: Universitat de València

Tutor o tutora (si procede)

Apellidos y nombre. Pascual Medina Beso .N.I.F. 52632881A, Departamento/Instituto: Fisiología Centro: Universitat de València

Directores/as y tutor/a, respectivamente, de la tesis doctoral: "Análisis cuantitativo de la afectación subclínica de la microvascularización retiniana y coroidea por medio de la angiografía por tomografía de coherencia óptica swept-source"

de D/Dña. Lidia Remolí Sargues,

estudiante del Programa de Doctorado 3139 Medicina (RD99/2011) en Medicina de la Universitat de València, emiten informe *favorable* para la realización del depósito y la defensa de la tesis doctoral.

Fecha: 6 de junio de 2023

Fdo.: Verónica Castro Navarro

Fdo.: Pascual Medina Beso

Fdo.:Pascual Medina Beso

Director/a

Director/a

Tutor/a

**ESCUELA DOCTORAL
UNIVERSITAT DE VALÈNCIA**

Facultat de Medicina i Odontologia, Av.Blasco Ibañez nº 16, 46010-Valencia, Tel. 963864100 - Fax: 963864173
email: doctorado.medicina@uv.es
Web: www.uv.es/doctoratmedicina

✓

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, la Dra. Verónica Castro y el Dr. Pascual Medina, por su apoyo y sus consejos a lo largo de este proyecto.

A todos los que han participado en mi formación. En especial a la Dra. Catalina Navarro y a la Dra. Clara Monferrer, por ayudarme a crecer tanto profesional como personalmente.

A mi familia, por su apoyo incondicional.

A mis amigos.

ÍNDICE

1. Introducción	11
1.1. Tomografía de coherencia óptica	12
1.1.1. Concepto	12
1.1.2. Capas de la retina	14
1.2. Angiografía por tomografía de coherencia óptica	15
1.2.1. Concepto	15
1.2.2. Principios físicos y funcionamiento	16
1.2.2.1. Angiografía por tomografía de coherencia óptica swept-source	18
1.2.3. Equipos de angiografía por tomografía de coherencia óptica	18
1.2.4. Artefactos y limitaciones	20
1.2.5. Segmentación de los plexos capilares retinianos y de la coriocapilar	23
1.2.6. Tamaños de cubos de angiografía por tomografía de coherencia óptica	27
1.2.7. Parámetros cuantitativos medidos por la angiografía por tomografía de coherencia óptica	27
1.2.7.1. Zona avascular foveal	28
1.2.7.2. Densidad vascular	29
2. Objetivos	31
2.1. Objetivo general	32
2.2. Objetivos específicos	32
3. Angiografía por tomografía de coherencia óptica swept-source en los pliegues coriorretinianos idiopáticos	33
4. Análisis del mecanismo patogénico de la toxicidad retiniana por hidroxiclороquina por medio de la angiografía por tomografía de coherencia óptica swept-source	45
5. Angiografía por tomografía de coherencia óptica swept-source en pacientes con diagnóstico de dislipemia	59
6. Angiografía por tomografía de coherencia óptica swept-source en pacientes con hipertensión arterial	69
7. Discusión	79
7.1. Aplicaciones	80
7.2. Limitaciones	83
7.2.1. Tecnología swept-source	83
7.2.2. Tamaño de los cubos	84
7.2.3. Segmentación	85

7.2.4. Parámetros cuantitativos medidos por la angiografía por tomografía de coherencia óptica	86
7.2.4.1. Área de la zona avascular foveal	87
7.2.4.2. Densidad vascular	87
7.3. Líneas de futuro	88
8. Conclusiones	91
9. Bibliografía	93

ABREVIATURAS

AGF: angiografía con fluoresceína
AR: artritis reumatoide
CC: coriocapilar
CCG: capa de células ganglionares
CFN: capa de fibras nerviosas
CNE: capa nuclear externa
CPE: capa plexiforme externa
CNI: capa nuclear interna
CPI: capa plexiforme interna
DL: dislipemia
DV: densidad vascular
EPR: epitelio pigmentario retiniano
FR: fotorreceptores
HCQ: hidroxicloroquina
HTA: hipertensión arterial
LES: lupus eritematoso sistémico
MB: membrana de Bruch
MLI: membrana limitante interna
OCT: tomografía de coherencia óptica
OCTA: angiografía por tomografía de coherencia óptica
OMAG: microangiografía óptica
PCR: pliegues coriorretinianos
PCS: plexo capilar superficial
PCI: plexo capilar intermedio
PCP: plexo capilar profundo
PCT: plexo capilar total
RD: retinopatía diabética
SD: dominio spectral
SS: swept-source
SSADA: split-spectrum amplitude-decorrelation angiography
ZAF: zona avascular foveal

1. INTRODUCCIÓN

1.1. TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA.

1.1.1. Concepto.

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una herramienta diagnóstica no invasiva que utiliza láser de diodo infrarrojo para obtener imágenes transversales de la retina de alta resolución (hasta 5 μm). Al igual que la ecografía utiliza ultrasonidos y la tomografía computarizada emplea rayos X, la OCT utiliza luz infrarroja de una longitud de onda de entre 840 y 1050 nm(1–3).

Una fuente de luz infrarroja es proyectada en la retina. Al ser la mayoría de las capas de la retina transparentes a la luz infrarroja, el láser de diodo atraviesa toda la retina hasta la coriocalilar (CC). Entonces, gracias a un espejo parcialmente reflectante, la luz es dividida en un haz de medida y un haz de referencia. El haz de medida procede de la luz reflejada por la retina, mientras que el haz de referencia es el resultado de la luz reflejada por un espejo de referencia situado a una distancia conocida. La combinación de la luz reflejada por la retina y por el espejo de referencia, ambas detectadas por un detector de luz, da lugar a un patrón de interferencia (figura 1). Basándose en el principio de la interferometría de baja coherencia, que permite obtener la localización y el grosor de los tejidos estudiados midiendo la luz reflejada por éstos, se consigue un perfil de reflectividad conocido como A-scan. Si la distancia atravesada por la luz reflejada del espejo de referencia es igual a la distancia atravesada por la luz reflejada de la retina, se produce una interferencia constructiva que da lugar a un patrón de alta reflectividad. Por el contrario, si la distancia atravesada por la luz reflejada de la retina es distinta, se produce una interferencia destructiva, lo que produce un patrón de baja reflectividad(1–3).

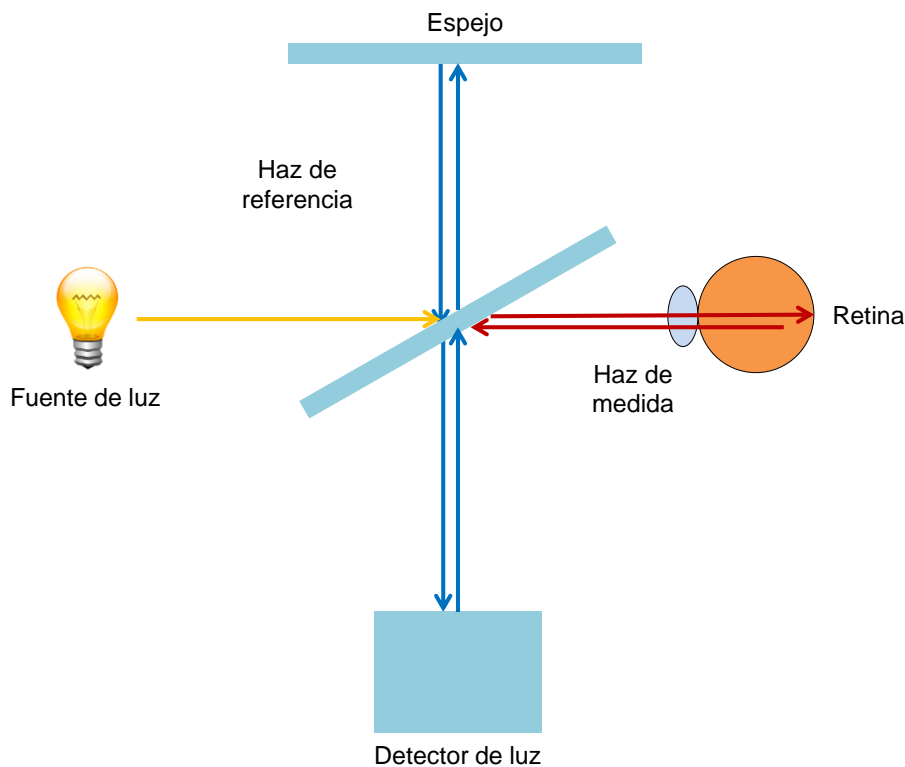


Figura 1. Funcionamiento de la OCT de dominio temporal. Adaptada de Atebara et al(1).

La suma o combinación de alrededor de 100 A-scans axiales obtenidos a nivel transversal da lugar a una imagen B-scan equivalente a la de un corte histológico. La imagen B-scan consiste en una imagen en escala de grises en la cual el blanco representa las estructuras hiperreflectivas y el negro, las estructuras hiporreflectivas. Por otra parte, la suma de B-scans permite la obtención de una imagen C-scan, en face o coronal de las distintas capas retinianas(2,3).

En 1991, David Huang realiza el primer A-scan de la cámara anterior de un ojo de vaca empleando un láser de diodo infrarrojo de 800 nm de longitud de onda(4). Desde entonces, numerosos avances han permitido mejorar la resolución axial de la OCT de dominio temporal unas 10 veces más y la velocidad de adquisición, unas 500.000 veces más. La mejora de la resolución axial se ha conseguido gracias al uso de fuentes de luz de banda ancha, mientras que la mayor velocidad de adquisición ha venido de la mano del desarrollo de la OCT de dominio espectral (SD) y de la OCT swept-source (SS)(5,6).

La OCT-SD utiliza un espectrómetro que le permite medir todo el espectro de las interferencias producidas al mismo tiempo. Por ello, es altamente sensible a los movimientos, por lo que para evitar la pérdida de señal secundaria al movimiento de los ojos emplea además una cámara de alta velocidad. La OCT-SS utiliza como interferómetro un láser de barrido, así como detectores de alta velocidad para medir las interferencias producidas en función del tiempo. Además, al utilizar una luz infrarroja de 1050 nm de

longitud de onda tiene mayor capacidad de penetración y se ve menos influenciada por la presencia de opacidades de medios. Las OCT-SS comercializadas actualmente, como por ejemplo la OCT-SS de Topcon (Topcon DRI OCT Triton, Swept source OCT, Topcon, Japan), presentan una velocidad de adquisición de 100.000 A-scans por segundo(5).

1.1.2. Capas de la retina.

La OCT permite la visualización de cada una de las capas de la retina, gracias a su distinta reflectividad. Las capas de la retina son las siguientes(3,7,8) (figura 2):

- Epitelio pigmentario retiniano (EPR): es una monocapa de células con alto contenido en melanina. La zona apical de las células del EPR contacta con los segmentos externos de los fotorreceptores (FR) para facilitar su fagocitosis, mientras que la parte basal forma el complejo EPR-membrana de Bruch (MB). El EPR presenta una alta reflectividad en la OCT.
- Capa de FR (conos y bastones): los FR presentan las siguientes estructuras: segmento externo, segmento interno, núcleo, y pedículo en los conos o esférula en los bastones. La unión de los segmentos externos con el EPR da lugar a una línea hiperreflectiva inmediatamente superior al EPR que recibe el nombre de zona de interdigitación (ZI). Por otra parte, la unión de los segmentos externos e internos da lugar a una línea hiperreflectiva por encima de la ZI conocida como zona elipsoides(9).
- Membrana limitante externa: separa los segmentos internos de los FR de sus núcleos y forma una sutil línea hiperreflectiva por encima de la zona elipsoides en la OCT.
- Capa nuclear externa (CNE): está constituida por los núcleos de los FR y es una capa hiporreflectiva.
- Capa plexiforme externa (CPE): incluye la sinapsis de las células bipolares y las células horizontales con los FR. Presenta una reflectividad media.
- Capa nuclear interna (CNI): formada por los núcleos de células bipolares, células horizontales y células de Müller. Las células bipolares son la primera neurona y se encargan de procesar el estímulo eléctrico procedente de los FR antes de transmitirlo a las células ganglionares. La CNI es hiporreflectiva, al igual que la CNE.
- Capa plexiforme interna (CPI): en ella contactan los axones de las células bipolares con las dendritas de las células ganglionares. Presenta una reflectividad media, como la CPI.

- Capa de células ganglionares (CCG): las células ganglionares son la segunda neurona y se encargan de transmitir el estímulo eléctrico de los FR hacia el tálamo. Como las capas plexiformes, tiene una reflectividad intermedia.
- Capa de fibras nerviosas (CFN): incluye los axones de las células ganglionares y se trata de una capa hiperreflectiva.
- Membrana limitante interna (MLI): forma una sutil línea hiperreflectiva por encima de la CFN y está formada por los pies de las células de Müller.

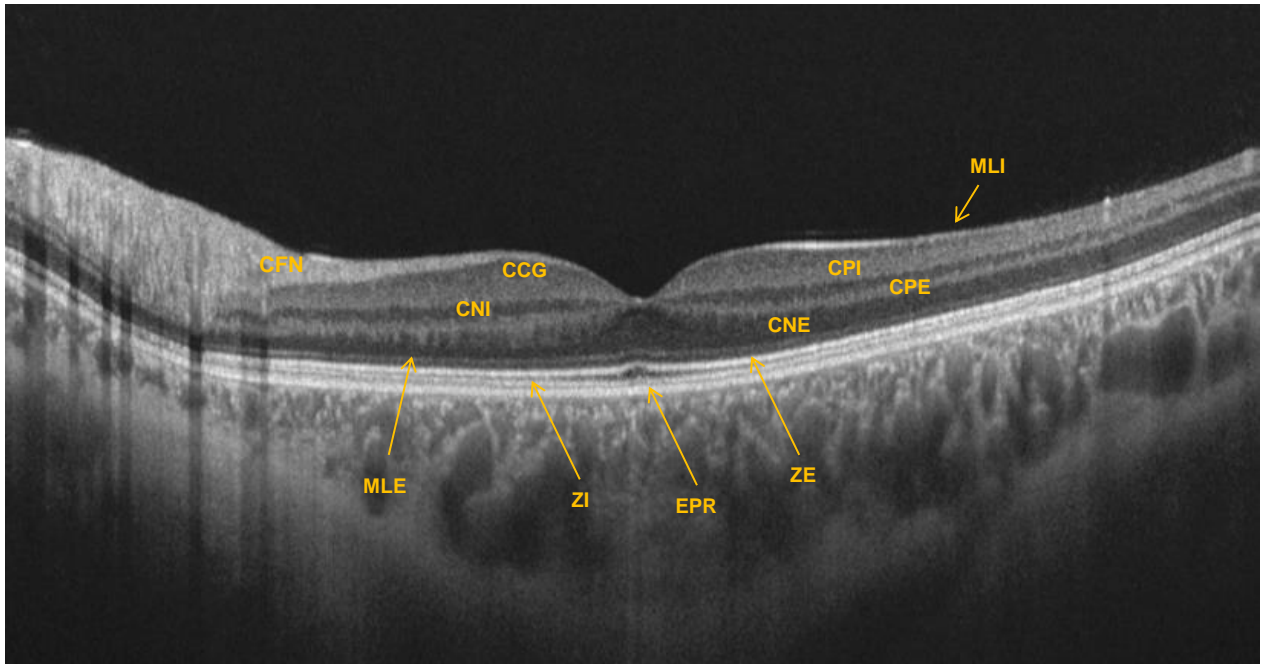


Figura 2. Imagen de OCT-SS que muestra las diferentes capas de una retina normal.

1.2. ANGIOGRAFÍA POR TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA.

1.2.1. Concepto.

La angiografía por tomografía de coherencia óptica (OCTA) es una novedosa herramienta diagnóstica no invasiva basada en la OCT que permite la obtención de imágenes reales de la microvascularización retiniana muy similares a las de una angiografía con fluoresceína (AGF). Se trata de uno de los grandes avances en las técnicas de imagen oftalmológicas y su tecnología se encuentra en continuo crecimiento, gracias a las rápidas y constantes mejoras de los softwares empleados por los distintos equipos de OCTA disponibles en la actualidad. Es por ello que la interpretación de las imágenes obtenidas por la OCTA es realmente compleja y requiere de una continua y compleja curva de aprendizaje(10).

La OCTA utiliza toda la información de los múltiples B-scans que es capaz de adquirir, mediante la aplicación de complejos algoritmos. Cada B-scan de OCTA es

generado a partir de múltiples B-scans de OCT de una misma localización retiniana, adquiridos en tan solo segundos. De esta forma, la OCTA se basa en el llamado contraste del movimiento, asumiendo que toda diferencia presente entre los B-scans es debida al movimiento de los eritrocitos. La diferencia entre B-scans es analizada píxel a píxel, tras lo cual se realiza el cálculo de la decorrelación (1 menos correlación). Mientras que el tejido estático presenta una baja decorrelación (o una alta correlación), los eritrocitos en movimiento muestran una alta decorrelación (o una baja correlación), siendo esta decorrelación proporcional a la velocidad del flujo sanguíneo(10–13).

Las imágenes de OCTA se pueden adquirir en segundos sin la necesidad de inyectar un contraste intravenoso, lo que evita los efectos adversos del mismo, incluyendo la anafilaxia, que puede conducir a la muerte. Además, las imágenes de OCTA son tridimensionales, por lo que a diferencia de la AGF permite analizar cada plexo retiniano y la CC por separado. Además, la OCTA presenta mayor resolución que la AGF, lo que la convierte en una herramienta mejor para el análisis de la microvascularización retiniana y coroidea. Por otra parte, al basarse en la tecnología de la OCT, es posible analizar los cortes de OCT correspondientes a las anomalías microvasculares detectadas por la OCTA(13–16).

1.2.2. Principios físicos y funcionamiento.

La utilización de la OCT en la visualización de la microvascularización retiniana ha sido estudiada desde sus inicios. Es con la aparición de la OCT-SD y de la OCT-SS, las cuales han conseguido un gran incremento de la velocidad de adquisición de A-scans, cuando se hace posible el desarrollo de la tecnología de la OCTA. Numerosos y complejos algoritmos basados en la señal Doppler, la amplitud y la intensidad de las ondas de luz han sido creados desde entonces hasta la comercialización de la OCTA en el año 2014(5,17).

En el año 2000, Yazdanfar et al. realizan la primera OCTA basándose en la señal Doppler. El principal inconveniente del Doppler es que presenta una capacidad limitada para visualizar la microvascularización retiniana, ya que ésta se dispone perpendicular al haz infrarrojo de la OCT. En 2006, Makita et al. utilizan una OCT-SD y algoritmos basados en la varianza de la señal Doppler para llevar a cabo una OCTA. El problema de estos prototipos es que resulta muy difícil eliminar el ruido de fondo debido a movimientos del ojo, del paciente y/o del equipo de adquisición(10,17–19). Por ello, en 2008 An et al. desarrollan un nuevo método que además tiene en cuenta la amplitud, al que denominan microangiografía óptica (OMAG)(17–20). Posteriormente, en el año 2012, Motaghiannezam et al. introducen un algoritmo basado en la varianza de la intensidad, mientras que Jia et al. desarrollan un algoritmo basado en la decorrelación de la amplitud llamado split-spectrum amplitude-decorrelation angiography (SSADA). Este algoritmo divide la señal de la OCT en múltiples

imágenes de menor resolución, para disminuir la sensibilidad al movimiento. No obstante, de esta forma sacrifica la resolución axial de la imagen(10,17,21,22).

Tras todos estos avances, es Optovue el primero en comercializar AngioVue, la primera OCTA basada en una OCT-SD. Por otro lado, Topcon fue el primero en desarrollar la primera OCTA basada en una OCT-SS, con sus modelos Atlantis y Triton(10).

La imagen de OCTA es el resultado de la comparación de alrededor de 2 a 4 B-scans. Estos B-scans son adquiridos con un tiempo de demora entre ellos, que es el llamado tiempo interscan. El tiempo interscan se compone del tiempo necesario para que el haz vuelva a la posición inicial sin adquirir nuevos datos y del propio tiempo de adquisición del nuevo B-scan. Un tiempo de interscan corto disminuye la sensibilidad al movimiento, y es que durante este tiempo el ojo puede moverse debido a pequeñas microsacadas oculares o a la contracción de la úvea por fluctuaciones en la presión intraocular durante el ciclo cardíaco(10).

Por otra parte, un tiempo de interscan corto detecta mejor los altos flujos sanguíneos. En contraposición, tiempos de interscan largos son más sensibles en la detección de los vasos de bajo flujo sanguíneo. Para ser detectados, los eritrocitos deben situarse en una posición diferente en cada A-scan. Si el eritrocito está prácticamente en la misma posición da lugar a un cambio en la señal que puede ser demasiado pequeño para ser detectado. A mayor tiempo de interscan, mayor será el cambio en la señal producido por los eritrocitos más lentos. Por el contrario, si el eritrocito se mueve muy rápidamente, puede que acabe fuera del tamaño del haz que detecta la OCT cuando se repita el A-scan. Por ello, tiempos de interscan menores detectan mejor flujos sanguíneos de alta velocidad(10).

En la actualidad se encuentra en desarrollo el sistema VISTA (variable interscan time analysis), que consiste en hacer comparaciones entre el primer y segundo B-scan y entre el primer y tercer B-scan. De esta forma, se consigue disminuir el umbral de detección pero sin aumentar la sensibilidad al movimiento(16).

Debido a que la imagen de OCTA es creada a partir de entre 2 y 4 B-scans repetidos, es difícil que la información obtenida de los cambios producidos en tan pocas imágenes se pueda utilizar para calcular la velocidad del flujo sanguíneo. Por ello, la imagen de OCTA es en realidad una representación binaria de la microvascularización (o bien hay vasos sanguíneos o bien hay ausencia de vasos sanguíneos) que presenta un umbral de detección (mínimo flujo sanguíneo detectable), así como un umbral de saturación (el flujo sanguíneo más rápido detectable)(10).

Al basarse en el contraste del movimiento, el principal problema de la OCTA es el ruido de fondo ocasionado por los movimientos no debidos al flujo sanguíneo. Así pues, los equipos de OCTA disponen de algoritmos correctores que eliminan las señales que se encuentran por debajo de un umbral mínimo, lo que recibe el nombre de “enmascaramiento

de umbral". El enmascaramiento de umbral permite eliminar señales de flujo falsas debidas a señales producidas por el vítreo, la coroides o la esclerótica. No obstante, también puede eliminar las señales de las áreas de poco flujo sanguíneo, como por ejemplo, las áreas situadas por debajo del EPR(10).

1.2.2.1. Angiografía por tomografía de coherencia óptica swept-source.

La tecnología SS en la OCTA ha permitido un incremento de la velocidad de adquisición hasta los 100.000 A-scans por segundo en los equipos disponibles actualmente, pudiendo alcanzar hasta los 200.000 A-scans por segundo. Esto ha posibilitado una gran disminución de la sensibilidad al movimiento(23).

Al utilizar una longitud de onda de hasta 1060 nm, esta tecnología presenta mayor capacidad para visualizar las estructuras oculares más profundas como la coroides. Además, permite la adquisición simultánea de imágenes de alta resolución de vítreo, retina y coroides. Sin embargo, debido a esto sacrifica su resolución axial, de las 5 μm de la tecnología SD a su resolución de 8 μm (23).

1.2.3. Equipos de angiografía por tomografía de coherencia óptica.

Las imágenes de la OCTA dependen en gran medida de las características técnicas de los distintos equipos disponibles en la actualidad, y principalmente cambian en función de los algoritmos empleados para el procesamiento de la señal obtenida(10).

A día de hoy destacan cuatro equipos de OCTA: AngioVue de Optovue, AngioPlex de Zeiss, Heidelberg Spectralis de Heidelberg y Triton de Topcon(11) (tabla 1).

AngioVue (Optovue):

AngioVue fue la primera OCTA en comercializarse. Este equipo emplea el algoritmo SSADA, que consiste en dividir la señal de la OCTA en numerosas imágenes de menor resolución para disminuir su susceptibilidad al movimiento. De esta manera, se reduce el tiempo de adquisición, pero a costa de sacrificar la resolución axial. AngioVue utiliza una longitud de onda de 840 nm y el ancho del haz de la luz es de 50 nm. Sus resoluciones axial y transversal son de 5 y 15 μm , respectivamente. Para crear la imagen de OCTA necesita 2 B-scans y su velocidad de escaneo es de 70.000 A-scans por segundo(10,11,24,25).

AngioPlex 5000 (Zeiss):

AngioPlex utiliza el algoritmo OMAG, que analiza las diferencias en la fase y en la amplitud de todo el espectro de la señal de los B-scans obtenidos. La longitud de onda empleada es de 840 nm y el ancho del haz de luz utilizada es de 90 nm. Al igual que AngioVue, presenta unas resoluciones axial y transversal de 5 y 15 μm , respectivamente,

mientras que la velocidad de escaneo es de 68.000 A-scans por segundo. Para crear un cubo de OCTA de 3 mm x 3 mm utiliza 4 B-scans, mientras que para crear un cubo de 6 mm x 6 mm necesita 2 B-scans(10,11,26). Recientemente, Zeiss introdujo la tecnología SS en su modelo Plex Elite 9000. Este nuevo equipo utiliza una longitud de onda de 1060 nm y un ancho del haz de luz de 100 nm. Sus resoluciones axial y transversal son de 6 y 20 μm , respectivamente; y su velocidad de escaneo es de 100.000 A-scans por segundo. Por otra parte, para crear una imagen de OCTA necesita desde 5 hasta 20 B-scans(25,27).

Heidelberg Spectralis (Heidelberg):

Heidelberg Spectralis emplea un algoritmo de procesamiento de la señal basado en todo el espectro de la decorrelación de la amplitud (full-spectrum amplitude decorrelation), manteniendo así la resolución axial. Su longitud de onda es de 870 nm y el ancho del haz de la luz es de 50 nm. Su resolución axial es de 7 μm y su resolución transversal es de 14 μm . Además, presenta una velocidad de escaneo de 85.000 A-scans por segundo. Este equipo destaca porque necesita 7 B-scans para crear la imagen de OCTA y porque la distancia entre cada B-scan es de 11 μm , lo que le posibilita adquirir imágenes de alta resolución(10,11,25,28).

OCTA-SS Triton (Topcon):

El equipo Triton de Topcon emplea el algoritmo OCTARA (OCTA Ratio Analysis), que se basa en el ratio de la diferencia de intensidades entre los distintos B-scans obtenidos. Es decir, se trata de una medida relativa de la intensidad de la señal que mejora la visualización de la microvascularización, así como la mínima señal detectable por el aparato, respecto a los algoritmos SSADA y OMAG. Además, al utilizar todo el espectro de la señal, preserva la resolución axial. Triton utiliza la tecnología SS, siendo su longitud de onda de 1050 nm, lo que le permite una mejor penetración a través de las opacidades de medios (como por ejemplo, a través de cataratas significativas) y una mejor visualización de las capas más profundas (como la coroides). El ancho de su haz de luz es de 100 nm y presenta unas resoluciones axial y transversal de 8 y 20 μm , respectivamente. Para crear la imagen de OCTA utiliza 4 B-scans y su velocidad de escaneo es de 100.000 A-scans por segundo(10,11,29).

Tabla 1. Características técnicas de los distintos equipos de OCTA. Adaptada de Sambhav et al.(11).

	AngioVue (Optovue)	AngioPlex 5000 (Zeiss)	Spectralis OCTA (Heidelberg)	SS-OCTA Triton (Topcon)
Algoritmo de procesamiento de la señal	SSADA	OMAG	Full-spectrum amplitude decorrelation	OCTARA (OCTA Ratio Analysis)
Longitud de onda de la luz	840 nm	840 nm	870 nm	1050 nm
Ancho del haz de luz	50 nm	90 nm	50 nm	100 nm
Resolución axial	5 μ m	5 μ m	7 μ m	8 μ m
Resolución transversal	15 μ m	15 μ m	14 μ m	20 μ m
Velocidad de escaneo	70.000 A-scans/segundo	68.000 A-scans/segundo	85.000 A-scans/segundo	100.000 A-scans/segundo
Número de B-scans	2	2 a 4	7	4
Eye-tracking	Imagen infrarroja	Oftalmoscopia con láser de barrido	Oftalmoscopia con láser de barrido	Imagen infrarroja
Densidad vascular automática	Sí	Sí	No	Sí
Área de la zona avascular foveal automática	Sí	Sí	No	No

1.2.4. Artefactos y limitaciones.

Los artefactos son las alteraciones de la calidad de la imagen de la OCTA generados tanto por la tecnología utilizada para obtener la imagen como por los tejidos estudiados(11).

Artefacto de movimiento:

El funcionamiento de la OCTA se basa en el contraste del movimiento, asumiendo que toda diferencia es debida al movimiento de los eritrocitos. Por ello, uno de los principales inconvenientes de la OCTA es el llamado artefacto de movimiento. Cualquier movimiento de los ojos, la cabeza o el cuerpo del paciente da lugar a una alta señal de

decorrelación que crea una falsa señal de flujo lineal horizontal en la imagen (figura 3). Con el objetivo de evitar este artefacto, los equipos de OCTA disponen de los llamados métodos de “eye tracking” para registrar la posición del ojo en cada momento. AngioPlex y Heidelberg Spectralis utilizan la oftalmoscopia con láser de barrido, mientras que AngioVue y Triton emplean una imagen infrarroja. La imagen infrarroja es más segura que la oftalmoscopia con láser de barrido, al basarse en la iluminación uniforme de un área de mayor tamaño. Además, es más fácil de implementar y la calidad de la imagen es superior. El “eye tracking” se acompaña de softwares de corrección del movimiento que consiguen disminuir al mínimo el artefacto de movimiento(10,11,30).

No obstante, existen otro tipo de movimientos que escapan del “eye tracking” y de los softwares de corrección del movimiento, como son el nistagmo, los pequeños movimientos debidos a la respiración, así como la expansión de la coroides por fluctuaciones en la presión intraocular durante el ciclo cardíaco(10).

Otras causas de artefacto del movimiento no corregibles son los exudados lipídicos, que provocan una reflexión de la luz distinta cada ocasión(10).

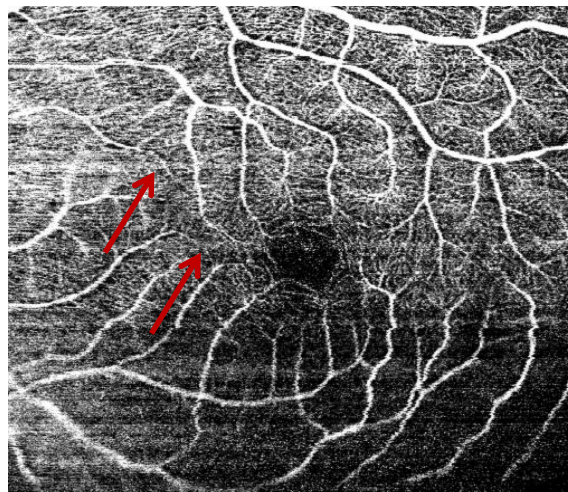


Figura 3. OCTA-SS que muestra un ejemplo de artefacto de movimiento.

Artefacto de proyección:

El artefacto de proyección consiste en la visualización de los grandes vasos superficiales en las capas más profundas. La luz transmitida por los vasos sanguíneos de las capas superficiales cambia con el tiempo debido al flujo sanguíneo, y estos cambios se pueden detectar en las capas de la retina con propiedades reflectivas, como la CPI, la CPE y el EPR. Otras estructuras que pueden actuar como reflectores naturales son los exudados lipídicos y las drusas(10,11,31).

El artefacto de proyección es atenuado naturalmente por el EPR, de ahí que en la CC este artefacto sea menos frecuente. Hoy en día se están desarrollando softwares para

disminuir este artefacto. Destaca el software “projection artifact removal” (PAR), que compara las zonas profundas con las zonas más superficiales en cada A-scan, con el objetivo de eliminar las señales procedentes de los vasos superficiales (figura 4)(10).

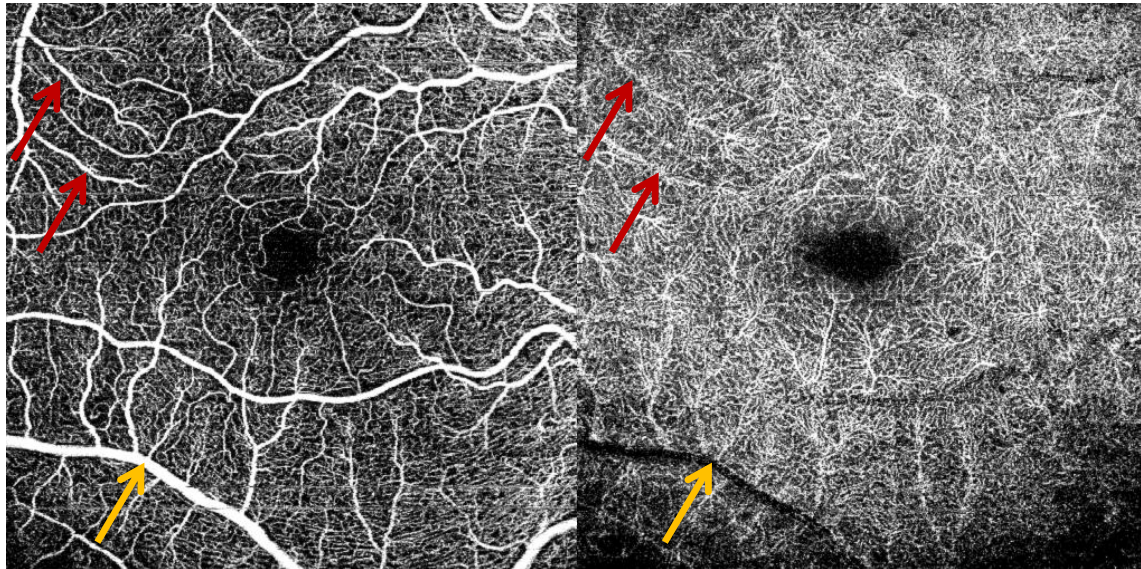


Figura 4. OCTA-SS que muestra un ejemplo de artefacto de proyección. Podemos ver cómo pequeños vasos superficiales que escapan al “projection artifact removal” se ven dibujados en la imagen en face del plexo capilar profundo (flechas rojas). En el caso de los grandes vasos, el “projection artifact removal” es capaz de detectarlos y eliminar la señal que producen (flechas amarillas).

Artefacto de atenuación:

Estructuras del globo ocular como el vítreo y la coroides, o bien cambios patológicos producidos en la retina, como exudados y fluido, fluctúan con el tiempo, por lo que producen un mínimo cambio de la señal entre los B-scans no atribuible al flujo sanguíneo, dando lugar al llamado ruido de fondo. Los equipos de OCTA incluyen algoritmos que se encargan de eliminar este ruido de fondo. Por debajo de un umbral determinado que es considerado como el umbral necesario para producir una señal verdadera no debida al ruido, el equipo suprime la señal. El problema de este abordaje es que las áreas de muy bajo flujo pueden ser anuladas, o por el contrario, que aquel ruido de fondo que produce una alta señal puede dar lugar a una falsa señal de flujo. Es por ello que si la señal de la OCT es débil, como por ejemplo, en aquellos casos con una pérdida global o localizada de la señal, el artefacto de atenuación es más frecuente(10,11,31).

La disminución global de la señal se produce en caso de opacidad de medios (como en los pacientes con una catarata nuclear densa o una catarata subcapsular posterior), de ojo seco o de un posicionamiento incorrecto del paciente. Por otra parte, el enfoque también

influye en la fuerza de la señal, siendo el desenfoque producido por un alto astigmatismo otro factor que influye en la señal global. La consecuencia directa de la pérdida global de la señal es el oscurecimiento de la microvascularización en la imagen de la OCTA(10,11).

Los flóculos vítreos, así como el hemovítreo y la vitritis, producen una pérdida localizada de la señal. En casos de turbidez vítrea leve se le puede indicar al paciente que mueva el ojo para intentar que el flóculo vítreo abandone el área de la imagen que se desea obtener(10).

Otras limitaciones:

Además de los artefactos de movimiento, de proyección y de atenuación, otras limitaciones de la OCTA son las siguientes(10):

- El campo de imagen de la OCTA es menor que el de la AGF.
- A diferencia de la AGF, la OCTA no es capaz de ofrecer información dinámica relativa al tránsito sanguíneo ni identificar la fuga de colorante causada por la disrupción de la barrera hematorretiniana.
- La calidad de la imagen depende en gran medida de la colaboración del paciente y de su capacidad para la fijación.
- Las imágenes de OCTA difieren mucho en función del equipo empleado para su adquisición, dependiendo de los protocolos de escaneo, los métodos de procesamiento de la señal y los distintos métodos empleados para la corrección de los diferentes tipos de artefactos.

1.2.5. Segmentación de los plexos capilares retinianos y de la coriocapilar.

Existen dos formas de presentación de las imágenes de OCTA: la presentación B-scan y la presentación en face. El B-scan es la manera tradicional de visualizar las imágenes de OCTA. La principal ventaja que ofrece el modo B-scan es la posibilidad de analizar la información relativa al flujo sanguíneo en relación a la profundidad (figura 5). También, permite valorar la presencia de artefactos. Por el contrario, el modo en face surge gracias a los softwares de segmentación. Tanto la retina como la coroides se organizan en capas, por lo que la segmentación de la OCT estructural o B-scan posibilita una visualización global y rápida de cada una de estas capas. La segmentación del B-scan facilita además la visualización de los distintos plexos capilares retinianos y de la CC(10).

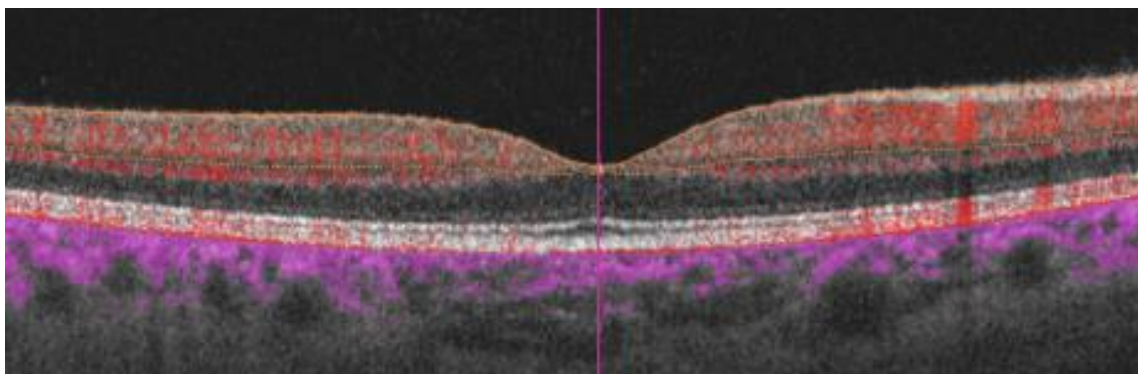


Figura 5. OCTA B-scan de un paciente sano que muestra la señal de flujo en rojo.

A nivel macular se han descrito tres plexos capilares retinianos: el plexo capilar superficial (PCS), el plexo capilar intermedio (PCI) y el plexo capilar profundo (PCP) (figura 6). El PCS está formado por arteriolas de trayecto lineal que presentan escasas anastomosis entre ellas y un gran espacio intercapilar. Por ello, su presión de perfusión es elevada. El PCS incluye la CFN, la CCG y la parte superior de la CPI. El PCI, recientemente caracterizado, está formado por las ramificaciones vasculares procedentes de las arteriolas del PCS. Estos pequeños capilares se disponen de manera vertical u oblicua, con numerosas anastomosis entre ellos y un escaso espacio intercapilar. El PCI se localiza en la unión entre la CPI y la CNI. El PCP está constituido por vénulas de pequeño diámetro que presentan una configuración tipo “araña”, siendo el espacio intercapilar reducido. Este plexo se sitúa en la unión entre la CNI y la CPE. Tanto el PCI como el PCP están formados por capilares de escaso diámetro, por lo que presentan una menor presión de perfusión, siendo por ello más sensibles a la isquemia que el PCS (figura 6)(10,11,32–34).

La coroides recibe el 95% del flujo sanguíneo ocular y se encarga de irrigar a los FR. Está constituida principalmente por vasos de mediano y gran calibre (las llamadas capas externas de Sattler y Haller). Los capilares de mediano calibre de la capa de Sattler son los que dan lugar a la CC. La CC es la capa más interna de la coroides y está constituida por una densa red de capilares interconectados entre ellos que se organizan en una monocapa de unas 10 μm de grosor a nivel subfoveal. Aunque los capilares de la CC presentan un gran diámetro, se encuentran tan interconectados, que crean un espacio intercapilar verdaderamente pequeño de entre 5 y 20 μm (figura 6). Junto con el PCP, la CC se encarga de irrigar a la capa de FR, la cual presenta una alta demanda metabólica. Además, la CC se encarga de bombear el exceso de fluido desde el EPR hacia la coroides(10,35–42).

La segmentación de los distintos plexos capilares retinianos y de la CC difiere en gran medida entre los distintos equipos de OCTA disponibles a día de hoy, dependiendo de los diferentes métodos de procesamiento de la señal y para la corrección de los diferentes tipos de artefactos de cada equipo de OCTA(10). El PCS se sitúa entre 3 μm por debajo de

la MLI y 15 μm por debajo de la CPI en AngioVue, entre 2,6 μm por debajo de la MLI y 15,6 μm por debajo de la CPI en Triton, y entre la MLI y el inicio de la CNI en AngioPlex y Heidelberg Spectralis. Respecto al PCP, se localiza entre 15 μm por debajo de la CPI hasta 70 μm por debajo de la CPI en AngioVue, entre 15,6 μm por debajo de la CPI hasta 70,2 μm por debajo de la CPI en Triton, y de la CNI hasta la CPE en AngioPlex y Heidelberg Spectralis. Ningún equipo en la actualidad segmenta automáticamente el PCI. Histológicamente, el PCP se sitúa en la unión entre la CNI y la CPE, por lo que la segmentación de AngioVue y Triton es más aproximada. De hecho, para obtener una imagen de OCTA más real de los distintos plexos capilares retinianos se aconseja realizar una segmentación personalizada en caso de usar los equipos de OCTA de AngioPlex(25,26,43–45).

Respecto a la CC, AngioVue la segmenta entre 30 y 60 μm por debajo del EPR, AngioPlex entre 29 y 49 μm por debajo del EPR, Heidelberg Spectralis entre 10 y 20 μm por debajo de la MB, y Triton entre 0 y 10,4 μm por debajo de la MB(46). Teniendo en cuenta que el grosor del EPR es de alrededor de 11 μm , las diferencias de segmentación de la CC son menores. No obstante, los equipos que incluyen al EPR en la segmentación de la CC están sujetos a una mayor variabilidad, debido a que incluyen la variabilidad del grosor del EPR entre sujetos. Actualmente, no existe consenso en la segmentación de la CC, aunque en la literatura actual se aconseja que la CC quede segmentada por debajo de la MB, presentando un grosor de entre 10 y 20 μm (36,37).

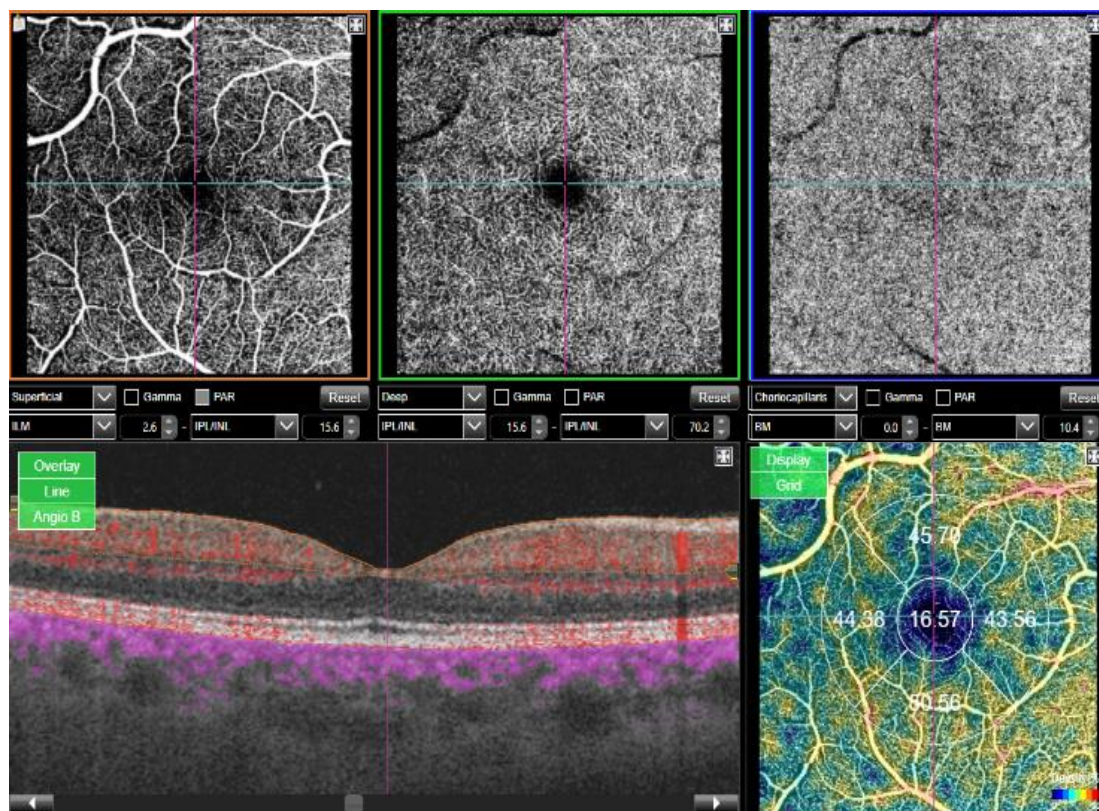


Figura 6. Imágenes en face de OCTA-SS que muestran el PCS, el PCP y la CC y mapa de DV que muestra la DV en la región foveal y en los cuadrantes parafoveales (superior, temporal, inferior y nasal).

Tabla 2. Segmentación de los plexos capilares retinianos y de la coriocapilar de los distintos equipos de OCTA. Adaptada de Lu et al.(25).

	AngioVue (Optovue)	AngioPlex (Zeiss)	Spectralis OCTA (Heidelberg)	SS-OCTA Triton (Topcon)
PCS	MLI – 3 μm hasta CPI – 15 μm	MLI hasta CPI	MLI hasta CPI	MLI – 2,6 μm hasta CPI – 15,6 μm
PCP	CPI – 15 μm hasta CPI – 70 μm	CNI hasta CPE	CNI hasta CPE	CPI – 15,6 μm hasta CPI – 70,2 μm
CC	EPR – 30 μm hasta EPR – 60 μm	EPR – 29 μm hasta EPR – 49 μm	MB – 10 μm hasta MB – 20 μm	MB 0 μm hasta MB – 10,4 μm

Errores de segmentación:

La segmentación se define como el procesamiento de la imagen de OCT estructural con el objetivo de delimitar las distintas capas de la retina. Todos los equipos de OCTA incluyen un software para realizar la segmentación de manera automática, lo que permite la visualización en face de los distintos plexos capilares retinianos y de la CC. El inconveniente de la segmentación es que falla frecuentemente en los ojos que presentan patologías, ya que en éstos el grosor de las distintas capas puede estar aumentado o disminuido, o incluso alguna de las capas puede estar ausente o presentar una curvatura alterada. Por ello, la mayoría de aparatos incluyen softwares que permiten una corrección manual de los errores de segmentación. No obstante, la corrección manual requiere una gran cantidad de tiempo. Actualmente, se encuentran en evaluación softwares que permitan una corrección automática de los errores de segmentación(10,16).

1.2.6. Tamaños de cubos de angiografía por tomografía de coherencia óptica.

Los diferentes equipos de OCTA tienen una gran variedad de protocolos de escaneo. AngioVue dispone de tamaños de cubo centrados en la mácula de 3 mm x 3 mm, 6 mm x 6 mm y 8 mm x 8 mm. AngioPlex permite la realización de cubos de 3 mm x 3 mm, 6 mm x 6 mm, 9 mm x 9 mm y 12 mm x 12 mm centrados o bien en la mácula o bien en el disco óptico. Heidelberg Spectralis incluye en sus protocolos de escaneo cubos de 10° x 10° y de 30° x 15° centrados en la región macular. Por su parte, el equipo Triton dispone de cubos centrados en la mácula o en el nervio óptico de 3 mm x 3 mm, 4,5 mm x 4,5 mm y 6 mm x 6 mm(25).

Un cubo de 3 mm x 3 mm abarca aproximadamente unos 10° de campo, mientras que un cubo de 6 mm x 6 mm permite la visualización de unos 20° grados de la retina. La principal diferencia entre los cubos es la resolución. A mayor tamaño del cubo, menor resolución. Es decir, el aumento del campo sacrifica la resolución. En los equipos de OCTA-SS, los cubos de 3 mm x 3 mm y de 6 mm x 6 mm presentan una resolución de alrededor de 10 y 12 µm, respectivamente. En los cubos de 9 mm x 9 mm y 12 mm x 12 mm, la resolución disminuye a las 18 y 24 µm, respectivamente. Es por ello que para la medición de parámetros cuantitativos, los cubos de 3 mm x 3 mm, 4,5 mm x 4,5 mm y 6 mm x 6 mm presentan una mayor fiabilidad(37).

1.2.7. Parámetros cuantitativos medidos por la angiografía por tomografía de coherencia óptica.

La calidad de las imágenes de OCTA es tan alta que posibilita el cálculo de parámetros cuantitativos de la microvascularización retiniana y coroidea. Estos parámetros

pueden aportar información muy valiosa sobre la patogenia de distintas enfermedades. Debido a que las características técnicas y los algoritmos de los distintos equipos de OCTA disponibles actualmente difieren en gran medida, no es posible comparar los datos obtenidos por los distintos aparatos. Esto dificulta la creación de bases de datos normativas, y por lo tanto, la aplicación en la práctica clínica de estos parámetros(10). La OCTA es una tecnología reciente que se encuentra en su estadio más inicial de desarrollo. Al ser una técnica de imagen que presenta un rápido y continuo crecimiento, la comprensión de sus potenciales aplicaciones supone un continuo reto. Es por ello que en la actualidad la OCTA constituye tan solo una herramienta diagnóstica complementaria y ninguna guía de práctica clínica recomienda su utilización como técnica diagnóstica única(10,16).

Al no disponer en la actualidad de bases de datos normativas, la realización de ensayos clínicos, y por ello la aplicación de la OCTA en la práctica clínica, queda en un futuro lejano. No obstante, en la literatura actual existe un incremento exponencial del número de investigaciones acerca de la misma en todo tipo de patologías, en un esfuerzo por entender mejor esta poderosa y novedosa técnica diagnóstica con el objetivo de incrementar el conocimiento acerca de la patogenia de dichas enfermedades, y secundariamente, del diagnóstico y manejo de las mismas. La OCTA ya ha demostrado ser una técnica útil en la detección de la neovascularización coroidea en la degeneración macular asociada a la edad, así como de las áreas de no perfusión en la retinopatía diabética (RD)(10,16).

1.2.7.1. Zona avascular foveal.

La zona avascular foveal (ZAF) es la región central de la fóvea sin capilares y sin bastones. Presenta la máxima densidad de conos de la retina y es responsable de la visión central. El área de la ZAF es muy variable entre individuos sanos y se ha observado que su tamaño aumenta en las patologías vasculares retinianas, como por ejemplo en la RD, debido a la pérdida de los capilares adyacentes a la misma(10–12).

El área de la ZAF, medida en mm^2 , varía en función de la longitud axial, la edad y el género, siendo mayor en mujeres y en los ojos con menor longitud axial. También, el área de la ZAF es mayor en el PCS que en el PCP. El área media de la ZAF en el PCS en individuos sanos es de $0,27 \text{ mm}^2$, con un rango de entre $0,07$ y $0,53 \text{ mm}^2$, mientras que el área de la ZAF en el PCP es de $0,49 \text{ mm}^2$, con un rango de entre $0,16$ y $0,79 \text{ mm}^2$ (11).

Actualmente, los equipos de OCTA incluyen softwares que permiten la medición del área de la ZAF de manera automática o manualmente. AngioVue y AngioPlex incluyen softwares que calculan automáticamente el área de la ZAF, mientras que Heidelberg Spectralis y Triton disponen de una herramienta para delinear manualmente la ZAF en la

imagen en face de los distintos plexos capilares retinianos. A pesar de esta variabilidad en la forma de medición, el área de la ZAF varía poco entre los diferentes equipos(11,12,25).

Un incremento del área de la ZAF es signo de la presencia de isquemia macular, un factor de riesgo independiente para la progresión de la RD, que se encuentra además asociado con una menor visión. Además, la medición del área de la ZAF tiene utilidad para la detección preclínica de la RD, ya que los pacientes diabéticos sin signos de RD presentan una mayor área de la ZAF que los pacientes sanos(47–51). En otras patologías vasculares, como por ejemplo, la oclusión venosa retiniana, el incremento del área de la ZAF también se asocia con una peor agudeza visual. En pacientes con retinosis pigmentaria de igual manera se ha demostrado una correlación del área de la ZAF con la visión. A su vez, en pacientes que toman hidroxycloquina (HCQ), con melanoma coroideo, con ambliopía o con glaucoma normotensional, existen investigaciones que confirman la existencia de un aumento del área de la ZAF(15).

1.2.7.2. Densidad vascular.

La densidad vascular (DV) se define como la proporción de vasos sanguíneos existente en un área determinada. Este parámetro se obtiene por medio de la binarización de la imagen en face de la OCTA, tras lo cual se dividen la cantidad de píxeles blancos (el área vascular) entre la cantidad total de píxeles (el área total). La DV es una medida directa de la perfusión de la microvascularización retiniana y coroidea. No obstante, depende en gran medida de la señal de la imagen de OCTA y es muy variable entre los distintos aparatos de OCTA. Por otra parte, la DV es mayor en mujeres que en hombres a partir de los 60 años. Además, la DV es mayor en el PCP que en el PCS en la región parafoveal(11,12,25).

Todos los equipos de OCTA, a excepción de Heidelberg Spectralis, disponen de softwares que calculan automáticamente la DV en los distintos plexos capilares retinianos y en la CC. Por otro lado, existen softwares externos de procesamiento de imágenes, como por ejemplo Fiji, que permiten un cálculo semi-automático de la DV por medio de la instalación de complementos específicos para el cálculo de la DV. Ambos métodos de cálculo presentan una alta reproducibilidad(23,52).

La DV ha sido estudiada en numerosas enfermedades retinianas: desde patologías vasculares con elevada prevalencia, como la RD, la oclusión venosa retiniana y la degeneración macular asociada a la edad; hasta distrofias hereditarias de retina (retinosis pigmentaria, enfermedad de Stargardt y distrofia macular viteliforme del adulto, entre otras), uveítis, neuropatías como el glaucoma y la neuropatía óptica isquémica no arterítica, e incluso la retinopatía por HCQ. En todas ellas, la medición de la DV ha demostrado la utilidad de la OCTA en el estudio de su fisiopatología, al mismo tiempo que ha abierto paso

a líneas de investigación sobre la aplicación de la OCTA en el diagnóstico y el establecimiento de marcadores pronósticos de dichas enfermedades. También, al ser considerada la microvascularización retiniana una ventana de la microcirculación sistémica, existen numerosas investigaciones que estudian la DV retiniana en pacientes con hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular(15,52–55).

En definitiva, la medición de la DV en los plexos capilares retinianos y en la CC es un potencial método de diagnóstico precoz de la patología vascular, arrojando a su vez un valioso conocimiento acerca de la fisiopatología de las enfermedades retinianas y de la afectación retiniana secundaria a enfermedades sistémicas.

2. OBJETIVOS

La OCTA-SS es una tecnología muy novedosa que se ha introducido recientemente para la realización de imágenes de la microvascularización retiniana y coroidea. Su elevado coste ha dificultado mucho su disponibilidad en los centros asistenciales, estando solo al alcance de los centros de investigación. Su menor sensibilidad al movimiento, y su capacidad para visualizar mejor la coroides y adquirir simultáneamente imágenes de alta resolución del vítreo, la retina y la coroides, la han convertido en una tecnología superior a la OCTA-SD(23). Es por ello que son necesarios más estudios que investiguen la utilidad de esta nueva tecnología en el análisis cuantitativo de la microcirculación retiniana y coroidea en todo tipo de patologías retinianas, con el objetivo de mejorar el conocimiento existente acerca de la fisiopatología de las enfermedades retinianas.

2.1. OBJETIVO GENERAL.

El objetivo general de la presente investigación es el estudio cuantitativo tanto de la microvascularización retiniana como de la microcirculación coroidea en patologías coriorretinianas que no presentan afectación vascular por medio de la OCTA-SS.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Se abordarán los siguientes objetivos específicos: Comparar la DV en los distintos plexos capilares retinianos y la CC, así como el área de la ZAF en los diferentes plexos capilares retinianos

1. En pacientes con pliegues coriorretinianos (PCR) secundarios a hipermetropía respecto a pacientes controles sanos. Así, se investigará si en los PCR de tipo idiopático o hipermetrópico existe afectación de la circulación retiniana y coroidea.
2. En pacientes que llevan en tratamiento con HCQ más de 5 años, pacientes que han recibido tratamiento con HCQ durante 5 años o menos y controles sanos. Con ello, se analizará si la fisiopatogenia de la toxicidad retiniana por HCQ implica a la vascularización retiniana y coroidea, investigando a su vez la potencial utilización de la OCTA-SS como método de screening precoz de la retinopatía por HCQ.
3. En pacientes con diagnóstico de dislipemia (DL) respecto a pacientes sanos. Así, se estudiará si en los pacientes con DL se produce un daño subclínico en la microvascularización retiniana y coroidea.
4. En pacientes con diagnóstico de hipertensión arterial (HTA) respecto a sujetos sanos. De este modo, se evaluará si en los pacientes con HTA se afecta la microcirculación retiniana y coroidea de forma subclínica.

3. ANGIOGRAFÍA POR TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA SWEPT- SOURCE EN LOS PLIEGUES CORIORRETINIANOS IDIOPÁTICOS

Los PCR constituyen un signo clínico poco frecuente resultado de la presencia de ondulaciones en la coroides, la MB, el EPR y la retina neurosensorial. La causa más frecuente de este signo retiniano es la hipermetropía, en cuyo caso se trata de una condición benigna. No obstante, los PCR se han asociado a numerosas enfermedades oculares y extraoculares: degeneración macular asociada a la edad, hipotonía, coriorretinopatía serosa central, escleritis posterior, oftalmopatía tiroidea, tumores orbitarios, enfermedades autoinmunes e hipertensión intracraneal, entre otras(56–60).

Los PCR parecen surgir como consecuencia de un engrosamiento (en caso de hipotonía e inflamación) o contracción (en los pacientes con hipermetropía) de la esclera que da lugar a un aumento de la tensión en la coroides, produciendo la ondulación de la misma y de las estructuras unidas a ella, es decir, la MB, el EPR y la retina neurosensorial(61,62).

Las características cualitativas de la OCTA en los pacientes con PCR han sido estudiadas en pequeñas series de casos, las cuales han demostrado la presencia de áreas lineales hiporreflectivas en la CC e incluso en el PCP, que podrían ser secundarias a la compresión de las células del EPR o a una interrupción del flujo sanguíneo en la coroides. Estas series de casos incluyen pacientes con PCR debidos a coriorretinopatía serosa central, hipotonía tras una esclerectomía profunda, hipermetropía, malformación venosa orbitaria y adenoma pleomorfo de la glándula lagrimal(56,57,62).

En este estudio se analizó cuantitativamente las imágenes de OCTA-SS de 8 ojos de 4 pacientes con PCR secundarios a hipermetropía y 8 ojos de 4 controles sanos. Se trata del primer estudio en la literatura que cuantifica la DV con una OCTA-SS en pacientes con PCR. Se estudió la DV en el PCS, PCI, PCP y la CC, y el área de la ZAF del PCS, PCI y PCP. Se observó una disminución significativa de la DV en la región foveal del PCS en los pacientes con PCR tanto en el cubo de 6 mm x 6 mm como en el cubo de 4,5 mm x 4,5 mm, así como una menor DV en la región foveal del PCI en el cubo de 6 mm x 6 mm. También, se evidenció un aumento del área de la ZAF en el PCS en ambos cubos de OCTA y un incremento del área de la ZAF en el PCI en el cubo de 4,5 mm x 4,5 mm. Es por ello que se sugirió que la disminución de la DV en el área foveal del PCS y el PCI fue debida al aumento del área de la ZAF en ambos plexos capilares retinianos. Por otra parte, una de las limitaciones de la presente investigación fue que el grupo de pacientes con PCR estaba formado únicamente por mujeres, mientras que el grupo control presentó un porcentaje igual de hombres que de mujeres. Esta podría ser la causa del incremento significativo del área de la ZAF, puesto que se conoce que el área de la ZAF es significativamente mayor en mujeres que en hombres(11–13,50,63).

En lo que respecta al PCP y a la CC, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, lo cual se contradice con las series de casos de OCTA en PCR publicadas en

la literatura, que demuestran la existencia de líneas hiporreflectivas en el PCP y en la CC. Sin embargo, estos estudios incluyen tan solo a un paciente con PCR de etiología hipermetrópica, siendo el resto de casos secundarios a patologías orbitarias, coriorretinopatía serosa central e hipotonía(56,57,62). Además, el análisis cuantitativo de esta investigación se limita a los 3 mm centrales del polo posterior, que es el que ofrece el software del equipo de OCTA-SS Triton de Topcon para el cálculo automático de la DV. De hecho, en un ojo de uno de los 4 pacientes con PCR se pudo demostrar la presencia de señales de atenuación lineales transversales en el PCP y la CC. Al no demostrarse diferencias significativas entre ambos grupos y al demostrarse tan solo en uno de los 8 ojos la presencia de líneas hiporreflectivas en el PCP y en la CC, se sugirió que los PCR son una condición benigna en la cual no se produce afectación de la vascularización retiniana y coroidea.

Debido a la rareza de esta patología, el tamaño muestral del presente estudio fue reducido, siendo necesarios estudios de mayor tamaño muestral para confirmar la ausencia de afectación vascular en pacientes con PCR idiopáticos. En un futuro, cuando ya se disponga de bases de datos normativas, la DV en los distintos plexos capilares retinianos y en la CC podría ser utilizada en la práctica clínica para diferenciar los PCR idiopáticos o hipermetrópicos de los PCR secundarios a condiciones patológicas amenazantes para la visión, evitándose la realización de otros exámenes diagnósticos más invasivos. Recientemente, la investigación de Zeng et al. en 10 pacientes con PCR secundarios a oftalmopatía tiroidea ha demostrado la presencia de una disminución de la DV en el PCS en comparación con 10 pacientes con oftalmopatía tiroidea sin PCR, sugiriendo que el descenso de la DV se da en aquellos casos que pueden provocar una disminución de la visión(64). Por otra parte, la DV en el PCS podría verse disminuida debido a la existencia de hipermetropía, al igual que se observó en la presente investigación y en el estudio de Bayraktar et al(65).

Quantitative analysis of retinal and choroidal vasculature in patients with chorioretinal folds secondary to hyperopia

European Journal of Ophthalmology
1-8
© The Author(s) 2021
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/11206721211035618
journals.sagepub.com/home/ejo
SAGE

Lidia Remolí Sargues¹, Clara Monferrer Adsua²,
Verónica Castro Navarro, Catalina Navarro Palop,
Javier Montero Hernández, María Isabel Soler Sanchis
and Enrique Cervera Taulet

Abstract

Introduction: There is a lack of information on quantitative parameters of optical coherence tomography angiography (OCTA) in cases of chorioretinal folds (CRF). The aim of this study was to compare OCTA retinal and choriocapillary vessel density (VD) between normal subjects and patients with CRF.

Methods: We conducted an observational retrospective study. A total of 16 eyes of eight patients were recruited (eight eyes with CRF and eight control eyes). Data on best-corrected visual acuity (BCVA), refractive error, central macular thickness (CMT), central subfoveal thickness (CST), and OCTA findings (VD and foveal avascular zone (FAZ) area in superficial capillary plexus (SCP), middle capillary plexus (MCP), and deep capillary plexus (DCP), and VD in choriocapillaris (CC)) were recorded in each eye.

Results: Compared with control group, CRF group showed decreased VD in the foveal region of SCP and MCP (p value 0.003 and 0.001), and increased VD in nasal region of SCP and MCP (p value 0.02 and 0.001), and in parafoveal area of MCP (p value 0.005). No differences were found in DCP and CC layers. Furthermore, we observed an enlargement of FAZ in CRF group at SCP and MCP slabs (p value <0.001 and 0.015). Respect to optical coherence tomography parameters, we demonstrated a thicker choroid in the CRF group (p value 0.002).

Conclusion: To the best of our knowledge, this is the first study reported in the literature quantifying VD of retinal capillary plexus and CC in a group of patients with a diagnosis of CRF secondary to hyperopia.

Keywords

Anatomy/biochemistry/physiology, retinal pathology/research, techniques of retinal examination, preventive medicine/screening, practice management

Date received: 15 January 2021; accepted: 9 July 2021

Introduction

Chorioretinal folds (CRF) are a relatively uncommon clinical sign resulting from undulations of the choroid, Bruch's membrane (BM), retinal pigment epithelium (RPE), and the overlying neurosensory retina.¹⁻³ Rarely, CRF may cause symptoms such as metamorphopsia, photopsia, or blurred vision. Thus, this clinical sign is usually discovered during routine ophthalmological examinations.³

CRF are more frequently bilateral (in about 56% of the cases), with the most common causes being age-related macular degeneration and hyperopia. Conversely, tumors and trauma are the most frequent origin in unilateral cases.^{3,4}

As there is a strong association between CRF and hyperopic values between +1 and +6 diopters (D) – primary or acquired hyperopia is present in 13% to 26% of CRF's cases – its recognition as the real origin of CRF could spare patients from unnecessary and invasive investigations.^{3,4}

Department of Ophthalmology, Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, Valencia, Spain

Corresponding author:

Lidia Remolí Sargues, Servicio de Oftalmología, Hospital General Universitario de Valencia, Av. Tres Cruces 2, Valencia 46014, Spain.
Email: lidiaquince@hotmail.com

Nevertheless, CRF have been associated with numerous ocular and extraocular diseases: hypotony, central serous chorioretinopathy, posterior scleritis, uveitis, uveal effusion syndrome, diabetic retinopathy, thyroid-related ophthalmopathy, idiopathic orbital inflammation, autoimmune diseases, intra-cranial hypertension, or Lyme disease.^{1,4,5}

It had been proposed that CRF appeared as a result of the strong connection between BM and choriocapillaris, so in cases in which choroid is displaced (tumors) or choroid shrinkages (choroidal neovascularization), BM is forced into folds. Posteriorly, Friberg suggested that CRF develop as a result of the stress-and-strain relation that occurs between sclera and choroid. The reduction of the inner surface of the sclera due to scleral thickening (hypotony and inflammation) or contraction (hyperopia), produces a buckling force that affects the choroid.^{6,7}

Since the introduction of enhanced depth imaging (EDI), optical coherence tomography (OCT) has become the most specific imaging tool in the diagnosis and characterization of CRF^{3,4,8,9} where CRF are shown as undulations of the retina, RPE, and choroid. Recently, optical coherence tomography angiography (OCTA) characteristics in patients with CRF have been reported and the authors described the presence of a linear signal reduction in the choriocapillaris slab in correspondence of the fold.^{1,2,7} Nevertheless, there is a lack of information on quantitative parameters of OCTA in cases of CRF in the current literature.

The aim of this study was to compare OCTA retinal and choriocapillary vessel density (VD) between normal subjects and patients with CRF secondary to hyperopia, in order to further insight into the pathogenic mechanism of this disorder.

Methods

Study population

A retrospective, observational, and single center study was conducted in the Department of Ophthalmology of the University General Hospital of Valencia (Spain) between October 1st 2020 and December 1st 2020. Written informed consent was obtained from all patients and the study was adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki.

Eight eyes of four patients with a diagnosis of CRF and eight eyes of four age-matched healthy subjects were included in our study. Age, gender, refraction, and ocular and medical history were recorded from each patient. All patients underwent a complete ophthalmic examination consisting of best-corrected visual acuity (BCVA) tested with the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) charts, and slit-lamp biomicroscopy of the anterior and posterior segment.

The inclusion criteria were patients older than 18 years, and a diagnosis of CRF confirmed by EDI-OCT. Exclusion

criteria were as follows: media opacities or fixation instability, history of any intraocular surgery (with exception of uneventful cataract surgery), the presence of secondary causes of CRF (including age-related macular degeneration, central serous chorioretinopathy, posterior scleritis, uveitis, thyroid-related ophthalmopathy, idiopathic orbital inflammation, hypotony, and intra-cranial hypertension), and images with low quality or with significant motion artifact.

Imaging

Color fundus imaging and fundus autofluorescence (FAF) were obtained using the wide-field imaging system Clarus™ (CLARUS 500™, Carl Zeiss Meditec Inc., California, USA). Swept-source EDI-OCT and OCTA were performed using the swept-source OCT, DRI OCT Tirtan (Topcon, Tokyo, Japan). This device uses a 1050-nm wavelength, with a scanning speed of 100,000 A-scans per second. Images were analyzed by the automated OCTARA (OCT Angiography Ratio Analysis) algorithm provided by the manufacturer, which is based on an intensity ratio analysis that preserves the axial resolution.^{10,11} A linear B-scan (12 mm length) centered on the fovea was performed in each patient, and OCTA imaging was performed with 4.5 mm × 4.5 mm and 6 mm × 6 mm fields of view centered on the fovea.

OCTA images were evaluated using automatic layer segmentation provided by the built-in software segmentation algorithm. Superficial capillary plexus (SCP) was the vascular plexus shown in the slab between 2.6 μm below internal limiting membrane and 15.6 μm below the inner plexiform layer (IPL). Middle capillary plexus (MCP) was defined as the vascular plexus shown in the slab between 15.6 and 31.2 μm below the IPL. Deep capillary plexus (DCP) was located in the slab between 31.2 and 70.2 μm below the IPL. Choriocapillaris (CC) was defined as the slab from the BM (0 mm offset at BM setting) to 31.2 μm below the BM.

Quantitative evaluation of OCTA images included VD (expressed as %) and foveal avascular zone (FAZ) area (expressed in mm²) on both 4.5 mm × 4.5 mm and 6 mm × 6 mm en face scans. IMAGENet software provided by the OCTA device generates color-coded flow density maps of SCP, MCP, DCP, and CC. VD is inferred from the decorrelation motion contrast signal provided by OCTA, where high flow is represented by increased VD. In the color map, red color represents areas of highest density, whereas blue color represents areas of no detectable vessels. The instrument automatically applies an ETDRS grid overlaying an external ring with 2.5 mm of diameter and a foveal circular area with 1 mm of diameter. The external ring is composed by superior, inferior, temporal, and nasal subfields. FAZ area in the three capillary plexus was performed manually using the software caliper function.¹²

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the study participants.

Variable	CRF group	Control group
Patients, <i>n</i>	4	4
Eyes, <i>n</i>	8	8
Sex, <i>n</i> (%)	Male 0 (0%) Female 4 (100%)	Male 2 (50%) Female 2 (50%)
Age, years	63.75 ± 1.58	64 ± 3.12
BCVA, ETDRS letters	84 ± 1.93	83.375 ± 2.56
Refractive error, sphere diopters	4.04 ± 2.12	0.75 ± 0.22
Lens status, <i>n</i> (%)	Phakic 6 (75%) Pseudophakic 2 (25%)	Phakic 6 (75%) Pseudophakic 2 (25%)

BCVA: best corrected visual acuity; ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study.
Data are presented as mean ± standard deviation.

Furthermore, we measured manually central macular thickness (CMT) and choroidal subfoveal thickness (CST) using the caliper function of the device. CMT was defined as the distance between the internal limiting membrane and the BM at the fovea, and CST was defined as the distance between the BM and the sclerochoroidal junction under the fovea.

Statistical analysis

The continuous variables (including VD, FAZ area, CMT, and CST) were presented as mean ± standard deviation (SD). Shapiro-Wilk test was used to determine the distribution of all the variables. Thus, depending on their distribution, Student's *t* test or Mann-Whitney test were performed by comparing both groups. Statistical significance was set at $p < 0.05$. We used Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., Redmond, WA) and IBM SPSS Statistics 25 software (IBM, Armonk, NY) for statistical analyses.

Results

Demographic and clinical characteristics

Demographic and clinical characteristics of the study patients are listed in Table 1. The study included eight eyes of four patients with CRF and eight eyes of four age-matched healthy subjects. The mean age was 63.75 ± 1.58 years in the CRF group and 64 ± 3.12 years in the control group. All patients in the CRF group were females, whereas in the control group there were two males (100%) and two females (100%). CRF were bilateral in all the cases (100%). The average BCVA was 84 ± 1.93 letters in the CRF group and 83.375 ± 2.56 letters in the control group. Mean refractive error was 4.04 ± 2.12 D in the CRF group and 0.75 ± 0.22 D in the control group. In both groups, six eyes (75%) were phakic and two eyes (25%) were pseudophakic. One patient (25%) in the CRF group

had systemic lupus erythematosus. The rest of the ocular and medical history in both groups was non-contributory.

Multimodal imaging features

Fundus imaging showed alternating yellow and dark striae in the superior temporal region of the posterior pole arranged in parallel in each case of CRF (Figure 1(a) and 1(b)). Also, FAF revealed corresponding alternating hypo-autofluorescent and hyperautofluorescent bands (Figure 1(c) and 1(d)). OCT demonstrated in all the cases undulations of the retina, RPE, and choroid. Furthermore, OCT revealed prominent choroidal vessels (Figure 1(e) and 1(f)). OCTA only revealed linear transversal signal attenuations in the right eye of one patient with CRF in DCP and CC slabs in both 6 mm × 6 mm and 4.5 mm × 4.5 mm en face scans (Figure 2(d) and 2(e)). In the rest of the cases, OCTA was apparently normal.

OCTA analysis

Vessel density of retinal capillary plexus and choriocapillaris. At SCP level, VD only showed statistically significant differences in the foveal region in both 6 mm × 6 mm and 4.5 mm × 4.5 mm en face scans (p value 0.003 and 0.004). Furthermore, in 6 mm × 6 mm en face scan, nasal VD was significantly superior in the CRF group compared to the control group (p value 0.02). Concerning parafoveal VD, it was superior in CRF group compared to the control group, but no statistical difference was achieved (p value 0.158 and 0.151) (Table 2).

At MCP level, VD was decreased in the control group compared to CRF group, but the difference was statistically significant only in the nasal region of both 6 mm × 6 mm and 4.5 mm × 4.5 mm scans (p value 0.001 and 0.007). In the 6 mm × 6 mm scan, VD was also significant in the parafoveal area (p value 0.005). Also, VD was decreased in the foveal region in the CRF group compared to control group (p value 0.001) (Table 2).

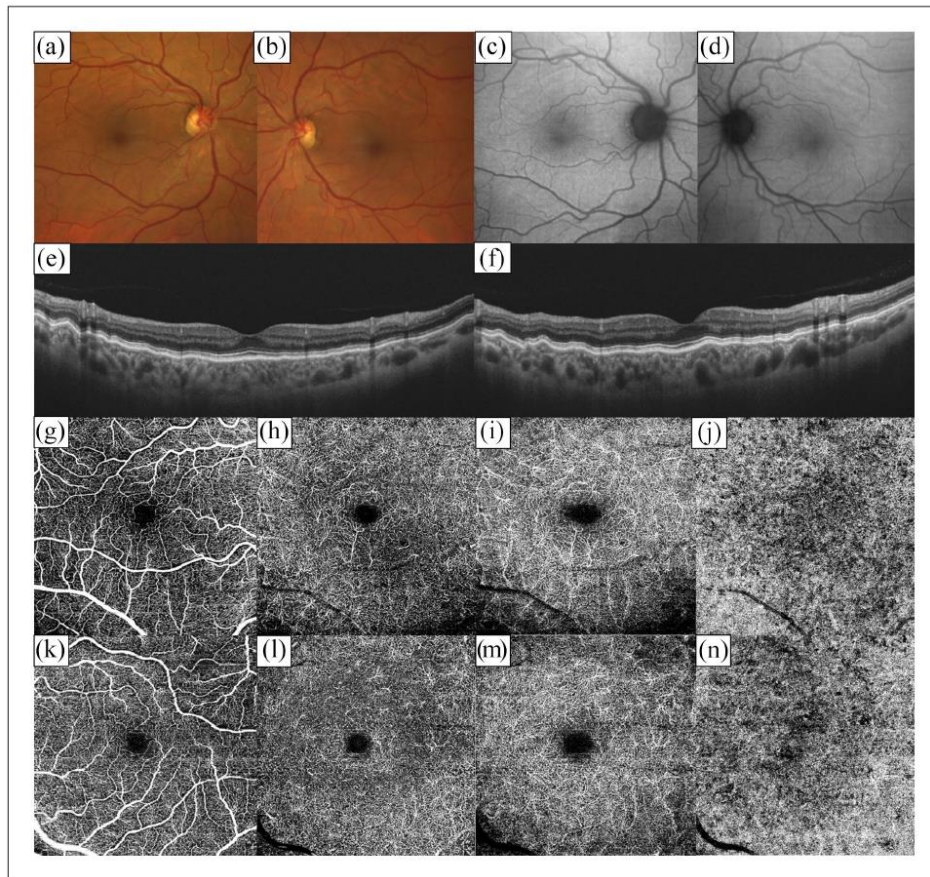


Figure 1. Multimodal imaging findings of patient 1 of chorioretinal folds group. (a and b) Fundus imaging revealed yellow and dark horizontal lines arranged in parallel in the superior region of posterior pole in both eyes (OU). (c and d) Fundus autofluorescence showed alternating hypoautofluorescent and hyperautofluorescent bands in OU. (e and f) Optical coherence tomography of OU demonstrated the presence of undulations of neuroretina, retinal pigment epithelium, and choroid, on a perpendicular scan. Furthermore, revealed prominent choroidal vessels. (g–j) Optical coherence tomography angiography 6 mm \times 6 mm en face scans at superficial capillary plexus (SCP) slab, middle capillary plexus (MCP) slab, deep capillary plexus (DCP) slab, and choriocapillaris (CC) slab of the right eye (OD) did not show transversal lines of signal reduction, revealing uniquely mild motion artifacts. (k–n) En face scans of SCP slab, MCP slab, DCP slab, and CC slab of the left eye were apparently normal, with mild motion artifacts more marked than in the OD.

At DCP level, no statistical differences were observed, although in the foveal region of 6 mm \times 6 mm scan VD was diminished in the CRF group compared to control group, but without achieving significant values (p value 0.08) (Table 2).

VD of CC was practically equal in CRF group compared to control group. Thus, no significance was achieved in any of the regions studied. Nonetheless, a minimum decrease in the total VD was observed in the CRF group in the 6 mm \times 6 mm scan (Table 2).

FAZ area of retinal capillary plexus

FAZ area of SCP was higher in CRF group in both 6 mm \times 6 mm and 4.5 mm \times 4.5 mm scans (p value <0.001 and 0.001). At MCP, FAZ area was also higher in CRF group, but statistical differences were only achieved in the 4.5 mm \times 4.5 mm scan (p value 0.015). At DCP, no significant changes were observed in the FAZ area of both 6 mm \times 6 mm and 4.5 mm \times 4.5 mm scans (p value 0.229 and 0.227) (Table 2).

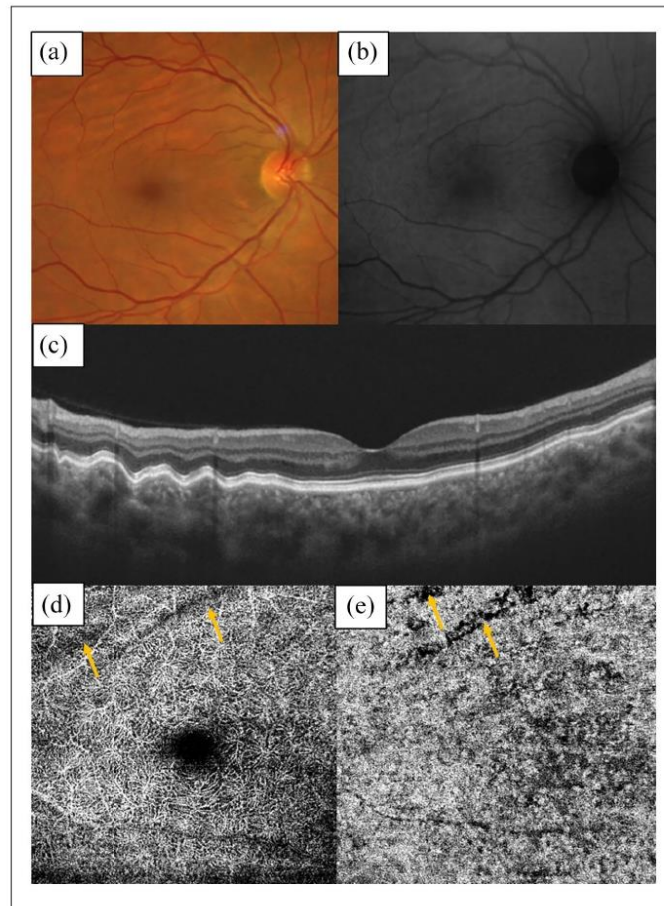


Figure 2. Multimodal imaging of patient 2 of chorioretinal folds group. (a) Fundus imaging showed yellow and dark parallel striae in the superior temporal region of the posterior pole of the right eye (OD). (b) Fundus autofluorescence revealed corresponding alternating hypoautofluorescent and hyperautofluorescent bands in the OD. (c) Optical coherence tomography illustrated undulations of the retina, retinal pigment epithelium and choroid, and prominent choroidal vessels, in the superior temporal region. (d and e) Deep capillary plexus and choriocapillaris slab of 6mm × 6mm scan of the OD revealed linear transversal signal attenuations in the superior temporal area (yellow arrows).

OCT parameters

Mean CMT was $235.75 \pm 15.06 \mu\text{m}$ in the CRF group and $240.63 \pm 27.74 \mu\text{m}$ in the control group, so statistical significance was not achieved (p value 0.669). Mean CST was $305.63 \pm 50.09 \mu\text{m}$ in the CRF group and $210.00 \pm 48.80 \mu\text{m}$ (p value 0.002). That means that CST was significantly higher in the CRF group (Table 3).

Discussion

OCTA is a new and noninvasive imaging technique that uses motion contrast imaging of volumetric blood flow to generate images that resemble an angiogram in a matter of seconds, facilitating the visualization of the different retinal capillary plexus and even the choriocapillaris. Since the development of OCTA, various software algorithms have been created to quantify blood flow of retinal and choroidal

Table 2. Differences of vessel density and foveal avascular zone area between patients with chorioretinal folds and healthy patients.

Variable	6 mm × 6 mm en face scan			4.5 mm × 4.5 mm en face scan		
	CRF group	Control group	p value	CRF group	Control group	p value
SCP						
Foveal	14.71 ± 3.80	20.50 ± 1.50	0.003	10.56 ± 1.95	14.18 ± 2.20	0.004
Superior	48.69 ± 2.76	46.73 ± 2.30	0.146	50.03 ± 4.60	47.53 ± 3.11	0.225
Inferior	48.85 ± 3.70	46.23 ± 3.59	0.172	48.70 ± 4.23	47.44 ± 2.95	0.503
Temporal	46.10 ± 3.53	45.58 ± 1.51	0.709	46.31 ± 3.99	44.45 ± 2.48	0.282
Nasal	46.16 ± 3.12	43.91 ± 2.03	0.109	45.39 ± 4.40	40.72 ± 1.64	0.02
Parafoveal	47.45 ± 2.92	45.61 ± 1.88	0.158	47.61 ± 3.73	45.04 ± 19.99	0.161
Total	40.90 ± 2.06	40.59 ± 1.51	0.737	40.20 ± 3.00	38.87 ± 1.74	0.752
MCP						
Foveal	23.13 ± 1.05	30.51 ± 5.07	0.001	20.00 ± 3.81	20.05 ± 4.41	0.983
Superior	43.67 ± 2.10	42.09 ± 3.17	0.259	42.58 ± 1.84	42.49 ± 4.55	0.382
Inferior	44.89 ± 3.50	43.81 ± 3.55	0.495	43.15 ± 3.70	44.46 ± 5.41	0.959
Temporal	46.18 ± 5.79	43.92 ± 2.11	0.721	46.66 ± 5.81	41.63 ± 4.06	0.065
Nasal	46.72 ± 3.55	40.70 ± 2.37	0.001	45.81 ± 4.01	39.09 ± 4.57	0.007
Parafoveal	45.37 ± 1.93	42.63 ± 1.01	0.005	44.55 ± 2.38	41.92 ± 3.10	0.077
Total	40.92 ± 1.40	40.20 ± 1.21	0.296	39.64 ± 2.09	37.54 ± 30.04	0.130
DCP						
Foveal	13.79 ± 4.88	17.99 ± 3.99	0.080	9.34 ± 2.57	10.54 ± 4.23	0.516
Superior	51.58 ± 5.33	48.89 ± 2.97	0.232	53.94 ± 6.08	51.15 ± 3.29	0.273
Inferior	50.18 ± 2.36	51.03 ± 2.95	0.531	50.39 ± 1.86	53.43 ± 5.63	0.505
Temporal	47.59 ± 5.79	46.11 ± 2.54	0.516	48.68 ± 6.28	44.45 ± 50.05	0.160
Nasal	48.03 ± 5.08	48.69 ± 2.57	0.749	47.88 ± 5.18	47.20 ± 1.91	0.733
Parafoveal	49.35 ± 4.05	48.68 ± 1.17	0.661	50.22 ± 4.02	49.06 ± 2.57	0.502
Total	42.23 ± 2.42	42.54 ± 1.20	0.752	42.04 ± 3.02	41.36 ± 2.78	0.643
CC						
Foveal	51.19 ± 4.47	52.75 ± 3.77	0.462	49.25 ± 6.83	49.80 ± 5.23	0.858
Superior	51.09 ± 3.80	51.67 ± 1.88	0.701	51.93 ± 4.40	50.89 ± 2.79	0.581
Inferior	53.51 ± 3.34	53.63 ± 1.36	0.931	53.69 ± 4.39	54.03 ± 5.17	0.891
Temporal	54.39 ± 1.67	53.90 ± 1.65	0.721	53.58 ± 2.49	55.43 ± 3.64	0.254
Nasal	52.61 ± 2.21	50.96 ± 3.54	0.282	51.11 ± 2.60	49.30 ± 4.90	0.372
Total	52.56 ± 1.06	52.58 ± 1.29	0.965	51.91 ± 1.57	51.89 ± 1.54	0.976
FAZ area						
SCP	0.41 ± 0.10	0.27 ± 0.04	<0.001	0.41 ± 0.10	0.29 ± 0.06	0.001
MCP	0.29 ± 0.09	0.21 ± 0.06	0.052	0.30 ± 0.09	0.21 ± 0.93	0.015
DCP	0.36 ± 0.10	0.31 ± 0.05	0.229	0.37 ± 0.09	0.32 ± 0.07	0.227

CRF (chorioretinal folds); SCP (superficial capillary plexus); MCP (middle capillary plexus); DCP (deep capillary plexus); CC (choriocapillaris); FAZ (foveal avascular zone).

Data are presented as mean ± standard deviation. Statistically significant values are shown in bold.

Table 3. Differences of optical coherence parameters between patients with chorioretinal folds and healthy patients.

Variable	CRF group	Control group	p value
CMT , μm	235.75 ± 15.06	240.63 ± 27.74	0.669
CST , μm	305.63 ± 50.09	210.00 ± 48.80	0.002

CRF: chorioretinal folds; CMT: central macular thickness; CST: choroidal subfoveal thickness.

Data are presented as mean ± standard deviation. Statistically significant values are shown in bold.

vasculature with regard to vascular diseases management. VD is a quantitative measure that is defined as the percentage area occupied by vessels over the total measured area. This parameter has shown to be highly reproducible and is currently used in research. Nonetheless, it has yet to be adopted in clinical practice, principally due to the lack of normative data available at the moment.^{13–16}

With regard to the FAZ area, it is believed to be a measurement that can indicate microvascular changes, but a wide range of variation of FAZ area has been reported as,

for example, females and eyes with shorter axial length have significantly larger FAZ.^{13–17}

Recently, OCTA features in patients with CRF have been reported. Del Turco et al. described OCTA imaging in three cases of CRF from different etiologies, including central serous chorioretinopathy, hypotony after deep sclerectomy, and anisometropia with unilateral hyperopia. The authors described a typical linear signal reduction in the DCP and CC slabs topographically associated with CRF. Therefore, they suggested that choroidal swelling may cause a stretching of the CC with a secondary interruption of the blood flow.¹ Gündüz et al. reported a case of CRF secondary to orbital venous malformation, in which OCTA revealed hyporeflective lines in the outer retinal and CC layers, so they hypothesized that the hyporeflective lines could correspond to the compacted RPE cells of the troughs of CRF or from flow alterations in the choroid.⁷ Chen et al. presented a case of CRF secondary to a pleomorphic adenoma of the lacrimal gland of orbit, and described the presence of areas with reduction of the signal in the DCP and in the CC slabs.²

In our study, we planned to investigate vascular alterations secondary to CRF measuring quantitative parameters of OCTA, including VD of SCP, MCP, DCP, and CC, and FAZ area of SCP, MCP, and DCP. Our results showed a significant diminution of foveal VD in the SCP and a significant enlargement of FAZ area in the SCP. We suggest that decrease foveal VD may be due to the enlargement of FAZ area. In fact, we found a significant enlargement of FAZ in SCP in both 6 mm × 6 mm and 4.5 mm × 4.5 mm scans. These results are contrary to that reported by Del Turco et al., who described a reduction of the FAZ area in the SCP. We explained these differences by the fact that in our study all the participants were females, while in Del Turco et al. report all the patients were males, and it is known that females had significantly larger superficial FAZ.^{1,13}

At MCP level, VD was decreased in the foveal region in the CRF group, such as in the SCP, only in the 6 mm × 6 mm scan. Furthermore, VD was significantly higher in the CRF group in the nasal region in both 6 mm × 6 mm and 4.5 mm × 4.5 mm scans, and in the parafoveal area in the 6 mm × 6 mm scan. We explained this increase in VD as a result of a compensatory mechanism between foveal and parafoveal areas.

In DCP and CC layers, we did not find statistical differences, even though we were able to observe a slight increase in VD of DCP and a subtle decrease in VD of CC in the CRF group. These results are contrary to what was previously reported in the literature, which consists of the presence of linear signal reductions in the DCP and CC slabs.^{1,2,7} Nonetheless, our study differed from the previous reports in that it only includes patients with CRF secondary to hyperopia.

Furthermore, we were able to demonstrate the presence of linear transversal signal attenuations in both DCP and CC layers in one eye of one of the patients with CRF (Figure 2(d) and 2(e)). We hypothesized that CRF secondary to primary hyperopia are a benign finding and does not produce any compromise of the retinal and choroidal vasculature.

Our results were in agreement with investigations of retinal microcirculation in patients with hyperopic amblyopia. Doğruzi et al. did not detect differences in VD of SCP, while Bayraktar et al. reported a diminution in VD of both superficial and deep retinal capillary plexus.^{18,19} We suggested that significant diminution of foveal VD in the SCP that we found in patients with CRF could also be secondary to hyperopia.

Regarding OCT parameters, we demonstrated a higher CST in the CRF group, and qualitatively, we were able to observe prominent choroidal vessels in OCT imaging of each patient with CRF. These results were similar to Soni et al. and Sigler et al. reports, who found a diffuse thickening of the choroid, suggesting that this diffusely thickened choroid decreases the internal circumference of the vitreous cavity, leading to the RPE and choroid being thrown into folds.^{20,21}

This study had some limitations. First, it was a retrospective study and the size of the sample was too small because of the low frequency of the disorder studied. Second, we did not use a gender-matched method when we selected the control group. Third, we did not measure axial length. Fourth, the field of view of OCTA was small.

To the best of our knowledge, this is the first study reported in the literature quantifying vessel density of retinal capillary plexus and choriocapillaris in a group of patients with a diagnosis of CRF secondary to primary hyperopia. We did not find a significant decrease of VD in DCP and CC, suggesting that there is no vascular involvement in this disorder, but further studies with bigger population are needed to confirm this hypothesis. When normative data are available, OCTA could be used to differentiate CRF secondary to hyperopia from CRF secondary to pathological conditions.

Declaration of conflicting interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

Informed consent

Informed consent for publication was obtained from all patients.

ORCID iDs

Lidia Remoli Sargues  <https://orcid.org/0000-0002-7919-0462>

Clara Monferrer Adsua  <https://orcid.org/0000-0003-0399-0903>

References

1. Del Turco C, Rabiolo A, Carnevali A, et al. Optical coherence tomography angiography features of chorioretinal folds: a case series. *Eur J Ophthalmol* 2017; 27(2): e35–e38.
2. Chen NN, Lai CH, Yueh-Ju T, et al. Post-operative optical coherence tomography angiography features of chorioretinal folds resulting from pleomorphic adenoma of the lacrimal gland (PALG) of orbit- a case report. *BMC Ophthalmol* 2020; 20(1): 486.
3. Grosso D, Borrelli E, Sacconi R, et al. Recognition, diagnosis and treatment of chorioretinal folds: current perspectives. *Clin Ophthalmol* 2020; 14: 3403–3409.
4. Bagnis A, Cutolo CA, Corallo G, et al. Chorioretinal folds: a proposed diagnostic algorithm. *Int Ophthalmol* 2019; 39(11): 2667–2673.
5. Sato T, Kohmoto R, Fukumoto M, et al. A case of diabetic macular edema with prominent chorioretinal folds. *Case Rep Ophthalmol* 2017; 8(1): 163–169.
6. Olsen TW, Palejwala NV, Lee LB, et al. Chorioretinal folds: associated disorders and a related maculopathy. *Am J Ophthalmol* 2014; 157(5): 1038–1047.
7. Gündüz AK, Shields CL, Bekdemir Ş, et al. Multimodal imaging of chorioretinal folds induced by orbital vascular malformation in two cases. *Eur J Ophthalmol* 2020; 1120672120957582.
8. Fine HF, Cunningham ET Jr, Kim E, et al. Autofluorescence imaging findings in long-standing chorioretinal folds. *Retin Cases Brief Rep* 2009; 3(2): 137–139.
9. Hefner L and Gerding H. Analysis of choroidal folds of the posterior pole in excessive hyperopia using SD-OCT with enhanced depth imaging (EDI). *Klin Monbl Augenheilkd* 2012; 229(4): 403–406.
10. Stanga PE, Tsamis E, Papayannis A, et al. Swept-source optical coherence tomography Angio™ (Topcon Corp, Japan): technology review. *Dev Ophthalmol* 2016; 56: 13–17.
11. Forte R, Haulani H and Jürgens I. Quantitative and qualitative analysis of the three capillary plexuses and choriocapillaris in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus without clinical signs of diabetic retinopathy: a prospective pilot study. *Retina* 2020; 40(2): 333–344.
12. Moussa M, Leila M, Bessa AS, et al. Grading of macular perfusion in retinal vein occlusion using en-face swept-source optical coherence tomography angiography: a retrospective observational case series. *BMC Ophthalmol* 2019; 19(1): 127.
13. Sambhav K, Grover S, Chalam KV. The application of optical coherence tomography angiography in retinal diseases. *Surv Ophthalmol* 2017; 62(6):838–866.
14. Choi W, Waheed NK, Moulton EM, et al. Ultrahigh speed swept source optical coherence tomography angiography of retinal and choriocapillaris alterations in diabetic patients with and without retinopathy. *Retina*. 2017; 37(1):11–21.
15. Tey KY, Teo K, Tan ACS, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: a review of current applications. *Eye Vis.* 2019; 6: 37.
16. Sun Z, Yang D, Tang Z, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: an updated review. *Eye* 2021; 35(1): 149–161.
17. Tick S, Rossant F, Ghorbel I, et al. Foveal shape and structure in a normal population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(8): 5105–5110.
18. Doğruzi S, Yılmazoğlu M, Kızıltoprak H, et al. Quantitative analysis of retinal microcirculation in children with hyperopic anisometropic amblyopia: an optical coherence tomography angiography study. *J AAPOS* 2019; 23: 201.e1–201.e5.
19. Bayraktar Z, Pehlivanoglu S, Bayraktar S, et al. Inter-ocular symmetry of vascular density and retinal thickness in unilateral anisometropic amblyopia. *Clin Ophthalmol* 2020; 14: 1261–1267.
20. Soni D, Takkar B, Pillay G, et al. Novel optical coherence tomography findings in idiopathic choroidal folds. *Clin Exp Optom* 2020; 103(6): 923–924.
21. Sigler EJ, Adam CR and Randolph JC. Spectral-domain optical coherence tomography characteristics of chorioretinal folds. *J Clin Exp Ophthalmol* 2013; 4(6): 318.

4. ANÁLISIS DEL MECANISMO
PATOGENICO DE LA TOXICIDAD
RETINIANA POR
HIDROXICLOROQUINA POR MEDIO DE
LA ANGIOGRAFÍA POR TOMOGRAFÍA
DE COHERENCIA ÓPTICA SWEPT-
SOURCE

La HCQ es un inmunomodulador utilizado en el tratamiento de numerosas enfermedades autoinmunes, como el lupus eritematoso sistémico (LES), la artritis reumatoide (AR) y el síndrome de Sjögren. Se trata de uno de los inmunosupresores con mejor perfil de seguridad a nivel sistémico, pues rara vez produce disfunción renal o hepática, cardiotoxicidad o alteraciones del sistema nervioso. Sin embargo, uno de sus principales inconvenientes es la toxicidad retiniana, la cual es irreversible y ocurre hasta en el 6% de los pacientes que toman HCQ durante más de 5 años. El mecanismo por el cual se produce la toxicidad parece ser debido a la unión de la HCQ a la melanina del EPR y de la coroides. Además, la HCQ produce una alteración del metabolismo celular de los fotorreceptores que puede dar lugar a la destrucción de los FR y de la CNE(66–73).

El diagnóstico precoz de la toxicidad retiniana por HCQ es fundamental para prevenir pérdidas de visión irreversibles, ya que si el daño se detecta antes de que el EPR se vea afectado es posible mantener la agudeza visual. “The Royal College of Ophthalmologists”, en sus recomendaciones para el cribado de la retinopatía por HCQ publicadas en 2020, aconseja la realización de una OCT y una imagen de autofluorescencia anual, y solo en el caso de que alguna de las anteriores resulte anormal se debe realizar un campo visual. Es por ello que la OCT es la principal técnica diagnóstica empleada en el screening de la retinopatía por HCQ(66,68,70,74).

Con el auge de la OCTA en el estudio de la patogenia de las enfermedades vasculares retinianas, se han llevado a cabo un buen número de investigaciones sobre la posible aplicación de la OCTA en el screening de la retinopatía por HCQ. Estas investigaciones concluyen que la DV en el PCS, el PCP y la CC disminuye en aquellos pacientes que han recibido tratamiento con HCQ durante más de 5 años(66,68,69,71,75–79).

En el presente estudio se comparó la DV en el PCS, PCI, PCP, PCT y la CC, y el área de la ZAF del PCS, PCI, PCP y PCT en tres grupos de pacientes: el grupo control, que incluyó 50 ojos de 25 pacientes; el grupo de bajo riesgo, formado por 57 ojos de 29 pacientes en tratamiento con HCQ durante 5 años o menos; y el grupo de alto riesgo, que incluyó 43 ojos de 22 pacientes que habían recibido tratamiento con HCQ a lo largo de más de 5 años.

En relación a la DV, no se encontraron diferencias entre el grupo de bajo riesgo y el grupo de alto riesgo, ni tampoco se alcanzó la significación estadística en el PCP ni en la CC. En el PCS se detectó un aumento de la DV en la región parafoveal temporal en los pacientes de bajo riesgo y un incremento de la DV nasal en el grupo de alto riesgo. En el PCI se demostró una mayor DV en las áreas superior y total en el grupo de bajo riesgo y una DV nasal y parafoveal mayor en los pacientes de alto riesgo. En el PCT se observó un aumento de la DV inferior y parafoveal en el grupo de alto riesgo. Estos resultados tan

diferentes podrían ser debidos a que el presente estudio tiene en cuenta el PCI y además emplea un equipo con tecnología SS. La OCTA-SS, al utilizar una longitud de onda superior, se ve menos atenuada por el EPR, especialmente en los pacientes en tratamiento con HCQ, en los que el EPR se encuentra más engrosado como consecuencia de la unión del fármaco a la melanina del EPR(68,69,71,78). Aunque la investigación de Forte et al. analiza el PCI y utiliza un equipo de OCTA-SS, su tamaño muestral es muy reducido(75). Otra posible explicación a los resultados del presente estudio sería la capacidad de la HCQ de disminuir la producción de endotelina-1, reduciendo la vasoconstricción(80). De esta forma, se sugirió que la HCQ podría ejercer un efecto protector en la vascularización retiniana, siendo el PCS y el PCI, los que posiblemente al presentar una mayor capacidad de autorregulación, presentaron un aumento de la DV estadísticamente significativo, a diferencia del PCP y de la CC.

Respecto al área de la ZAF, no se alcanzó la significación estadística, si bien es cierto que se observó un sutil incremento del área de la misma en todos los plexos capilares retinianos en el grupo de alto riesgo. Se sugirió que este aumento podría ser debido a la unión de la HCQ a la melanina de las células del EPR(68).


En la presente investigación se llevó a cabo un análisis de subgrupos en los pacientes afectados de LES, AR, síndrome de Sjögren y enfermedad del tejido conectivo, entre el grupo de bajo riesgo y el de alto riesgo. Lo que se observó fue un aumento de la DV en el PCS en los pacientes con LES, y un incremento de la DV en el PCT y en la CC en los sujetos con AR. Por el contrario, se demostró un descenso de la DV en el PCP y en la CC en los pacientes con síndrome de Sjögren y una menor DV en la CC en los sujetos con enfermedad del tejido conectivo. Por ello, se sugirió que la HCQ podría tener un mayor efecto inmunomodulador y antiinflamatorio en el LES y en la AR, reduciendo la microangiopatía retiniana y coroidea secundaria a dichas patologías.




A pesar de los numerosos estudios que concluyen que existe una disminución de la DV retiniana y coroidea en los pacientes que se encuentran en tratamiento con HCQ y que no presentan ningún signo de toxicidad retiniana, la presente investigación demuestra que la OCTA-SS no es útil en el cribado de la toxicidad retiniana por HCQ. En primer lugar, porque en la actualidad no existen bases de datos normativas; y en segundo lugar, porque la ausencia de disminución de la DV parece indicar que la toxicidad retiniana por HCQ no es debida a la afectación de la microcirculación retiniana y coroidea. Por otra parte, tanto el LES como la AR pueden dar lugar a una afectación de la microvascularización retiniana que fuera la responsable de la disminución de la DV en los mencionados estudios.

Por último, son necesarios más estudios que aborden la investigación del papel protector sobre la microvascularización retiniana que podría tener la HCQ en los pacientes

con LES y AR, por medio del análisis cuantitativo de la OCTA-SS en un mayor número de pacientes afectados de LES y AR que se encuentren en tratamiento con HCQ.

New insights in pathogenic mechanism of hydroxychloroquine retinal toxicity through optical coherence tomography angiography analysis

European Journal of Ophthalmology
1–10
© The Author(s) 2022
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/11206721221076313
journals.sagepub.com/home/ejo


Lidia Remolí Sargues , Clara Monferrer Adsua ,
Verónica Castro Navarro, María Luisa Hernández Garfella,
Laura Hernández Bel , Catalina Navarro Palop,
Javier Montero Hernández and Enrique Cervera Taulet

Abstract

Introduction: There is only a unique report with a small sample size studying hydroxychloroquine (HCQ) retinal toxicity with swept-source (SS) optical coherence tomography angiography (OCTA). The aim of this study was to quantify OCTA quantitative parameters in patients who underwent HCQ therapy.

Methods: We conducted a retrospective study. The study included 43 eyes of 22 patients taking HCQ for more than 5 years (high-risk group), 57 eyes of 29 patients taking HCQ for 5 years or less (low-risk group) and 25 eyes of 50 age-matched healthy controls. OCTA quantitative parameters (vessel density (VD) and foveal avascular zone (FAZ) area in superficial capillary plexus (SCP), middle capillary plexus (MCP), deep capillary plexus (DCP), total capillary plexus (TCP), and choriocapillaris (CC)) were recorded.

Results: In the low-risk group, VD in the SCP and MCP was increased compared to control group (p value $< .05$). In the high-risk group, VD in the SCP, MCP and TCP was increased (p value $< .05$). The subgroup analysis revealed an increased VD at SCP in systemic lupus erythematosus (SLE) high-risk patients, an increased VD at TCP and CC in rheumatoid arthritis (RA) high-risk subjects, and a decreased VD at CC level in the high-risk group patients with Sjögren's syndrome (SS) and connective tissue disease (CTD) (p value $< .05$). Furthermore, we demonstrated a significant enlargement of FAZ area at MCP level in the high-risk group patients with SS and CTD (p value $< .05$).

Conclusion: We demonstrated an increase of VD in patients who underwent HCQ treatment, so we suggest that HCQ retinal toxicity is not vascular mediated.

Keywords

Anatomy/biochemistry/physiology, retinal pathology/research, techniques of retinal examination, preventive medicine/screening, practice management

Date received: 29 August 2021; accepted: 25 December 2021

Introduction

Hydroxychloroquine (HCQ) is an anti-malarial drug used in the treatment of several autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis (RA) and various connective tissue diseases. HCQ is safe in pregnancy and has a good side effect profile, rarely causing renal and hepatic dysfunction, cardiotoxicity, or

Department of Ophthalmology, Consorcio Hospital General Universitario of Valencia, Valencia, Spain

Corresponding author:

Lidia Remolí Sargues, Servicio de Oftalmología, Hospital General Universitario of Valencia, Av. Tres Cruces 2, 46014 Valencia, Spain.
Email: lidiaquince@hotmail.com

nervous system disorders. Nonetheless, retinal toxicity is a major and potentially irreversible side effect of this drug, occurring in approximately 6% of patients receiving HCQ therapy for more than 5 years.¹⁻⁵

The mechanism of retinal toxicity is not well understood. HCQ is likely to bind to melanin within retinal pigment epithelium (RPE) and choroid, which are melanin-rich ocular tissues. The drug increases its concentration over time, finally disrupting retinal cell metabolism and destroying photoreceptors (PR) and the outer nuclear layer (ONL). However, it was reported that primary damage occurred on PR layer and ONL, and posteriorly, the RPE damage developed. Risk factors associated with the development of HCQ retinopathy include daily dose greater than 5 mg/kg, cumulative dose greater than 1000 g, duration of use over 5 years, elderly age, kidney or liver dysfunction, preexisting maculopathy or concomitant use of tamoxifen.^{1,6-8}

Early detection of HCQ retinal toxicity is crucial in order to avoid catastrophic and irreversible visual loss, since the toxicity may progress despite discontinuation of treatment because a continued reservoir is present and clearance from the body can take several months. It has been reported that central vision can be preserved if the damage is detected before RPE alterations occur.^{1,3} The Royal College of Ophthalmologists published new recommendations for the screening of HCQ retinopathy in 2020. They recommended optical coherence tomography (OCT) and fundus autofluorescence as the main screening tools. Only if any of these tests are abnormal, they recommend performing a visual field (VF) testing in order to confirm the possible diagnosis of a definite HCQ retinopathy.^{5,9}

OCT is the most commonly used device for the screening of HCQ retinal toxicity. OCT angiography (OCTA) is a recently developed technique based on motion contrast imaging of blood flow that allows a depth-resolved and three-dimensional visualization of retinal and choroidal microvascular structures. Swept-source (SS)-OCTA is a newly developed system with longer center wavelength (1050 nm versus 840 nm) that is less attenuated by the RPE and obtains better images in patients with optical opacities.^{6,10-12} There is only a unique report with a small sample size studying HCQ retinal toxicity with SS-OCTA.¹¹

The purpose of our study is to report OCTA quantitative parameters of retinal and choroidal microvasculature in patients who underwent HCQ therapy in order to further insight into the vascular pathogenic mechanism of HCQ retinopathy.

Methods

Study population

A retrospective, observational, and single center study was conducted in the Department of Ophthalmology of the

University General Hospital of Valencia (Spain) between December 1st 2020 and July 15th 2021. Written informed consent was obtained from all patients and the study was adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki.

All patients who were consulted for ophthalmological examination from rheumatology and with no signs of HCQ retinopathy in the OCT and fundus autofluorescence (FAF) were included in the study. Patients treated with HCQ for more than 5 years were included in the high-risk group, while patients taking HCQ for 5 years or less were classified as the low-risk group.^{4,6,13}

In both patients and controls, exclusion criteria were: ocular diseases that can affect ocular circulation (age-related macular degeneration, diabetic retinopathy, retinal vascular occlusion, uveitis and glaucoma), history of other drug inducing retinal toxicity, history of any intraocular surgery (with exception of uneventful cataract surgery), media opacities or fixation instability and images with low quality or with significant motion artifact.

Examination

Age, gender, years of duration of HCQ therapy and medical history (SLE, RA, Sjögren's syndrome (SS) or connective tissue disease (CTD) (mixed or undifferentiated)) were recorded from each patient. All participants underwent a complete ophthalmic examination consisting of best-corrected visual acuity (BCVA) tested with the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) charts and slit-lamp biomicroscopy of the anterior and posterior segment.

Color fundus imaging, FAF, and SS OCT and OCTA were performed using the multimodal SS-OCT, DRI OCT Triton Plus (Topcon, Tokyo, Japan). FAF was evaluated in order to rule out signs of HCQ retinal toxicity, including hyper-autofluorescence in the parafoveal region, mottled autofluorescence with patchy areas of hypo-autofluorescence, or the typical bull's eye pattern characterized by a parafoveal hypo-autofluorescence. OCT imaging was evaluated to discard the presence of signs of HCQ retinopathy, including loss of the external limiting membrane, attenuation (thinning, depression or increased granularity) of the ellipsoid zone, loss of a clearly identifiable continuous interdigitation zone, parafoveal thinning of the ONL ("flying saucer" or "sombbrero" sign) and RPE damage. Moreover, we measured manually central macular thickness (CMT) and choroidal subfoveal thickness (CST) using the caliper function of the device. CMT was defined as the distance between the inner limiting membrane (ILM) and the Bruch's membrane (BM) at the fovea, and CST was defined as the distance between the BM and the sclerochoroidal junction under the fovea (Figure 1). CMT in healthy subjects has been reported to range from 176.4 μ m to 278 μ m,¹⁴ and normal CST has

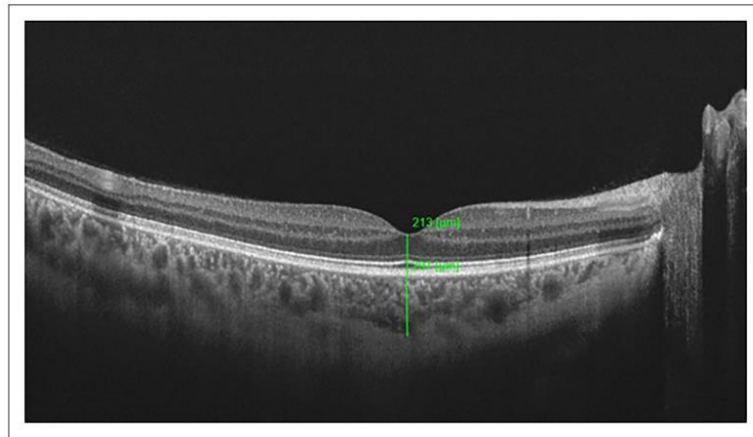


Figure 1. Exemplary optical coherence tomography of a healthy patient depicting the manual measurement of central macular thickness and choroidal subfoveal thickness with the caliper function of the device.

been reported to be between 191 μm and 350 μm .¹⁵ Nonetheless, both CMT and CST can be influenced by a variety of factors, including age, sex, refractive error and axial length,^{14,15} so we included a range of CMT and CST between 150 μm and 350 μm and between 150 μm and 375 μm , respectively.

Optical coherence tomography angiography measurements

SS-DRI-OCT Triton Plus uses a 1050 nm wavelength with a scanning speed of 100,000 A-scans per second. Images were analyzed by the automated OCTARA (OCT Angiography Ratio Analysis) algorithm provided by the manufacturer, which is based on an intensity ratio analysis.¹² OCTA imaging was performed with a cube of 6 mm \times 6 mm centered on the fovea.

For this study, we used the automatic layer segmentation provided by the built-in software segmentation algorithm. Superficial capillary plexus (SCP) was the vascular plexus shown in the slab between 2.6 μm below ILM and 15.6 μm below the inner plexiform layer (IPL). Middle capillary plexus (MCP) was defined as the slab between 15.6 and 31.2 μm below the IPL. Deep capillary plexus (DCP) was located in the slab between 31.2 and 70.2 μm below the IPL. TCP was defined as the slab located between ILM and retinal pigment epithelium (RPE). Choriocapillaris (CC) included the slab from the Bruch's membrane (BM) (0 mm offset at BM setting) to 31.2 μm below the BM.¹⁶

OCTA evaluation included vessel density (VD) (expressed as %) and foveal avascular zone (FAZ area)

(expressed in mm^2). VD, defined as the percentage of the total area occupied by microvasculature, was provided by the IMAGEnet software of the device, which generates color-coded flow density maps of each slab. The instrument automatically applies an ETDRS grid overlaying an external ring with 3 mm of diameter and a central subfield circular area with 1 mm of diameter. The external ring is composed by superior, inferior, temporal and nasal subfields. Parafoveal VD was defined as the mean of the four quadrants in the external ring. Total VD was defined as the mean of the five ETDRS quadrants. FAZ area in the four capillary plexus was performed manually using the software caliper function.

Statistical analysis

The continuous variables (including VD, FAZ area, CMT and CST) were presented as mean \pm standard deviation (SD). Kolmogorov-Smirnov test was used to determine the distribution of all the variables. Thus, depending on their distribution, ANOVA (analysis of variance) test or Kruskal-Wallis were performed by comparing the three groups. Pairwise comparisons were investigated with post hoc Bonferroni test. Furthermore, a subgroup analysis was performed in the group of patients with SLE, RA, SS and CTD between the low-risk group and the high-risk group using the Student's t test or Mann-Whitney test, depending on the distribution of each variable. Statistical significance was set at $p < .05$. We used Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., Redmond, WA) and IBM SPSS Statistics 25 software (IBM, Armonk, NY) for statistical analyses.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of all study eyes.

	Control n = 50 eyes of 25 patients	Low-risk group n = 57 eyes of 29 patients	High-risk group n = 43 eyes of 22 patients	p value
Age (mean \pm SD), years	55.05 \pm 13.60	53.51 \pm 10.25	53.37 \pm 12.57	.730
Sex (male/female)	9/16	6/23	4/18	.067
BCVA (mean \pm SD), letters ETDRS	83.38 \pm 3.92	83.75 \pm 6.69	83.93 \pm 2.79	.103
HCQ therapy duration (mean \pm SD), years	—	2.57 \pm 1.58	12.00 \pm 4.32	<.001
Diseases (LES/RA/SS/CTD)	—	6/15/2/6	15/2/1/4	<.001

Data are presented as mean \pm SD. BCVA: best-corrected visual acuity; ETDRS: early treatment diabetic retinopathy study; HCQ: hydroxychloroquine; LES: systemic lupus erythematosus; RA: rheumatoid arthritis; SS: Sjögren's syndrome; CTD: connective tissue disease.

Table 2. Optical coherence tomography parameters.

	Control n = 50	Low-risk group n = 57	High-risk group n = 43	p value
CMT, μ m	263.14 \pm 27.81	252.05 \pm 22.92	248.91 \pm 22.08*	.009
CST, μ m	288.19 \pm 85.53	295.02 \pm 79.73	286.70 \pm 70.35	.849

All values are presented as mean \pm SD. CMT: central macular thickness; CST: choroidal subfoveal thickness.

*Symbols depict the statistically significant change from control eyes.

†Symbols depict the statistically significant change from no DR.

Results

Demographic and clinical characteristics

There was no significant difference between the patient and control groups in terms of age, gender and BCVA. Demographic and clinical characteristics of all study eyes are listed in Table 1. The study included 43 eyes of 22 patients taking HCQ for more than 5 years (high-risk group), 57 eyes of 29 patients taking HCQ for 5 years or less (low-risk group) and 25 eyes of 50 age-matched healthy controls. The mean age was 55.05 \pm 13.60 years in the control group, 53.51 \pm 10.25 years in the low-risk group and 53.37 \pm 12.57 years in the high-risk group. There were 9 males (36%) and 16 females (64%) in the control group, 6 males (20.69%) and 23 females (79.31%) in the low-risk group, and 4 males (18.18%) and 18 females (81.82%) in the high-risk group. The average BCVA was 83.38 \pm 3.92 letters in the control group, 83.75 \pm 6.69 letters in the low-risk group and 83.93 \pm 2.79 letters in the high-risk group. The mean duration of HCQ therapy was 2.57 \pm 1.58 years in the low-risk group and 12.00 \pm 4.32 years in the high risk group. In the low-risk group, 6 patients (20.69%) had SLE, 15 (51.72%) had RA, 2 (6.90%) had SS and 6 (20.69%) had CTD, whereas in the high-risk group 15 patients (68.18%) had SLE, 2 (9.09%) had RA, 1 (4.55%) had SS and 4 (18.18%) had CTD.

Optical coherence tomography parameters

Mean CMT was 263.14 \pm 27.81 μ m in the control group, 252.05 \pm 22.92 μ m in the low-risk group and 248.91 \pm

22.08 μ m in the high risk group. CMT was decreased in the low-risk group and the high-risk group, but only achieved statistical significance in the high-risk group (p .009). Regarding CST, no significant differences were observed (p .849) (Table 2).

Optical coherence tomography angiography analysis

Qualitative analysis of OCTA was apparently normal in all the groups (Figure 2). At SCP, VD was increased in the low-risk group compared to control group in the temporal region (p .034) and was superior in the high-risk group compared to control group in the nasal area (p .032). At MCP, total and superior VD were higher in the low-risk group compared to healthy patients (p .039 and .017), and parafoveal and nasal VD were increased in the high-risk group compared with control group (p .012 and .016). At TCP, parafoveal and inferior VD were superior in the high-risk group compared to control patients (p .007 and .037). Nonetheless, at DCP and CC levels no significant differences were achieved. Regarding FAZ area in retinal capillary plexus, no statistical significant differences were observed, although the FAZ area showed a subtle enlargement in the high-risk group (Table 3).

Subgroup analysis

In patients with SLE, VD was increased significantly at SCP in the high-risk group compared to low-risk group in total and parafoveal area and in the inferior quadrant (p .002, .002 and .018, respectively). In the rest of retinal

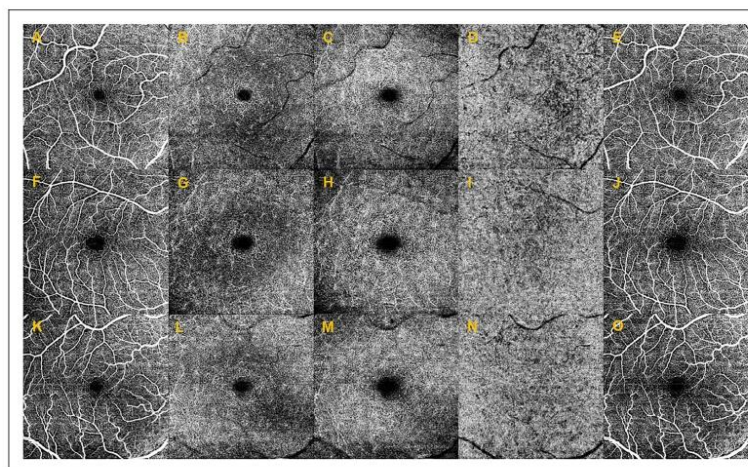


Figure 2. Optical coherence tomography angiography findings. In the superior row we showed optical coherence tomography angiography (OCTA) of the right eye (OD) of a healthy patient (A–E). Superficial capillary plexus (SCP) (A), middle capillary plexus (MCP) (B), deep capillary plexus (DCP) (C), choriocapillaris (CC) (D) and total capillary plexus (TCP) (E) were unremarkable. In the middle row (F–J) we can observe the OCTA of the OD of a patient with rheumatoid arthritis (RA) of the low-risk group, and no specific abnormal findings were observed in SCP (F), MCP (G), DCP (H), CC (I) and TCP (J). Inferior row revealed OCTA findings in the OD of a patient with RA of the high-risk group (K–O). As in the low-risk group, SCP (K), MCP (L), DCP (M), CC (N) and TCP (O) were apparently normal.

capillary plexus and in the CC no significant differences were observed. Respect to FAZ area, it was enlarged in all retinal capillary plexus, but statistical significance was not achieved (Table 4).

In subjects with RA, central VD in SCP and TCP was decreased in the high-risk group (p .041 and .001), even though in the inferior quadrant of TCP it was significantly increased in the high-risk group (p .037). At MCP and DCP, no significant differences were observed. At CC, total VD and VD in the nasal quadrant were significantly increased in the high-risk group compared to low-risk group (p .025 and .031). Similar to SLE patients, subjects with RA presented a slight enlargement of FAZ area at SCP, DCP and TCP, although statistical significance was not achieved (Table 4).

In the subgroup of subjects with SS, VD in the nasal region of DCP was significantly decreased in the high-risk group (p .037). Furthermore, VD in the superior and nasal quadrants of the CC was significantly decreased in the high-risk group (p .044 and .016). At SCP, MCP and TCP no statistical significant differences were observed. Respect to FAZ area, it was significantly enlarged at MCP (p .027) (Table 5).

In patients with CTD, no statistical differences were observed in the retinal capillary plexus. However, at CC VD in the superior quadrant was significantly higher in the high-risk group compared to low-risk group (p .043),

and was decreased in the temporal and nasal regions in the high-risk group (p .029 and .014). Regarding FAZ area, as in the SS patients, it was significantly enlarged at MCP (p .032) (Table 5).

Discussion

HCQ is derived from quinine and has numerous intracellular effects that lead to immunomodulation: inhibition of macrophage function, T and B-cells receptors, matrix metalloproteinases, and toll-like receptors.^{5,17} It is associated with irreversible retinal toxicity, but is widely used in several autoimmune diseases due to its favorable side effect profile. Due to its immunomodulatory, anti-inflammatory, anti-thrombotic and anti-proliferative effects, it has a protective vascular role in patients with autoimmune disorders, such as SLE and RA. SLE may be associated with retinal and choroidal immune complex-mediated microangiopathy, and RA increases cardiovascular disease due to inflammatory atherosclerosis. Therefore, even though HCQ may lead to retinal and choroidal microvasculature toxicity, it is also possible that HCQ may have a protective role preserving the microvascular ocular structures while reducing the activity of autoimmune diseases.^{4,5,11,13,18,19}

Early detection of HCQ retinal toxicity is essential in order to avoid irreversible visual loss, since the toxicity

Table 3. Quantitative parameters of optical coherence tomography angiography.

	Control n = 50	Low-risk group n = 57	High-risk group n = 43	p value
CC VD				
Central	53.03 ± 4.00	52.26 ± 3.76	53.17 ± 3.67	.423
Superior	52.81 ± 2.01	51.29 ± 2.08	52.33 ± 2.54	0.382
Inferior	54.53 ± 2.41	54.02 ± 3.00	53.50 ± 3.30	.215
Temporal	54.09 ± 1.95	54.41 ± 2.90	53.93 ± 1.96	.571
Nasal	53.58 ± 2.63	53.32 ± 2.20	53.13 ± 2.54	.664
Total	53.61 ± 1.05	53.26 ± 1.42	53.21 ± 1.37	.226
Parafoveal	53.75 ± 1.00	53.51 ± 1.41	53.22 ± 1.54	.142
SCP VD				
Central	20.08 ± 3.75	20.27 ± 4.36	20.21 ± 5.01	.973
Superior	48.15 ± 2.43	48.39 ± 2.06	48.49 ± 2.90	.762
Inferior	48.63 ± 2.50	49.53 ± 3.10	49.36 ± 2.88	.208
Temporal	46.46 ± 1.85	47.38 ± 2.27*	47.26 ± 1.82	.034
Nasal	45.41 ± 2.19	46.18 ± 2.35	46.59 ± 2.37*	.032
Total	41.74 ± 1.29	42.35 ± 1.71	42.38 ± 1.66	.058
Parafoveal	47.16 ± 1.42	47.87 ± 1.85	47.93 ± 1.78	.034
MCP VD				
Central	28.16 ± 6.16	28.48 ± 5.80	26.31 ± 6.53	.184
Superior	42.54 ± 3.61	44.11 ± 2.78*	44.09 ± 3.37	.017
Inferior	43.97 ± 3.28	45.08 ± 4.95	45.42 ± 5.13	.225
Temporal	45.12 ± 2.38	45.45 ± 3.27	45.96 ± 3.10	.373
Nasal	44.40 ± 2.82	45.56 ± 3.09	45.99 ± 2.68*	.016
Total	40.84 ± 1.53	41.74 ± 2.35*	41.55 ± 1.84	.039
Parafoveal	44.01 ± 2.27	45.05 ± 2.67	45.36 ± 2.21*	.012
DCP VD				
Central	14.04 ± 4.46	16.70 ± 4.73	15.11 ± 5.72	.123
Superior	51.27 ± 3.57	51.10 ± 2.62	51.96 ± 4.11	.437
Inferior	51.17 ± 2.95	52.36 ± 4.40	52.34 ± 3.61	.158
Temporal	47.66 ± 2.55	47.97 ± 3.47	48.68 ± 2.91	.243
Nasal	49.29 ± 3.16	49.75 ± 3.43	50.12 ± 3.09	.435
Total	42.87 ± 1.79	43.58 ± 2.33	43.65 ± 1.87	.091
Parafoveal	49.85 ± 1.95	50.30 ± 2.70	50.78 ± 2.36	.150
TCP VD				
Central	21.55 ± 4.03	21.71 ± 4.82	21.20 ± 5.04	.856
Superior	52.35 ± 2.15	52.56 ± 1.76	53.03 ± 1.95	.226
Inferior	52.28 ± 2.47	53.10 ± 2.18	53.40 ± 2.17*	.037
Temporal	50.53 ± 1.55	51.10 ± 1.60	50.94 ± 1.59	.147
Nasal	49.72 ± 1.68	50.34 ± 2.37	50.65 ± 1.84	.060
Total	45.29 ± 1.19	45.76 ± 1.35	45.84 ± 1.51	.073
Parafoveal	51.22 ± 1.14	51.78 ± 1.31	52.01 ± 1.42*	.007
FAZ area				
SCP	0.29 ± 0.11	0.28 ± 0.10	0.30 ± 0.10	.724
MCP	0.22 ± 0.11	0.21 ± 0.09	0.25 ± 0.11	.182
DCP	0.32 ± 0.11	0.29 ± 0.10	0.33 ± 0.12	.143
TCP	0.33 ± 0.11	0.33 ± 0.11	0.35 ± 0.12	.267

All values are presented as mean ± SD. CC: choriocapillaris; VD: vessel density; SCP: superficial capillary plexus; MCP: middle capillary plexus; DCP: deep capillary plexus; TCP: total capillary plexus; FAZ: foveal avascular zone.

*Symbols depict the statistically significant change from control eyes.

†Symbols depict the statistically significant change from low-risk group.

may progress despite discontinuation of treatment. Nevertheless, the diagnosis of HCQ retinopathy should be made conclusively, as cessation of treatment can lead to reactivation of systemic disease.^{1,3,5} The American

Academy of Ophthalmology (AAO) published recommendations for screening of HCQ retinopathy in 2016. The patients should be screened at the start of medication and annually after 5 years of treatment. The AAO

Table 4. Quantitative parameters of optical coherence tomography angiography in the subgroup of patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis.

	SLE			AR		
	Low-risk group n = 12	High-risk group n = 29	p value	Low-risk group n = 29	High-risk group n = 4	p value
CC VD						
Central	53.77 ± 3.76	53.48 ± 3.40	.813	51.01 ± 3.52	54.60 ± 2.24	.058
Superior	53.07 ± 2.08	52.22 ± 2.52	.308	52.07 ± 2.13	50.95 ± 2.27	.337
Inferior	54.73 ± 3.01	53.26 ± 2.60	.123	54.47 ± 2.39	57.49 ± 6.58	.428
Temporal	53.84 ± 2.23	54.17 ± 1.75	.625	54.31 ± 3.36	55.92 ± 2.29	.362
Nasal	53.08 ± 2.53	53.32 ± 2.21	.761	53.01 ± 2.31	55.99 ± 3.63	.031
Total	53.70 ± 1.03	53.29 ± 1.20	.309	52.97 ± 1.58	54.99 ± 1.83	.025
Parafoveal	53.68 ± 0.79	53.24 ± 1.08	.211	53.47 ± 1.60	55.09 ± 2.61	.088
SCP VD						
Central	21.51 ± 3.93	21.30 ± 5.46	.905	19.51 ± 4.59	17.43 ± 0.93	.041
Superior	47.63 ± 1.58	49.21 ± 2.35	.039	49.09 ± 2.18	44.23 ± 5.07	.150
Inferior	47.45 ± 2.94	49.78 ± 2.67	.018	50.54 ± 3.19	51.12 ± 3.25	.735
Temporal	46.77 ± 1.01	47.41 ± 1.72	.233	47.71 ± 2.74	48.57 ± 0.73	.185
Nasal	46.03 ± 1.38	46.71 ± 2.10	.313	46.23 ± 2.63	48.38 ± 2.22	.132
Total	41.88 ± 0.60	42.88 ± 1.33	.002	42.62 ± 1.94	41.95 ± 0.40	.504
Parafoveal	46.97 ± 0.85	48.28 ± 1.68	.002	48.39 ± 2.16	48.08 ± 0.30	.775
MCP VD						
Central	27.55 ± 7.20	27.06 ± 7.09	.841	28.86 ± 5.82	24.74 ± 6.04	.196
Superior	44.50 ± 2.79	44.73 ± 2.87	.814	44.24 ± 3.04	39.40 ± 6.18	.216
Inferior	44.61 ± 3.79	45.70 ± 5.06	.505	45.83 ± 5.18	48.34 ± 4.81	.367
Temporal	45.95 ± 2.21	46.16 ± 3.01	.827	45.25 ± 3.77	48.94 ± 1.83	.066
Nasal	46.52 ± 1.82	46.01 ± 1.76	.404	45.41 ± 3.72	49.40 ± 4.07	.055
Total	41.83 ± 1.39	41.93 ± 1.42	.828	41.92 ± 2.88	42.17 ± 1.65	.869
Parafoveal	45.40 ± 1.35	45.65 ± 1.97	.683	45.18 ± 3.11	46.52 ± 0.62	.404
DCP VD						
Central	16.68 ± 3.31	15.72 ± 6.15	.524	16.08 ± 4.71	12.82 ± 4.78	.204
Superior	51.59 ± 2.58	52.48 ± 4.30	.421	51.22 ± 2.36	50.62 ± 5.18	.833
Inferior	51.79 ± 2.38	52.69 ± 3.69	.439	53.06 ± 5.33	51.88 ± 1.80	.667
Temporal	47.62 ± 2.33	49.12 ± 2.98	.128	48.38 ± 4.28	50.71 ± 2.44	.299
Nasal	50.74 ± 1.41	50.19 ± 2.85	.408	49.38 ± 4.15	52.27 ± 5.68	.220
Total	43.68 ± 1.14	44.01 ± 1.82	.536	43.63 ± 2.95	43.66 ± 1.70	.981
Parafoveal	50.43 ± 1.45	51.12 ± 2.45	.274	50.51 ± 3.35	51.37 ± 1.46	.619
TCP VD						
Central	22.68 ± 4.50	22.69 ± 5.00	.997	20.88 ± 4.97	16.32 ± 1.25	.001
Superior	52.21 ± 1.83	53.21 ± 1.96	.136	53.20 ± 1.80	52.08 ± 2.81	.286
Inferior	52.43 ± 2.60	53.51 ± 1.82	.133	53.60 ± 2.14	56.17 ± 2.68	.037
Temporal	50.79 ± 0.89	51.11 ± 1.50	.502	51.29 ± 1.66	51.72 ± 1.58	.631
Nasal	50.67 ± 1.83	50.78 ± 1.85	.872	50.41 ± 2.57	51.15 ± 0.72	.576
Total	45.76 ± 0.57	46.26 ± 1.42	.113	45.88 ± 1.30	45.49 ± 0.10	.558
Parafoveal	51.53 ± 0.72	52.16 ± 1.40	.068	52.13 ± 1.43	52.78 ± 0.43	.375
FAZ área						
SCP	0.26 ± 0.09	0.28 ± 0.11	.641	0.28 ± 0.11	0.33 ± 0.10	.432
MCP	0.23 ± 0.08	0.25 ± 0.12	.589	0.22 ± 0.11	0.22 ± 0.15	.974
DCP	0.30 ± 0.10	0.32 ± 0.12	.683	0.29 ± 0.11	0.36 ± 0.22	.600
TCP	0.30 ± 0.10	0.35 ± 0.14	.268	0.34 ± 0.12	0.40 ± 0.06	.315

All values are presented as mean ± SD. SLE: systemic lupus erythematosus; RA: rheumatoid arthritis; CC: choriocapillaris; VD: vessel density; SCP: superficial capillary plexus; MCP: middle capillary plexus; DCP: deep capillary plexus; TCP: total capillary plexus; FAZ: foveal avascular zone.

recommended the use of both VF and OCT for the screening. Moreover, they recommend multifocal electroretinogram, FAF, microperimetry and adaptive optics retinal

imaging, when needed. Nonetheless, the Royal College of Ophthalmologists published new recommendations for the screening of HCQ retinopathy in 2020, advising the use

Table 5. Quantitative parameters of optical coherence tomography angiography in the subgroup of patients with sjögren's syndrome and connective tissue disease.

	SS			CTD		
	Low-risk group n = 4	High-risk group n = 2	p value	Low-risk group n = 12	High-risk group n = 8	p value
CC VD						
Central	54.31 ± 4.22	53.23 ± 0.25	.751	53.11 ± 3.55	51.33 ± 5.22	.374
Superior	53.31 ± 1.25	50.39 ± 0.83	.044	51.69 ± 2.04	53.88 ± 2.43	.043
Inferior	54.71 ± 5.94	50.75 ± 0.44	.425	51.97 ± 2.57	53.07 ± 2.82	.376
Temporal	54.40 ± 2.34	50.82 ± 0.51	.051	55.22 ± 2.57	52.86 ± 1.38	.029
Nasal	53.91 ± 1.21	49.55 ± 1.36	.016	54.09 ± 1.79	51.90 ± 1.72	.014
Total	54.13 ± 1.96	50.95 ± 0.24	.097	53.21 ± 1.06	52.61 ± 0.53	.153
Parafoveal	54.08 ± 1.84	50.38 ± 0.37	.056	53.24 ± 1.31	52.93 ± 1.48	.619
SCP VD						
Central	21.63 ± 2.51	16.79 ± 0.49	.064	20.39 ± 4.68	18.51 ± 3.93	.362
Superior	47.75 ± 1.32	46.89 ± 0.37	.436	47.68 ± 1.98	48.38 ± 2.02	.452
Inferior	49.25 ± 3.76	48.06 ± 0.76	.697	49.29 ± 1.74	47.30 ± 2.97	.119
Temporal	47.28 ± 2.28	45.18 ± 0.95	.189	47.23 ± 2.60	45.54 ± 3.21	.487
Nasal	47.42 ± 1.94	45.59 ± 0.49	.281	45.80 ± 2.60	45.54 ± 3.21	.845
Total	42.67 ± 1.82	40.50 ± 0.27	.190	42.07 ± 1.88	41.26 ± 2.41	.406
Parafoveal	47.93 ± 1.90	46.43 ± 0.46	.357	47.50 ± 1.45	46.95 ± 2.31	.562
MCP VD						
Central	25.79 ± 3.21	24.93 ± 2.37	.759	29.38 ± 5.05	24.74 ± 5.61	.070
Superior	44.82 ± 2.17	41.48 ± 1.02	.236	43.14 ± 2.30	44.51 ± 1.88	.179
Inferior	48.24 ± 8.82	41.89 ± 0.16	.391	42.71 ± 3.04	43.82 ± 5.82	.582
Temporal	47.12 ± 3.60	41.89 ± 0.76	.127	44.87 ± 2.83	44.73 ± 2.83	.911
Nasal	46.28 ± 2.50	42.16 ± 0.87	.098	44.72 ± 2.50	45.15 ± 3.42	.744
Total	42.45 ± 2.75	38.67 ± 0.38	.142	40.96 ± 1.48	40.59 ± 2.63	.691
Parafoveal	46.62 ± 2.81	42.11 ± 0.11	.099	43.86 ± 2.22	44.55 ± 2.98	.559
DCP VD						
Central	16.04 ± 2.93	15.09 ± 3.28	.734	18.41 ± 6.30	14.07 ± 5.28	.126
Superior	53.16 ± 2.76	49.61 ± 0.61	.079	49.65 ± 2.82	51.34 ± 3.37	.240
Inferior	52.98 ± 6.29	48.28 ± 0.26	.375	51.05 ± 2.49	52.31 ± 4.14	.404
Temporal	48.97 ± 2.17	47.11 ± 0.41	.319	46.98 ± 2.84	46.47 ± 1.77	.622
Nasal	51.57 ± 2.75	46.64 ± 0.12	.037	49.03 ± 2.97	49.72 ± 2.13	.577
Total	44.54 ± 2.34	41.35 ± 0.72	.148	43.02 ± 1.44	42.78 ± 1.86	.749
Parafoveal	51.67 ± 2.24	47.91 ± 0.09	.090	49.18 ± 1.71	49.96 ± 2.17	.378
TCP VD						
Central	22.05 ± 1.59	18.67 ± 1.25	.061	22.63 ± 5.56	18.85 ± 4.54	.127
Superior	51.55 ± 0.80	52.31 ± 1.60	.623	51.70 ± 1.27	53.00 ± 1.69	.065
Inferior	53.05 ± 2.46	52.44 ± 0.39	.761	52.58 ± 1.62	51.85 ± 2.10	.391
Temporal	50.87 ± 2.03	49.20 ± 1.14	.356	51.01 ± 1.96	50.37 ± 1.83	.474
Nasal	51.35 ± 1.83	49.76 ± 0.71	.323	49.49 ± 2.47	50.17 ± 2.37	.550
Total	45.78 ± 0.97	44.48 ± 0.41	.084	45.48 ± 2.08	44.85 ± 1.76	.488
Parafoveal	51.51 ± 1.19	50.93 ± 0.20	.284	51.20 ± 1.39	51.35 ± 1.69	.828
FAZ area						
SCP	0.32 ± 0.08	0.41 ± 0.11	.312	0.29 ± 0.11	0.33 ± 0.07	.362
MCP	0.19 ± 0.05	0.40 ± 0.11	.027	0.17 ± 0.07	0.23 ± 0.04	.032
DCP	0.29 ± 0.04	0.44 ± 0.12	.338	0.27 ± 0.10	0.34 ± 0.06	.075
TCP	0.36 ± 0.08	0.43 ± 0.11	.426	0.34 ± 0.13	0.38 ± 0.07	.475

All values are presented as mean ± SD. SS: Sjögren's syndrome; CTD: connective tissue disease; CC: choriocapillaris; VD: vessel density; SCP: superficial capillary plexus; MCP: middle capillary plexus; DCP: deep capillary plexus; TCP: total capillary plexus; FAZ: foveal avascular zone.

of both OCT and FAF for the screening. Only if any of these tests results abnormal, they recommend the realization of a VF.^{1,3,9,20} Because of that, OCT is most commonly used device for the screening of HCQ retinal toxicity.

Our study revealed a diminution of CMT in the high-risk group compared to healthy patients. These results were in agreement with the investigation of Kim et al. which revealed macular thinning in patients with HCQ

retinopathy.²¹ Moreover, Uslu et al. demonstrated a diminution of the thickness of the PR layer and the ganglion cell-inner plexiform layer (GCIPL).¹⁰ We suggest that the lower CMT observed in the high-risk group may be secondary to the thinning of PR layer and GCIPL.

OCTA is a new noninvasive imaging system that can quantitatively measure FAZ area and VD of retinal capillary plexus and CC in clinical practice thanks to software implementations. OCTA has been used to study the pathogenesis of various retinal vascular diseases such as diabetic retinopathy, retinal vein occlusion and choroidal neovascularization. Recently, the efficacy of OCTA in HCQ retinopathy has been evaluated by several authors. It is thought that HCQ had effects on the metabolism of retinal cells. Thus, these alterations may affect retinal capillary and CC VD. Additionally, it is well known that HCQ binds to melanin in the RPE, which may affect the FAZ area.^{3,4,6,22}

The majority of the authors conclude that VD decreased in SCP, DCP and CC in patients taking HCQ for more than 5 years.^{1,3,4,6,11,13,18,22,23} In our investigation, we observed that VD in the temporal quadrant of SCP, and total VD and superior VD in MCP were increased in the low-risk group compared to control patients. Moreover, VD in the nasal area of SCP, parafoveal and nasal VD in MCP, and parafoveal and inferior VD of TCP were increased in the high-risk group compared to control group. We suggest four possible explanations for these results. First, our study included fewer patients with SS and CTD than previous investigations. Second, the majority of the investigations did not include the MCP in their analysis, and this may affect their results. Third, HCQ might have a protective vascular role in patients with autoimmune disorders, such as SLE and RA. HCQ has been shown to improve endothelial function in mice models and reduce the production of endothelin-1. Therefore, HCQ reduces vasoconstriction.²⁴ We hypothesized that HCQ may induce a vascular remodeling in retinal microvasculature that consists in a steal phenomenon from the arterioles of SCP, which increase its perfusion pressure leading to a hypoxic environment at the level of the DCP.²⁵ Fourth, we used SS-OCTA, which is less attenuated by the RPE. We hypothesized that in HCQ users, RPE is thickened due to the binding of HCQ to melanin. Therefore, more attenuation artifact is produced in these patients. Nonetheless, Forte et al. reported a diminution of VD in DCP and CC using SS-OCTA in patients taking HCQ for more than 5 years. Nonetheless, the sample size of the investigation of Forte et al. is too small.¹¹

Regarding FAZ area, statistical significance was not achieved in any retinal capillary plexus. However, a subtle enlargement of FAZ area of all retinal capillary plexus in the high-risk group was observed. Furthermore, the subgroup analysis revealed a significant enlargement of FAZ area at MCP level in patients with SS and CTD. These

results agree with previous research.^{1,3,4,6,11,13,18,22,23} It is known that tall RPE cells with increased melanin contribute to the formation of FAZ. We suggest that the binding of HCQ to melanin of RPE cells may enlarge the FAZ area.³

Subgroup analysis demonstrated different results, so we suggest that the effect of HCQ therapy on the retinal and choroidal microvasculature mainly depends on the autoimmune disorder. In SLE patients, VD increased in the total and the parafoveal area of SCP and in the inferior quadrant of SCP. In RA subjects, total VD increased at CC and TCP and in the inferior quadrant of TCP, and decreased in the central region of SCP and TCP. Conversely, in SS VD decreased at CC and DCP, and in CTD VD was inferior at CC level. We suggest that HCQ may have more immunomodulatory and anti-inflammatory effects in patients with SLE and RA.

This study had some limitations. First, it was a retrospective, cross-sectional study, so further studies with a longitudinal design are needed. Second, we did not use a gender-matched method when we selected the control group. Third, our study was not homogeneous in terms of the presence of autoimmune disease. Fourth, we did not calculate the cumulative drug dose in our patients.

There is a clear consensus of OCT findings in patients with HCQ retinopathy. However, OCTA differences in VD in patients taking HCQ reported in the current research are controversial, as it is shown in our study. We demonstrated an increase of VD in patients who underwent HCQ treatment, so we suggest that HCQ retinal toxicity is not vascular mediated. However, further studies investigating the correlation between OCTA parameters and cumulative drug dose of HCQ are needed.

Declaration of conflicting interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Consent to publish


Informed consent for publication was obtained from all patients.

Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship and/or publication of this article.

ORCID iDs

Lidia Remoli Sargues  <https://orcid.org/0000-0002-7919-0462>

Clara Monferrer Adsua  <https://orcid.org/0000-0003-0399-0903>

Laura Hernández Bel  <https://orcid.org/0000-0002-4996-3380>

References

1. Akhlaghi M, Kianersi F, Radmehr H, et al. Evaluation of optical coherence tomography angiography parameters in

- patients treated with hydroxychloroquine. *BMC Ophthalmol* 2021; 21: 209.
2. Kan E, Yakar K, Demirag MD, et al. Macular ganglion cell-inner plexiform layer thickness for detection of early retinal toxicity of hydroxychloroquine. *Int Ophthalmol* 2018; 38: 1635–1640.
 3. Goker YS, Ucgul Atilgan C, Tekin K, et al. The validity of optical coherence tomography angiography as a screening test for the early detection of retinal changes in patients with hydroxychloroquine therapy. *Curr Eye Res* 2019; 44: 311–315.
 4. Ozek D, Onen M, Karaca EE, et al. The optical coherence tomography angiography findings of rheumatoid arthritis patients taking hydroxychloroquine. *Eur J Ophthalmol* 2019; 29: 532–537.
 5. Marshall E, Robertson M, Kam S, et al. Prevalence of hydroxychloroquine retinopathy using 2018 Royal College of ophthalmologists diagnostic criteria. *Eye* 2021; 35: 343–348.
 6. Bulut M, Akıdan M, Gözkaya O, et al. Optical coherence tomography angiography for screening of hydroxychloroquine-induced retinal alterations. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018; 256: 2075–2081.
 7. Ahn SJ, Ryu SJ, Lim HW, et al. Toxic effects of hydroxychloroquine on the choroid: evidence from multimodal imaging. *Retina* 2019; 39: 1016–1026.
 8. Garrity ST, Jung JY, Zambrowski O, et al. Early hydroxychloroquine retinopathy: optical coherence tomography abnormalities preceding Humphrey visual field defects. *Br J Ophthalmol* 2019; 103: 1600–1604.
 9. Royal College of Ophthalmologists Guideline Development Group. Hydroxychloroquine and chloroquine retinopathy: recommendations on screening [internet]. 2020. <https://www.rcophth.ac.uk/standards-publications-research/clinical-guidelines/>
 10. Uslu H, Gurler B, Yildirim A, et al. Effect of hydroxychloroquine on the retinal layers: a quantitative evaluation with spectral-domain optical coherence tomography. *J Ophthalmol* 2016; 2016: 1–8.
 11. Forte R, Haulani H, Dyrda A, et al. Swept source optical coherence tomography angiography in patients treated with hydroxychloroquine: correlation with morphological and functional tests. *Br J Ophthalmol* 2019; 105(9): 1297–1301.
 12. Stanga PE, Tsamis E, Papayannis A, et al. Swept-source optical coherence tomography Angio™ (Topcon Corp, Japan): technology review. *Dev Ophthalmol* 2016; 56: 13–17.
 13. Mihailovic N, Leclaire MD, Eter N, et al. Altered microvascular density in patients with systemic lupus erythematosus treated with hydroxychloroquine—an optical coherence tomography angiography study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2020; 258: 2263–2269.
 14. Hashemi H, Khabazkhoob M, Yekta A, et al. The distribution of macular thickness and its determinants in a healthy population. *Ophthalmic Epidemiol* 2017; 24: 323–331.
 15. Cheung CMG, Lee WK, Koizumi H, et al. Pachychoroid disease. *Eye* 2019; 33: 14–33.
 16. Moussa M, Leila M, Bessa AS, et al. Grading of macular perfusion in retinal vein occlusion using en-face swept-source optical coherence tomography angiography: a retrospective observational case series. *BMC Ophthalmol* 2019; 19: 127.
 17. Ben-Zvi I, Kivity S, Langevitz P, et al. Hydroxychloroquine: from malaria to autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 42: 145–153.
 18. Işık MU, Akmaz B, Akay F, et al. Evaluation of subclinical retinopathy and angiopathy with OCT and OCTA in patients with systemic lupus erythematosus. *Int Ophthalmol* 2021; 41: 143–150.
 19. Conigliaro P, Cesareo M, Chimenti MS, et al. Evaluation of retinal microvascular density in patients affected by systemic lupus erythematosus: an optical coherence tomography angiography study. *Ann Rheum Dis* 2019; 78: 287–289.
 20. Marmor MF, Kellner U, Lai TYY, et al. Recommendations on screening for chloroquine and hydroxychloroquine retinopathy (2016 revision). *Ophthalmology* 2016; 123: 1386–1394.
 21. Kim KE, Ahn SJ, Woo SJ, et al. Use of OCT retinal thickness deviation map for hydroxychloroquine retinopathy screening. *Ophthalmology* 2021; 128: 110–119.
 22. Tarakcioglu HN, Ozkaya A and Yigit U. Is optical coherence tomography angiography a useful tool in the screening of hydroxychloroquine retinopathy? *Int Ophthalmol* 2021; 41: 27–33.
 23. Cinar E, Yuce B and Aslan F. Evaluation of retinal and choroidal microvascular changes in patients who received hydroxychloroquine by optical coherence tomography angiography. *Arq Bras Oftalmol* 2021; 84: 2–10.
 24. Karti O, Ayhan Z, Zengin MO, et al. Choroidal thickness changes in rheumatoid arthritis and the effects of short-term hydroxychloroquine treatment. *Ocul Immunol Inflamm* 2018; 26: 770–775.
 25. Lupidi M, Cerquaglia A, Gujar R, et al. Functional correlation between choroidal and retinal vascularity in low-grade diabetic retinopathy. *Acta Diabetol* 2020; 57: 983–990.

5. ANGIOGRAFÍA POR TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA SWEPT- SOURCE EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE DISLIPEMIA

La DL es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas (infarto agudo de miocardio y enfermedad cerebrovascular aguda), las cuales constituyen la causa más frecuente de mortalidad y morbilidad a nivel global(53,54,81,82).

La microcirculación retiniana y coroidea es la única microvascularización del organismo que puede ser fácilmente observada in vivo por medio de técnicas diagnósticas no invasivas como la retinografía, constituyendo una ventana a las circulaciones coronaria y cerebral, ya que comparte numerosas características fisiológicas y anatómicas con éstas. Con el desarrollo de la OCTA se ha producido un gran interés en la detección preclínica de posibles alteraciones de la circulación retiniana y coroidea secundarias a enfermedades sistémicas como la hipertensión arterial y la diabetes mellitus, gracias a su capacidad para visualizar la microvascularización retiniana y coroidea con una alta resolución y sin la necesidad de inyectar un contraste intravenoso(53–55,81,82). Además, gracias a la tecnología SS, se obtienen mejores imágenes de la coroides, pues la mayor longitud de onda que emplea la OCTA-SS se ve menos atenuada por el EPR(71,75,83).

En la presente investigación se realizó una comparación de la DV en el PCS, PCI, PCP, PCT y la CC, y del área de la ZAF en el PCS, PCI, PCP y PCT, en un grupo de 37 ojos de 20 pacientes con DL respecto a 40 ojos de 23 sujetos sanos. Se trata del primer estudio que analiza cuantitativamente las imágenes de OCTA-SS de un grupo de pacientes con diagnóstico de DL.

En el presente estudio se encontró una disminución significativa de la DV en la región foveal de la CC, tanto en el cubo de 6 mm x 6 mm como en el cubo de 4,5 mm x 4,5 mm de la OCTA, en los pacientes con DL. Sin embargo, no se hallaron diferencias significativas en el PCS, PCI, PCP y PCT. Por ello, se sugirió que la aterosclerosis crónica secundaria a la DL parece afectar principalmente a la CC. Los presentes resultados son similares a los de la investigación de Stefanutti et al., la cual no reveló cambios significativos en la DV en el PCS y el PCP en pacientes con hipercolesterolemia familiar(53). La microvascularización retiniana presenta una mayor capacidad de autorregulación que la CC, y es por ello que posiblemente la CC se vea más afectada que la microcirculación retiniana en la aterosclerosis producida por la DL(84).

Respecto al área de la ZAF, no se pudieron demostrar diferencias significativas. No obstante, se observó un sutil aumento del área de la ZAF en todos los plexos capilares retinianos en ambos cubos de OCTA, lo que podría indicar que son los capilares más pequeños, que son aquellos que forman la región parafoveal, los que se ven afectados por la aterosclerosis producida por la DL.

En definitiva, la OCTA-SS parece tener la capacidad de detectar cambios en la DV del área central de la CC en los pacientes con DL, por lo que en un futuro, cuando se

disponga de bases de datos normativas, la OCTA-SS podría utilizarse para diagnosticar la aterosclerosis subclínica sistémica a través de la visualización de la microcirculación coroidea. No obstante, son necesarios más estudios en poblaciones más grandes para confirmar esta hipótesis.

Optical coherence tomography angiography quantitative analysis of retinal and choroidal microvasculature in patients with dyslipidemia

Lidia Remolí Sargues¹ , Clara Monferrer Adsuara¹ ,
Verónica Castro Navarro¹, Catalina Navarro Palop¹,
Javier Montero Hernández¹ and Enrique Cervera Taulet¹

European Journal of Ophthalmology
1–6
© The Author(s) 2022
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/11206721221146880
journals.sagepub.com/home/ejo


Abstract

Introduction: The purpose of this investigation was to report swept source-optical coherence tomography angiography (SS-OCTA) quantitative information of retinal and choroidal microvascularization in patients with dyslipidemia (DL).

Methods: We performed a retrospective study. The study enrolled 37 eyes of 20 patients with DL and 40 eyes of 23 healthy subjects. OCTA quantitative parameters (vessel density (VD) and foveal avascular zone (FAZ) area of superficial capillary plexus (SCP), middle capillary plexus (MCP), deep capillary plexus (DCP) and choriocapillaris (CC)) in 6 mm × 6 mm and 4.5 mm × 4.5 mm cubes were recorded.

Results: No differences in VD in SCP, MCP and DCP were demonstrated between DL group and control group ($p > 0.05$). Conversely, VD in the central region at CC was diminished in patients with DL in both cubes ($p < 0.05$). Moreover, total VD in CC was decreased in the DL group in 6 mm × 6 mm cube ($p < 0.05$). Regarding FAZ area, we demonstrated an enlargement of FAZ in each retinal capillary plexus, but it did not reach statistical significance ($p > 0.05$).

Conclusion: We objectified a diminution of VD in the CC, suggesting that DL mainly affects the choroidal microvasculature. Nonetheless, further studies with a larger population are needed.

Keywords

Anatomy/biochemistry/physiology, retinal pathology/research, techniques of retinal examination, preventive medicine/screening, practice management.

Date received: 28 June 2022; accepted: 4 December 2022

Introduction

Dyslipidemia (DL) includes a wide range of lipid abnormalities, including hyperlipidemia and reduced levels of high-density lipoprotein (HDL). Hyperlipidemia is defined as elevated levels of total cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) and/or triglycerides. DL may be either primary due to genetic causes or secondary to systemic diseases such as hypothyroidism, obstructive liver disease, renal failure, uncontrolled diabetes mellitus (DM) and tobacco or alcohol consumption.^{1,2}

DL is a major risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease (CVD) (coronary artery disease, stroke and

peripheral arterial disease), which is the most frequent cause of mortality and morbidity globally. Retinal capillaries constitute the only microvascularization that can be directly visualized in vivo. Retinal microangiopathy is highly correlated to the development of CVD and is associated

¹Department of Ophthalmology, Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, Valencia, Spain

Corresponding author:

Lidia Remolí Sargues, Servicio de Oftalmología, Hospital General Universitario de Valencia. Av. Tres Cruces 2, 46014 Valencia, Spain.
Email: lidaquinca@hotmail.com

with systemic disorders such as arterial hypertension (HTN) and DM.³⁻⁶ Nevertheless, several population-based studies failed to demonstrate a compatible association between the alteration of retinal microvasculature on color fundus photographs and serum lipids. Blue Mountains Eye Study and Atherosclerosis Risk in Communities study found that arteriolar narrowing was secondary to lower HDL levels, but not to higher LDL or cholesterol total levels. Conversely, the Cardiovascular Health Study demonstrated no association between retinal microvascular alterations and any measures of serum lipid levels.⁷⁻⁹

Resolution of color fundus photographs is low, only being able to evaluate retinal vessels larger than 25 μ m. Currently, optical coherence tomography angiography (OCTA) has acquired an increasingly role in detecting pre-clinical retinal and choroidal microvasculature in systemic disorders such as HTN and DM.^{3,5} OCTA is a noninvasive technology that applies motion contrast imaging of blood flow, allowing a depth-resolved and three-dimensional visualization of retinal and choroidal microvasculature with a resolution of 8 μ m in seconds of time. Swept-source (SS)-OCTA is a recently improvement of OCTA system that uses longer center wavelength (1050 nm versus 840 nm). Therefore, it is less attenuated by the retinal pigment epithelium (RPE), providing a better visualization of the choriocapillaris.¹⁰⁻¹⁴ There are few reports analyzing retinal microvascularization with OCTA in patients affected by DL. Moreover, these reports used spectral-domain OCTA and only evaluate superficial capillary plexus (SCP) and deep capillary plexus (DCP).^{3,5}

The aim of our study is to report SS-OCTA quantitative analysis of retinal and choroidal microvascularization in patients with DL.

Methods

This is a retrospective, single center study performed in the Ophthalmology service of the University General Hospital of Valencia (Spain) between December 1st 2020 and December 1st 2021. Written informed consent was obtained from each subject and the study followed the principles of the Declaration of Helsinki.

Thirty-seven eyes of twenty patients with a diagnosis of DL and forty eyes of twenty-three controls were enrolled. Dyslipidemia was defined as levels of total cholesterol ≥ 240 mg/dL, LDL > 160 mg/dL, triglyceride levels > 200 mg/dL or HDL < 40 mg/dL, according to Kopin *et al.*¹

Exclusion criteria were: systemic pathology associated to retinal or choroidal impairment (DM and history of CVD), hypertensive retinopathy, ocular disorders associated to retinal or choroidal damage (uveitis, glaucoma, retinal vascular disease and macular atrophy), history of vitreoretinal surgery, media opacities or images with low quality.

Exclusion criteria were selected to avoid conditions that could affect retinal and choroidal microvasculature.

Examination

Age, gender and medical history were recorded from all participants. In addition, levels of total cholesterol, LDL, triglycerides and HDL were registered from all patients with DL. Each participant underwent the following examinations: best-corrected visual acuity (BCVA) tested with the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) charts; anterior and posterior segment examination; color fundus imaging with the wide-field imaging system Clarus™ (CLARUS 700™, Carl Zeiss Meditec Inc., California, USA); and SS-optical coherence tomography (SS-OCT) and OCTA with the SS-OCT, digital retinal imaging (DRI) OCT Triton (Topcon, Tokyo, Japan).

We measured central macular thickness (CMT) and choroidal subfoveal thickness (CST) using the caliper function of the OCT. CMT included the inner limiting membrane (ILM) as the upper boundary and Bruch's membrane (BM) as the lower boundary in the fovea, and CST was the distance between the BM and the sclerochoroidal junction below the fovea.

Optical coherence tomography angiography analysis

SS-DRI-OCT Triton Plus uses a 1050 nm wavelength and has a scanning speed of 100,000 A-scans per second. Images were analyzed by the automated OCTARA (OCT Angiography Ratio Analysis) algorithm provided by the device, which is based on an intensity ratio analysis.^{13,14} OCTA examination included 4,5 mm \times 4,5 mm and 6 mm \times 6 mm cubes.

We used the automatic layer segmentation provided by the software segmentation algorithm of the device. SCP was the vascular plexus with the upper boundary 2,6 μ m below ILM and the lower boundary 15,6 μ m below the inner plexiform layer (IPL). Middle capillary plexus (MCP) was the slab with the boundaries 15,6 and 31,2 μ m below the IPL. DCP included the slab with the upper and lower boundaries 31,2 and 70,2 μ m below the IPL, respectively. CC boundaries were defined at 0 mm offset at BM setting and 31,2 μ m below the BM.¹⁵

Quantitative OCTA data that were analyzed included vessel density (VD) and foveal avascular zone (FAZ area) of both 4,5 mm \times 4,5 mm and 6 mm \times 6 mm OCTA cubes. VD, defined as the percentage of the total area occupied by microvascularization, was provided by the IMAGENet software. The instrument automatically uses an ETDRS grid overlaying an external ring with 3 mm of diameter in the 6 mm \times 6 mm cube and 2,5 mm of diameter in the 4,5 mm \times 4,5 mm cube, and a foveal circular area with 1 mm of diameter in both cubes. The external ring is constituted by superior, inferior, temporal and nasal

quadrants in both cubes. Parafoveal VD was the average of the four quadrants of the external ring. Total VD was the mean of the five ETDRS regions. FAZ area in each retinal capillary plexus was conducted manually using the caliper function and was expressed as mm^2 .^{15,16}

Statistical analysis

The continuous variables (including VD, FAZ area, CMT and CST) were presented as mean \pm standard deviation (SD). Kolmogorov-Smirnov test was performed in order to analyze the distribution of the data, revealing a normal distribution. Thus, Student's *t* test were used to compare both groups. A *p* value of $<0,05$ was considered statistical significative.

Results

Demographic and clinical characteristics of all participants are included in Table 1. The study enrolled 37 eyes of 20 patients with DL and 40 eyes of 23 healthy subjects. The average age was $61,92 \pm 7,83$ years in the DL group and $60,10 \pm 9,14$ years in the control group. In the DL group, there were 6 males (30%) and 14 females (70%), whereas in the control group there were 6 males (26,09%) and 17 females (73,91%). Regarding systemic hypertension (HTN), there were 9 (45%) and 10 patients (43,48%) affected in the DL group and in the control group, respectively. The mean BCVA was $82,95 \pm 5,05$ letters in the DL group and $83,95 \pm 2,01$ letters in the control group. No differences were observed between both groups regarding sex, age, BCVA and the presence of HTN (*p* value 0,642, 0,353, 0,871 and 0,761, respectively). Mean levels of total cholesterol, LDL, triglycerides and HDL in the study group were $258,68 \pm 19,67$ mg/dL, $168,56 \pm 21,52$ mg/dL, $139,68 \pm 72,72$ mg/dL and $63,23 \pm 17,19$ mg/dL, respectively. None of our patients had hypertriglyceridemia or decreased HDL levels. A total of 18 patients (90%) with DL were treated with statins,

whereas only 2 patients (10%) were treated with statins and ezetimibe.

Optical coherence tomography angiography analysis

Vessel density of retinal capillary plexus and choriocapillaris in the $6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$ cube. At CC level, central and total VD were decreased significantly in patients with DL (*p* value 0,001 and 0,005). Nonetheless, in the parafoveal region no significant differences were observed (Table 2).

At SCP, MCP and DCP, no significant differences were demonstrated between DL group and control group. Nevertheless, total VD at SCP was diminished in the DL group. However, statistical significance was not reached (*p* value 0,062) (Table 2).

Vessel density of retinal capillary plexus and choriocapillaris in the $4,5 \text{ mm} \times 4,5 \text{ mm}$ cube. At CC level, VD in the central region was significantly decreased in the DL group compared to control group (*p* value 0,016). However, no significant differences in parafoveal and total VD in the CC were demonstrated between DL group and control group (*p* value 0,909 and 0,153, respectively) (Table 3).

As in the $6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$ cube, at SCP, MCP and DCP, no significant differences were demonstrated (*p* value $>0,05$) (Table 3).

FAZ area of retinal capillary plexus. An enlargement of FAZ area was observed at each retinal capillary plexus (SCP, MCP and DCP) in both $6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$ and $4,5 \text{ mm} \times 4,5 \text{ mm}$ cubes.

Table 2. Vessel density in optical coherence tomography angiography $6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$ cube.

	Control group n of eyes = 40	DL group n of eyes = 37	<i>p</i> value
CC VD			
Central	$53,67 \pm 3,89$	$50,88 \pm 3,49$	0,001
Parafoveal	$53,70 \pm 0,96$	$53,46 \pm 1,21$	0,349
Total	$53,69 \pm 0,94$	$52,94 \pm 1,29$	0,005
SCP VD			
Central	$19,87 \pm 3,69$	$18,77 \pm 4,08$	0,220
Parafoveal	$47,70 \pm 1,66$	$47,18 \pm 1,49$	0,153
Total	$42,13 \pm 1,52$	$41,50 \pm 1,42$	0,062
MCP VD			
Central	$28,23 \pm 4,76$	$27,25 \pm 6,06$	0,430
Parafoveal	$44,48 \pm 2,42$	$44,17 \pm 2,47$	0,587
Total	$41,23 \pm 1,83$	$40,79 \pm 1,83$	0,297
DCP VD			
Central	$16,44 \pm 3,92$	$14,72 \pm 5,24$	0,107
Parafoveal	$49,80 \pm 2,38$	$49,68 \pm 1,89$	0,559
Total	$43,13 \pm 2,10$	$42,69 \pm 1,78$	0,329

All values are presented as mean \pm SD. VD is expressed in % DL, dyslipidemia; CC, choriocapillaris; VD, vessel density; SCP, superficial capillary plexus; MCP, middle capillary plexus; DCP, deep capillary plexus.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the study participants.

Variable	Control group	DL group
Patients, n	23	20
Eyes, n	40	37
Sex, n (%)	Male 6 (26,09%) Female 17 (73,91%)	Male 6 (30%) Female 14 (70%)
Age, years	$60,10 \pm 9,14$	$61,92 \pm 7,83$
BCVA, ETDRS letters	$83,95 \pm 2,01$	$82,95 \pm 5,05$
HTN, n (%)	10 (43,48%)	9 (45%)

Data are presented as mean \pm standard deviation. DL (dyslipidemia); BCVA (best corrected visual acuity); ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study); HTN (systemic hypertension).

Table 3. Vessel density in optical coherence tomography angiography 4.5 mm × 4.5 mm cube.

	Control group n of eyes = 40	DL group n of eyes = 37	p value
CC VD			
Central	53,42 ± 4,03	50,90 ± 4,91	0,016
Parafoveal	53,25 ± 1,48	53,21 ± 1,48	0,909
Total	53,28 ± 1,18	52,74 ± 1,96	0,153
SCP VD			
Central	14,67 ± 3,32	14,24 ± 3,67	0,598
Parafoveal	47,02 ± 1,63	47,12 ± 1,84	0,785
Total	40,55 ± 1,36	40,55 ± 1,52	0,996
MCP VD			
Central	24,67 ± 6,15	22,27 ± 6,13	0,091
Parafoveal	43,30 ± 2,45	43,28 ± 2,54	0,970
Total	39,58 ± 2,15	39,08 ± 1,97	0,296
DCP VD			
Central	11,67 ± 3,83	10,37 ± 4,83	0,196
Parafoveal	50,22 ± 2,03	50,34 ± 2,27	0,820
Total	42,51 ± 1,84	42,34 ± 1,98	0,699

All values are presented as mean ± SD. VD is expressed in %. DL, dyslipidemia; CC, choriocapillaris; VD, vessel density; SCP, superficial capillary plexus; MCP, middle capillary plexus; DCP, deep capillary plexus.

4,5 mm cubes. Nonetheless, statistical significance was not achieved in any cube. Mean FAZ areas of each retinal capillary plexus and p values are included in Table 4.

OCT parameters. Mean CMT was 257,63 ± 25,46 µm and 257,08 ± 29,91 µm in control group and DL group. The average CST was 286,73 ± 68,67 µm and 262,84 ± 91,79 µm in the control and DL groups. No significant differences were observed regarding CMT and CST between both groups (p values 0,932 and 0,198, respectively), even though CST was decreased in the DL group compared to healthy subjects.

Table 4. Foveal avascular zone area in optical coherence tomography angiography.

	Control group n of eyes = 40	DL group n of eyes = 37	p value
6 mm × 6 mm cube			
SCP FAZ area	0,30 ± 0,11	0,33 ± 0,10	0,195
MCP FAZ area	0,20 ± 0,11	0,23 ± 0,10	0,147
DCP FAZ area	0,28 ± 0,11	0,32 ± 0,10	0,137
4,5 mm × 4,5 mm cube			
SCP FAZ area	0,30 ± 0,11	0,33 ± 0,10	0,204
MCP FAZ area	0,20 ± 0,10	0,23 ± 0,08	0,144
DCP FAZ area	0,30 ± 0,10	0,34 ± 0,11	0,102

All values are presented as mean ± SD. FAZ area is expressed in mm². DL, dyslipidemia; SCP, superficial capillary plexus; FAZ, foveal avascular zone; MCP, middle capillary plexus; DCP, deep capillary plexus.

Discussion

OCTA is a high-resolution imaging technique based on the movement of erythrocytes in the retinal and choroidal microvascularization, which is capable of generating a three-dimensional angiogram in a matter of seconds. OCTA allows the quantification of blood flow of retinal and choroidal network due to various software algorithms that have been developed to calculate VD and FAZ area. VD is defined as the percentage area occupied by vessels over the total measured area, and it has demonstrated to be highly reproducible. FAZ area is the central avascular region of the macula that is believed to be a measurement of perfoveal loss of capillaries. Nevertheless, FAZ area presents a high heterogeneity among healthy subjects, so its enlargement does not always represent microvascular pathologic changes.^{17–20}

Retinal microvascular alterations correlate to cardiac and cerebrovascular disorders, as it is thought that retinal microvascularization shares physiological and anatomic features with the coronary and cerebral microcirculations. With the development of OCTA, there is growing interest in detecting pre-clinical retinal and choroidal microvascular alterations in systemic diseases, such as HTN, DM and atherosclerotic CVD. An impaired retinal network has been demonstrated in these systemic diseases, which may be the result of an alteration of retinal autoregulation.^{3–6,17}

In our study, we demonstrated a significant diminution of VD in the foveal region at CC in both 6 mm × 6 mm and 4,5 mm × 4,5 mm cubes of OCTA in the DL group. Furthermore, we observed a significant decrease of total VD in the CC in the 6 mm × 6 mm cube in patients with DL. Conversely, no statistical significance was achieved in VD at SCP, MCP and DCP. Our results are in accordance with those reported by Stefanutti *et al.*, who reported no statistical differences in VD at SCP and DCP between healthy subjects and patients affected by familial hypercholesterolemia.³ It is well known that retinal microvasculature shows autoregulation, being able to keep blood flow constant despite disorders in vascular perfusion. However, the choroid is a passive vascular bed and has less autoregulatory capacity than the retinal microvasculature.²¹ Thus, we suggested that the diminution of VD at CC level is the result of the less autoregulatory capacity of the choroid. Conversely, retinal vasculature may be more resistant to atherosclerosis secondary to DL due to its autoregulatory capability.

Recently, Sun *et al.* studied the impact of cardiometabolic factors on retinal microvasculature. They included 247 cardiovascular patients and found that DL was an independent predictor of reduced VD at SCP. This association was statistically significant only in the 3 mm × 3 mm OCTA cube, and not in the 6 mm × 6 mm and 8 mm × 8 mm cubes. On the contrary, we did not find any significant results regarding VD at SCP level. We attributed this

difference to the scan size used. Moreover, patients of Sun *et al.* investigation could be affected by other disorders that alter retinal microvasculature, such as DM and CVD, among others.⁵ Other studies that investigated the effect of DL in retinal network were conducted in patients with DM. They demonstrated a decrease of VD at SCP and an enlargement of FAZ area at SCP, suggesting that DL favors the retinal neurovascular damage secondary to DM.^{22,23}

Regarding FAZ area, we demonstrated an enlargement of FAZ at each retinal capillary plexus in both 6 mm × 6 mm and 4.5 mm × 4.5 mm cubes of OCTA. However, the enlargement was not enough to reach statistical significance. The scan size could be involved in these results, which are contrary to those reported by Stefanutti *et al.*³ In addition, DL severity in the patients studied by Stefanutti *et al.* may be higher, since all were treated with drug therapy and lipoprotein apheresis.³

Respect to OCT parameters, no significant differences were observed, even though CST were slightly lower in patients with DL. We suggested that this diminution could be associated with the decrease VD in the foveal area of CC.

This investigation had various limitations. First, it was a retrospective study and the size of the sample was small. Second, we used a great scan size, which could produce images with poorer resolution. Third, the majority of our patients were females, so it could be wrong to generalize our results to the male population. Fourth, we included patients with HTN in our study, which might be affected our results. However, the number of patients with HTN was not statistically different between groups and we excluded patients with hypertensive retinopathy.

Conclusions

To the best of our knowledge, this is the first study reported in the literature analyzing quantitatively SS-OCTA images of a group of patients with DL. We demonstrated a diminution of VD in the CC, suggesting that DL mainly affects the choroidal microvasculature. Further studies with bigger population are required to confirm this hypothesis.

Consent to publish

Informed consent for publication was obtained from all subjects.


Declaration of conflicting interests


The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

ORCID iDs

Clara Monferrer Adsuara  <https://orcid.org/0000-0003-0399-0903>

Lidia Remoli Sargues  <https://orcid.org/0000-0002-7919-0462>

References

- Kopin L and Lowenstein CJ. Dyslipidemia. *Ann Intern Med* 2017 Dec 5; 167: ITC81.
- Öztürk BT, Bozkurt B, Mejen A, et al. Spectral-Domain optical coherence tomography findings in lipemia retinalis. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2016 Jun; 47: 589–592.
- Stefanutti C, Mesce D, Pacella F, et al. Optical coherence tomography of retinal and choroidal layers in patients with familial hypercholesterolaemia treated with lipoprotein apheresis. *Atheroscler Suppl* 2019 Dec; 40: 49–54.
- Xiao W, Guo X, Ding X, et al. Serum lipid profiles and dyslipidaemia are associated with retinal microvascular changes in children and adolescents. *Sci Rep* 2017 Apr; 7: 44874.
- Sun MT, Huang S, Chan W, et al. Impact of cardiometabolic factors on retinal vasculature: a 3 × 3, 6 × 6 and 8 × 8-mm ocular coherence tomography angiography study. *Clin Experiment Ophthalmol* 2021 Apr; 49: 260–269.
- Wintergerst MWM, Falahat P, Holz FG, et al. Retinal and choriocapillaris perfusion are associated with ankle-brachial-pressure-index and fontaine stage in peripheral arterial disease. *Sci Rep* 2021 Dec; 11: 11458.
- Leung H, Wang JJ, Rochtchina E, et al. Dyslipidaemia and microvascular disease in the retina. *Eye* 2005 Aug; 19: 861–868.
- Klein R, Sharrett AR, Klein BEK, et al. Are retinal arteriolar abnormalities related to atherosclerosis? the atherosclerosis risk in communities study. *ATV* 2000 Jun; 20: 1644–1650.
- Wong TY, Klein R, Sharrett AR, et al. The prevalence and risk factors of retinal microvascular abnormalities in older persons. *Ophthalmology* 2003 Apr; 110: 658–666.
- Bulut M, Akşan M, Gözkaya O, et al. Optical coherence tomography angiography for screening of hydroxychloroquine-induced retinal alterations. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018 Nov; 256: 2075–2081.
- Uslu H, Güler B, Yıldırım A, et al. Effect of hydroxychloroquine on the retinal layers: a quantitative evaluation with spectral-domain optical coherence tomography. *J Ophthalmol* 2016; 2016: 1–8.
- Forte R, Haulani H, Dyrda A, et al. Swept source optical coherence tomography angiography in patients treated with hydroxychloroquine: correlation with morphological and functional tests. *Br J Ophthalmol* 2021; 105(9): 1297–1301.
- Stanga PE, Tsamis E, Papayannis A, et al. Swept-Source optical coherence tomography Angio™ (Topcon Corp, Japan): technology review. *Dev Ophthalmol* 2016; 56: 13–7.
- Remoli Sargues L, Monferrer Adsuara C, Castro Navarro V, et al. New insights in pathogenic mechanism of hydroxychloroquine retinal toxicity through optical coherence tomography angiography analysis. *Eur J Ophthalmol* 2022; 11206721221076313.
- Moussa M, Leila M, Bessa AS, et al. Grading of macular perfusion in retinal vein occlusion using en-face swept-source optical coherence tomography angiography: a retrospective observational case series. *BMC Ophthalmol* 2019 Jun 10; 19: 127.

16. Forte R, Haulani H and Jürgens I. Quantitative and qualitative analysis of the three capillary plexuses and choriocapillaris in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus without clinical signs of diabetic retinopathy: a prospective pilot study. *Retina* 2020 Feb; 40: 333–344.
17. Monteiro-Henriques I, Rocha-Sousa A and Barbosa-Breda J. Optical coherence tomography angiography changes in cardiovascular systemic diseases and risk factors: A Review. *Acta Ophthalmol* 2022; 100: e1–e5.
18. Sambhav K, Grover S and Chalam KV. The application of optical coherence tomography angiography in retinal diseases. *Surv Ophthalmol* 2017 Nov; 62: 838–866.
19. Sun Z, Yang D, Tang Z, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: an updated review. *Eye* 2021 Jan; 35: 149–161.
20. Tey KY, Teo K, Tan ACS, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: a review of current applications. *Eye and Vis* 2019 Dec; 6: 37.
21. Chua J, Chin CWL, Hong J, et al. Impact of hypertension on retinal capillary microvasculature using optical coherence tomographic angiography. *J Hypertens* 2019 Mar; 37: 572–580.
22. Shi R, Lu Y, Liu D, et al. Association of serum apolipoprotein B with retinal neurovascular structural alterations in patients with type 2 diabetes: an optical coherence tomography angiography study. *Acta Diabetol* 2021 Dec; 58: 1673–1681.
23. Lee DH, Yi HC, Bae SH, et al. Risk factors for retinal microvascular impairment in type 2 diabetic patients without diabetic retinopathy. Malik RA, editor. *PLoS ONE* 2018 Aug 9; 13: e0202103.

6. ANGIOGRAFÍA POR TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA SWEPT- SOURCE EN PACIENTES CON HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La HTA es uno de los principales factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, a causa de los cambios que provoca en la microcirculación sistémica. La HTA afecta a toda la microcirculación del organismo, incluyendo la microvascularización retiniana y coroidea. Es por ello que el ojo humano permite la visualización de la microcirculación sistémica a través de la OCTA-SS. Además, gracias a los continuos avances de esta tecnología, la OCTA-SS dispone de softwares automáticos que permiten el cálculo de parámetros cuantitativos de la microvascularización retiniana y coroidea, como la DV y el área de la ZAF, constituyendo por ello un método no invasivo de gran utilidad para la detección de la existencia de daño subclínico secundario a patologías vasculares como la HTA(10,12,85–88).

En el presente estudio se llevó a cabo una comparación de la DV en el PCS, PCI, PCP, PCT y la CC, y del área de la ZAF en el PCS, PCI, PCP y PCT, en 93 ojos de 51 pacientes con HTA respecto a 71 ojos de 38 pacientes sanos. Se trata del primer estudio de la literatura que realiza un análisis cuantitativo de las imágenes de OCTA-SS utilizando el software de cálculo automático proporcionado por el propio equipo de OCTA-SS en pacientes con diagnóstico de HTA. Así mismo, es la primera investigación en pacientes con HTA que tiene en cuenta el PCI.

Entre los resultados de la presente investigación destacan la existencia de una disminución significativa de la DV parafoveal en el PCP, el PCT y la CC en los sujetos con HTA. No obstante, no se detectaron cambios significativos de la DV ni en el PCS ni el PCI. Ante estos resultados, se sugiere que la microcirculación de predominio arterial de los plexos capilar superficial e intermedio podría presentar mayor capacidad de autorregulación que la circulación venosa del PCP y que la CC(10,32,33,89). En cuanto a la DV foveal y al área de la ZAF, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, sugiriéndose por ello que el área foveal se ve menos afectada debido a una respuesta de autorregulación que intenta mantener la elevada demanda metabólica de los FR(12).

Además, en el presente estudio se realizó un análisis de subgrupos en los pacientes que tomaban uno, dos o tres medicamentos hipotensores. Los resultados encontrados fueron los siguientes: los pacientes en tratamiento con dos fármacos presentaron menor DV en el PCS, PCP y PCT que aquellos sujetos en tratamiento con un único fármaco hipotensor. En los pacientes en tratamiento con tres fármacos se observó una disminución de la DV en la CC y en el PCS respecto a los pacientes en tratamiento con uno o dos fármacos, aunque no se alcanzó la significación estadística, posiblemente debido al escaso tamaño muestral. Esto podría ser secundario a la existencia de un peor control de la presión arterial en el pasado en aquellos pacientes en tratamiento con un mayor número de medicamentos.

Por otra parte, se llevó a cabo un análisis de correlación, el cual reveló una correlación negativa significativa, aunque débil, de la duración de la HTA con la DV en el

PCS y con el área de la ZAF en el PCS, PCP y PCT. La disminución del área de la ZAF a medida que aumentan los años de duración de la HTA podría ser debida a una respuesta de autorregulación que produce un remodelado vascular consistente en el desarrollo de pequeños colaterales en la región perifoveal, con el objetivo de mantener la vascularización de los FR(12).

En conclusión, la OCTA-SS demostró de forma cuantitativa la presencia de daño en la microvascularización retiniana y coroidea de los pacientes con HTA. Es por ello que cuando se disponga de bases de datos normativas, la OCTA se podría utilizar en la prevención y el seguimiento del daño microvascular sistémico producido por la HTA.

Swept-source optical coherence tomography angiography automatic analysis of microvascular changes secondary to systemic hypertension

Lidia Remolí Sargues¹ , Clara Monferrer Adsua¹,
Verónica Castro Navarro¹, Catalina Navarro Palop¹,
Javier Montero Hernández¹ and Enrique Cervera Taulet¹

European Journal of Ophthalmology
1–7
© The Author(s) 2022
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/11206721221146674
journals.sagepub.com/home/ejo


Abstract

Introduction: The aim of our study is to report swept-source optical coherence tomography angiography (SS-OCTA) quantitative parameters of retinal and choroidal microvasculature in patients with systemic hypertension (HTN) using a built-in software of SS-OCTA.

Methods: We performed a retrospective study. This study enrolled 93 eyes of 51 subjects with HTN and 71 eyes of 38 healthy subjects. OCTA quantitative parameters (vessel density (VD) and foveal avascular zone (FAZ) area of superficial capillary plexus (SCP), middle capillary plexus (MCP), deep capillary plexus (DCP), total capillary plexus (TCP) and choriocapillaris (CC)) of the OCTA cube of 4.5 mm × 4.5 mm were recorded.

Results: A decrease of parafoveal VD in CC, DCP and TCP were demonstrated between HTN group and control group ($p < 0.05$). Conversely, no differences were demonstrated in parafoveal VD of SCP and MCP ($p > 0.05$). Subgroup analysis revealed a diminution of central VD at SCP, DCP and TCP in patients taking one antihypertensive drug compared to patients treated with two medications ($p < 0.05$). Correlation analysis showed a significant, albeit weak, negative correlation between HTN duration, and parafoveal VD in the SCP and FAZ area at SCP, DCP and TCP ($p < 0.05$ and $r < 0.300$).

Conclusion: When normative data are available, OCTA might be used as a potential tool in the prevention and follow-up of end-organ damage secondary to HTN. Nonetheless, further studies are needed to confirm this hypothesis.

Keywords

Anatomy/biochemistry/physiology, retinal pathology/research, techniques of retinal examination, preventive medicine/screening, practice management.

Date received: 12 July 2022; accepted: 2 December 2022

Introduction

Systemic hypertension (HTN) is the leading contributor to global morbidity and mortality, due to the increasing of the risk of coronary heart disease, stroke, renal failure and retinal vascular disease. HTN produces changes in systemic microcirculation (including microvascular rarefaction, small vessel vasoconstriction and reduced circulatory efficiency) that contributes to end-organ damage.^{1–3}

Human eye provides a unique window where the in vivo microvasculature can be directly observed using non-invasive optical techniques. Due to anatomical and

physiological similarities, retinal microvasculature has been used as a biomarker for systemic vascular disorders. Moreover, the continuous improvement in retinal diagnostic technologies has enabled a better visualization of retinal

¹Department of Ophthalmology, Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, Valencia, Spain

Corresponding author:

Lidia Remolí Sargues, Servicio de Oftalmología, Hospital General Universitario de Valencia, Av. Tres Cruces 2, 46014 Valencia, Spain.
Email: lidaquinca@hotmail.com

vessels.¹⁻⁴ Optical coherence tomography (OCT) is one of the biggest advances in ophthalmic imaging and has allowed the development of OCT angiography (OCTA), a device based in motion contrast of blood cells that provides depth-resolved and high-resolution images of retinal and choroidal vessels in seconds of time, without the need of using intravenous contrast agents such as fluorescein.³⁻⁶

Since its commercialization in 2014, OCTA has continually advanced and expanded in clinical practice and research. Hardware and software improvements have allowed the development of built-in softwares that quantify OCTA-derived vascular parameters automatically, such as vessel density (VD). VD is the percentage of blood vessel area over the total measured area and it has been shown to be reliable and reproducible.^{5,6} The human eye has two main circulatory systems: the retinal and choroidal microvasculature. Recently, the introduction of swept-source OCTA (SS-OCTA), a novel system with longer center wavelength (1050 nm), has led to better visualization of the choroid.^{7,8} There are few studies with SS-OCTA in patients with HTN. In these reports, quantitative parameters of OCTA were measured using image processing softwares that require a considerable amount of time.^{7,9,10}

The aim of our study is to report SS-OCTA quantitative parameters of retinal and choroidal microvascularization in subjects with HTN using a built-in software.

Methods

Study population

A retrospective, observational and single center study was conducted in the Ophthalmology service of the University General Hospital of Valencia (Spain) between September 1st 2020 and July 1st 2021. Written informed consent was obtained from each participant and the study followed the principles of the Declaration of Helsinki.

The inclusion criteria were: age of 18 years or more and diagnosis of HTN. The exclusion criteria were as follows: presence of other retinal diseases which may cause an ocular involvement (age-related macular degeneration, retinal vascular occlusion, uveitis and glaucoma), presence of uncontrolled systemic disorders able to affect ocular circulation, hypertensive retinopathy, presence of end-organ damage related to HTN (including kidney, brain or heart damage), history of vitreoretinal surgery, media opacities and images with low quality.

Examination

Age, gender and medical history were recorded from each patient. Duration of HTN and type of antihypertensive medications were also noted. Each participant underwent a complete ophthalmic examination: best-corrected visual acuity (BCVA) tested with the Early Treatment Diabetic

Retinopathy Study (ETDRS) charts; anterior and posterior segment examination; wide-field color fundus imaging with Clarus™ (CLARUS 700™, Carl Zeiss Meditec Inc., California, USA); and SS-OCT and OCTA with the SS-OCT, DRI OCT Triton (Topcon, Tokyo, Japan).

Optical coherence tomography analysis

A linear B-scan centered on the fovea was performed in all the participants. We measured manually central macular thickness (CMT) and choroidal subfoveal thickness (CST). CMT was defined as the distance between the inner limiting membrane (ILM) and the Bruch's membrane (BM) at the fovea, and CST was the distance between the BM and the sclerochoroidal junction below the fovea.

Optical coherence tomography angiography analysis

OCTA imaging was performed with a cube of 4,5 mm × 4,5 mm field of view. SS-OCT Triton uses a 1,050-nm wavelength and has a scanning speed of 100,000 A-scans per second. Images were analyzed by the automated OCTARA (OCT Angiography Ratio Analysis) algorithm provided by the device, which is based on an intensity ratio analysis that preserves the axial resolution.^{8,11}

OCTA images were evaluated using the automatic layer segmentation software provided by the device. We defined choriocapillaris (CC) as the slab between 0 µm at the BM and 31,2 µm under the BM. Superficial capillary plexus (SCP) included the slab between 2,6 µm under the internal limiting membrane (ILM) and 15,6 µm under the inner plexiform layer (IPL). Deep capillary plexus (DCP) was the slab with the upper and lower boundaries 31,2 µm and 70,2 µm below the IPL. Total capillary plexus (TCP) was the slab between ILM and retinal pigment epithelium (RPE). SCP was automatically pre-set by the OCTA built-in software. Middle capillary plexus (MCP) is not automatically pre-set by current OCTA built-in softwares, which incorporates the MCP into either the SCP or DCP. Nevertheless, there is significant evidence (both anatomical and embryological) that this third capillary plexus exists in the macular region. As previously reported by Park et al., we defined MCP as the plexus located between 15,6 and 31,2 µm beneath the IPL.¹² DCP was defined as the slab automatically provided by the OCTA device, but excluding the MCP. TCP included full thickness retinal plexus, as previously described by Camevali et al.¹³ Regarding CC, Chu et al. stated that the CC slab should be defined as a 10–20 µm thickness slab beneath the BM. As we included BM in our slab and the actual OCTA systems cannot individually resolve the RPE (11 µm thick) from the BM, we decided to enlarge the slab.¹⁴

VD (expressed as %) and foveal avascular zone (FAZ area) (expressed in mm²) were measured in each patient. VD was provided by the IMAGENet software of the

device. VD is inferred from the decorrelation motion contrast signal provided by OCTA. The instrument automatically applies an ETDRS grid overlaying with an external ring of 2,5 mm of diameter and a central area of 1 mm of diameter. The external ring is composed by superior, inferior, temporal and nasal quadrants. Parafoveal VD was the mean of the four quadrants of the external ring. Total VD was the average of the five ETDRS subfields. FAZ area at each retinal capillary plexus was performed manually.^{11,15}

Statistical analysis

The continuous variables (including CMT, CST, VD and FAZ area) were presented as mean \pm standard deviation (SD). Kolmogorov-Smirnov test was performed to analyze the distribution of the data. Differences between HTN and control groups were evaluated using Student's *t* test. A subgroup analysis was performed between the groups of patients taking one, two or three antihypertensive drugs, using the ANOVA (analysis of variance) test. Pairwise comparisons were investigated with post hoc Bonferroni correction. The degree of correlation between OCTA quantitative parameters and HTN duration was expressed as the Pearson correlation coefficient (*r*). Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

Demographic and clinical characteristics

Demographic and clinical characteristics of all study eyes are included in Table 1. The study enrolled 93 eyes of 51

Table 1. Demographic and clinical characteristics of all study eyes.

Variable	Control group	HTN group
Patients, <i>n</i>	38	51
Eyes, <i>n</i>	71	93
Sex, <i>n</i> (%)	Male 13 (34,21%) Female 25 (65,79%)	Male 25 (49,02%) Female 26 (50,98%)
Age, years	59,04 \pm 10,54	63,75 \pm 9,01
BCVA, ETDRS letters	83,62 \pm 3,75	84,10 \pm 2,01
Type of antihypertensive medications (ACEIs or ARBs/CCBs/Others)	-	89/18/62
Number of antihypertensive medications (One/Two/Three)	-	36/38/19

Data are presented as mean \pm standard deviation. HTN: systemic hypertension; BCVA: best corrected visual acuity; ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; ACEI: angiotensin-converting enzyme inhibitors; ARB: angiotensin II receptor blockers; CCB: calcium channel blockers; Others: diuretics or beta blockers.

patients with HTN and 71 eyes of 38 healthy subjects. In the HTN group, there were 25 males (49,02%) and 26 females (50,98%), whereas in the control group there were 13 males (34,21%) and 25 females (65,79%). The average age was 63,75 \pm 9,01 years in the HTN group and 59,04 \pm 10,54 years in the control group. The mean BCVA was 84,10 \pm 2,01 letters in the HTN group and 83,62 \pm 3,75 letters in the control group. No differences were observed between both groups regarding sex and BCVA (*p* value 0,083 and 0,695, respectively). Nonetheless, age in the HTN group was slightly higher compared to the control group (*p* value 0,002). Mean duration of HTN was 6,16 \pm 2,70 years.

Optical coherence tomography parameters

Mean CMT was 252,94 \pm 27,22 μ m in the HTN group and 252,45 \pm 28,83 μ m in the control group. The average CST was 256,61 \pm 83,63 μ m in the HTN group and 272,03 \pm 67,05 μ m in the control group. No significant differences were observed between groups (*p* value 0,912 and 0,205).

Optical coherence tomography angiography analysis

Vessel density at choriocapillaris and at each retinal capillary plexus. At CC, parafoveal VD was decreased in the HTN group (*p* value 0,035). Although total VD was also

Table 2. Vessel density in optical coherence tomography angiography.

	Control group <i>n</i> of eyes = 71	HTN group <i>n</i> of eyes = 93	<i>p</i> value
CC VD			
Central	52,03 \pm 5,20	51,99 \pm 4,76	0,961
Parafoveal	53,64 \pm 1,65	53,08 \pm 1,69	0,035
Total	53,31 \pm 1,50	52,86 \pm 1,74	0,079
SCP VD			
Central	14,60 \pm 4,01	15,08 \pm 4,14	0,558
Parafoveal	46,69 \pm 1,97	46,53 \pm 2,01	0,610
Total	40,30 \pm 1,59	40,24 \pm 1,90	0,850
MCP VD			
Central	24,94 \pm 7,85	23,21 \pm 7,38	0,151
Parafoveal	43,24 \pm 2,62	43,12 \pm 3,02	0,793
Total	39,58 \pm 2,05	39,14 \pm 2,70	0,255
DCP VD			
Central	11,00 \pm 4,69	11,27 \pm 5,47	0,738
Parafoveal	50,69 \pm 2,34	49,91 \pm 2,47	0,041
Total	42,75 \pm 2,01	42,18 \pm 2,30	0,098
TCP VD			
Central	15,25 \pm 3,90	15,59 \pm 4,61	0,620
Parafoveal	51,18 \pm 1,62	50,53 \pm 1,62	0,012
Total	43,99 \pm 1,34	43,54 \pm 1,66	0,055

All values are presented as mean \pm SD. VD is expressed in %. HTN: systemic hypertension; CC: choriocapillaris; VD: vessel density; SCP: superficial capillary plexus; MCP: middle capillary plexus; DCP: deep capillary plexus; TCP: total capillary plexus.

diminished in the HTN group, no significant differences were achieved (p value 0,079) (Table 2).

At SCP and MCP, no significant differences in central, parafoveal and total VD were observed between groups (p value $>0,05$). At DCP and TCP, parafoveal VD was diminished in the HTN group (p value 0,041 and 0,012). As in CC, even though total VD was decreased in patients with HTN, no statistical significance was reached (p value 0,098 and 0,055) (Table 2).

FAZ area of retinal capillary plexus. Regarding FAZ area, no statistical significance was demonstrated in any retinal capillary plexus (SCP, MCP, DCP and TCP). Mean FAZ areas of each retinal capillary plexus and p values are included in Table 3.

Subgroup analysis

At CC, no statistical significant differences were achieved between patients taking one, two or three antihypertensive medications (p value $>0,05$). In SCP, central VD was superior in patients taking one drug compared to patients treated with two or more medications (p value 0,005). At MCP, no differences in VD were observed between groups (p value $>0,05$). In DCP and TCP, VD in central region was significantly superior in patients treated with only one antihypertensive drug compared to patients taking two drugs (p value 0,037 and 0,009, respectively). Moreover, VD in the total area of TCP was increased in patients managed with one antihypertensive medication compared to those treated with two medications (p value 0,016) (Table 4).

Regarding FAZ area of retinal capillary plexus, no statistical significance was achieved, except for FAZ area at SCP, which was enlarged in patients that needed more antihypertensive drugs (p value 0,043) (Table 4).

Correlation analysis

A significant negative correlation between HTN duration and parafoveal VD at SCP was found ($r = -0,212$ and p value

0,042). Nonetheless, this correlation was not very strong. No statistical significant correlations were observed between VD at CC, MCP, DCP and TCP, and HTN duration (Table 5).

Regarding FAZ area, statistical significant negative correlations were demonstrated between the duration of HTN and the FAZ area at SCP, DCP and TCP ($r = -0,229$, $-0,230$ and $-0,211$, and p value 0,027, 0,026 and 0,042, respectively). Nevertheless, these correlations were not strong (Table 5).

Discussion

High-resolution imaging of microvasculature in vivo is very challenging. The human eye is a window of opportunity to visualize capillaries in vivo. OCTA is a non-invasive retinal vascular imaging able to visualize capillaries up to 3,5–6 μm with high-resolution. In addition, OCTA provides depth images of SCP, MCP, DCP and CC. The retina shares similar anatomical and physiological features

Table 4. Quantitative parameters of optical coherence tomography angiography depending on the number of the antihypertensive drugs.

	One $n = 36$	Two $n = 38$	Three $n = 19$	p value
CC VD				
Central	52,41 \pm 5,02	52,22 \pm 4,73	50,75 \pm 4,35	0,445
Parafoveal	52,98 \pm 1,79	53,32 \pm 1,52	52,77 \pm 1,84	0,471
Total	52,86 \pm 1,97	53,10 \pm 1,36	52,37 \pm 1,90	0,329
SCP VD				
Central	16,79 \pm 4,69	14,11 \pm 3,23*	13,78 \pm 3,74*	0,005
Parafoveal	46,50 \pm 2,08	46,55 \pm 2,16	46,55 \pm 1,66	0,994
Total	40,56 \pm 2,03	40,06 \pm 2,00	40,00 \pm 2,80	0,439
MCP VD				
Central	25,13 \pm 8,20	21,72 \pm 6,20	22,57 \pm 7,47	0,126
Parafoveal	43,28 \pm 3,52	42,82 \pm 2,84	43,40 \pm 2,35	0,730
Total	39,65 \pm 2,77	38,60 \pm 2,87	39,23 \pm 2,51	0,244
DCP VD				
Central	13,07 \pm 6,33	9,94 \pm 4,76*	10,50 \pm 4,18	0,037
Parafoveal	50,15 \pm 2,04	49,75 \pm 2,82	49,78 \pm 2,54	0,764
Total	42,63 \pm 1,88	41,79 \pm 2,54	41,92 \pm 2,44	0,183
TCP VD				
Central	17,39 \pm 5,08	14,34 \pm 4,17*	14,67 \pm 3,50	0,009
Parafoveal	50,85 \pm 1,68	50,35 \pm 1,69	50,28 \pm 1,29	0,320
Total	44,16 \pm 1,70	43,15 \pm 1,70*	43,16 \pm 1,12	0,016
FAZ area				
SCP	0,28 \pm 0,11	0,33 \pm 0,10	0,34 \pm 0,09	0,043
MCP	0,21 \pm 0,11	0,21 \pm 0,10	0,21 \pm 0,07	0,986
DCP	0,29 \pm 0,12	0,21 \pm 0,09	0,31 \pm 0,08	0,472
TCP	0,32 \pm 0,11	0,37 \pm 0,11	0,36 \pm 0,08	0,120

All values are presented as mean \pm SD. CC: choriocapillaris; VD: vessel density; SCP: superficial capillary plexus; MCP: middle capillary plexus; DCP: deep capillary plexus; TCP: total capillary plexus.

*Symbols depict the statistically significant change from one antihypertensive drug group.

Table 3. Foveal avascular zone area in optical coherence tomography angiography.

	Control group n of eyes = 71	HTN group n of eyes = 93	p value
SCP FAZ area	0,32 \pm 0,11	0,31 \pm 0,11	0,870
MCP FAZ area	0,21 \pm 0,09	0,21 \pm 0,10	0,947
DCP FAZ area	0,31 \pm 0,12	0,30 \pm 0,10	0,802
TCP FAZ area	0,34 \pm 0,13	0,35 \pm 0,10	0,634

All values are presented as mean \pm SD. FAZ area is expressed in mm^2 . HTN: systemic hypertension; SCP: superficial capillary plexus; FAZ: foveal avascular zone; MCP: middle capillary plexus; DCP: deep capillary plexus; TCP: total capillary plexus.

with other organs, such as the brain and kidneys. As retinal microvasculature is more easily to visualize than these organs, OCTA could be used as a potential tool to identify subclinical hypertensive vascular changes and to prevent cardiovascular systemic complications, and secondarily morbidity and mortality. By using built-in automatic OCTA softwares, OCTA can easily and quickly measure retinal and choroidal microvascular parameters, including VD and FAZ area.^{10,16–20} Moreover, with the recent introduction of SS-OCTA, the visualization of the choroid has been improved notably. The longer center wavelength of this device is less scattered by the RPE and less prone to low signal in the CC. Therefore, CC imaging using SS-OCTA is more reliable.⁷

In our study, we demonstrated a statistical significant diminution of parafoveal VD at CC, DCP and TCP in the HTN group. Moreover, total VD of CC, DCP and TCP was inferior in the HTN group, although this difference did not achieve statistical significance. Conversely, we were not able to demonstrate significant differences in foveal VD at CC and at each retinal capillary plexus, and in parafoveal and total VD at SCP and MCP. To the best of our knowledge, this is the first study reported in the literature quantifying VD at MCP in patients with HTN. In addition, this is the first report that analyzed

SS-OCTA quantitative parameters of retinal and choroidal capillaries using the built-in automatic SS-OCTA software in patients with HTN.

There are few studies on SS-OCTA in HTN patients. The report of Vadalà et al. analyzed 120 hypertensive eyes with SS-OCT Triton, demonstrating a lower parafoveal VD at SCP and DCP in patients with low glomerular filtrate and with chronic kidney disease.⁹ Other studies with the SS-OCTA PLEX Elite 9000 demonstrated a diminution of VD in the DCP and more flow deficits in the CC in patients affected by HTN.^{7,16} Similarly, studies with spectral domain-OCTA (SD-OCTA) have been shown that atherosclerotic changes secondary to HTN have a preference for DCP and CC.^{2,4,19,21–24} SCP is formed by small arterioles that branch in the MCP before entering in the DCP. Thus, MCP is predominantly arterial, whereas DCP is constituted by postcapillary venules. Because of that, we suggested that DCP may be more susceptible to ischemia than MCP and SCP, because the last two have higher perfusion pressure and autoregulatory capacity.^{6,12,25} The choroid has even less autoregulatory capacity than the retinal microvasculature, so HTN may lead to decreased perfusion in the CC.²² Conversely, other investigations with SD-OCTA were able to demonstrate a diminution of VD in SCP in patients with HTN.^{26,27} We explained this difference because of the presence of comorbidities that could affect the autoregulatory capacity of SCP in the first study, and by the small sample size of the last one.

The inner part of the INL is vascularized by the arteriolar branches of the SCP, which formed a distinct capillary network known as MCP. The development of MCP is driven by hypoxia signaled through the vascular endothelial growth factor of amacrine cells, as it has been demonstrated in investigations in adult mice. In fact, ablation of VEGF in the amacrine cells of adult mice can produce the deterioration of MCP.¹² Therefore, we suggested that HTN may produce an increase of VEGF in retinal microvasculature secondary to microvascular rarefaction and vasoconstriction that could maintain the integrity of MCP.

Regarding central VD at CC and at each retinal capillary plexus, and FAZ area at each retinal capillary plexus, no statistical differences were demonstrated between groups. The foveola has the maximum cone photoreceptor density. Thus, we suggested that central VD and FAZ area may be not affected until the later stages of HTN as a result of an autoregulatory response that attempts to maintain the higher metabolic demands of the photoreceptors.⁵

Subgroup analysis between the groups of patients taking one, two or three antihypertensive drugs revealed a decrease in central VD at SCP, DCP and TCP in patients treated with two medications compared to patients taking one drug. Although no statistical differences were achieved between patients taking three antihypertensive drugs compared to patients treated with one drug, we suggested that this was due to the small sample size of the last group.

Table 5. Correlation analysis between systemic hypertension duration and quantitative parameters of optical coherence tomography angiography.

	HTN duration	
	Correlation	p value
Central CC VD	0,026	0,741
Parafoveal CC VD	−0,001	0,989
Total CC VD	0,039	0,711
Central SCP VD	0,139	0,184
Parafoveal SCP VD	−0,212	0,042
Total SCP VD	−0,119	0,256
Central MCP VD	−0,057	0,467
Parafoveal MCP VD	−0,011	0,914
Total MCP VD	0,040	0,706
Central DCP VD	0,062	0,432
Parafoveal DCP VD	−0,098	0,352
Total DCP VD	−0,041	0,697
Central TCP VD	0,068	0,387
Parafoveal TCP VD	−0,204	0,050
Total TCP VD	−0,115	0,273
SCP FAZ area	−0,229	0,027
MCP FAZ area	−0,194	0,063
DCP FAZ area	−0,230	0,026
TCP FAZ area	−0,211	0,042

The degree of correlation was expressed as the Pearson correlation coefficient. HTN duration is expressed in years. HTN: systemic hypertension; CC: choriocapillaris; VD: vessel density; SCP: superficial capillary plexus; MCP: middle capillary plexus; DCP: deep capillary plexus; TCP: total capillary plexus; FAZ: foveal avascular zone.

Higher levels of blood pressure (BP) lead to retinal vasoconstriction. If high BP is chronically maintained, compression of venules by arterioles occurs.¹⁸ Thus, we speculated that patients treated with more than two antihypertensive drugs had higher levels of BP in the past, presenting more severe retinal damage consisting of a decrease in foveal VD, which may produce greater photoreceptor damage, secondarily affecting visual acuity. Similarly, Hua et al. compared patients with poor BP control with subjects with adequate BP control, finding that foveal VD at DCP was lower in the group with poor BP control.²⁸

Correlation analysis revealed significant negative correlations between the duration of HTN, and parafoveal VD in the SCP and FAZ area at SCP, DCP and TCP. Nonetheless, the correlations were weak ($r < 0.300$). Thus, we suggested that chronic HTN induces vasoconstriction of the arterioles of the SCP, exceeding its autoregulatory capacity, but sparing the capillaries of the MCP. Furthermore, a longer HTN duration correlates with a smaller FAZ area at SCP, DCP and TCP. We expected that longer HTN duration had produced an enlargement of the FAZ area due to capillary rarefaction. We suggested that it is possible that the constriction of the FAZ is the result of vascular remodeling consisting of the development of collaterals in the perfoveal region that tries to maintain the outer retina. This is contrary to the results reported by Lim et al., who demonstrated an enlargement of the FAZ area in the SCP in patients with HTN duration of 5 years or more. We suggested that these differences may be due to the distinct duration of HTN in our patients (6, 16 years versus 10, 50 years).¹⁸

Our study had some limitations. First, it was a cross-sectional and single-center study with a small sample size. Second, we did not use an age- and gender-matched method to select the control group. Third, we did not perform a subgroup analysis to analyze the effect of different types of antihypertensive medications in quantitative OCTA parameters.

In conclusion, we demonstrated a diminution of VD in the parafoveal region of CC, DCP and TCP in patients with HTN using built-in software of a SS-OCTA device. When normative data are available, OCTA might be used as a potential tool in the prevention and follow-up of end-organ damage secondary to HTN. Nonetheless, larger and prospective studies are needed to confirm this hypothesis.

Consent to publish

Informed consent for publication was obtained from all patients.


Declaration of conflicting interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

ORCID iD

Lidia Remoli Sargues  <https://orcid.org/0000-0002-7919-0462>

References

1. Anjos R, Ferreira A, Barkoudah E, et al. Application of optical coherence tomography angiography macular analysis for systemic hypertension. A systematic review and meta-analysis. *Am J Hypertens* 2022; 35: 356–364.
2. Xu Q, Sun H, Huang X, et al. Retinal microvascular metrics in untreated essential hypertensives using optical coherence tomography angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2021; 259: 395–403.
3. Tan W, Yao X, Le TT, et al. The application of optical coherence tomography angiography in systemic hypertension: a meta-analysis. *Front Med* 2021; 8: 778330.
4. Donati S, Maresca AM, Cattaneo J, et al. Optical coherence tomography angiography and arterial hypertension: a role in identifying subclinical microvascular damage? *Eur J Ophthalmol* 2021; 31: 158–165.
5. Sun Z, Yang D, Tang Z, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: an updated review. *Eye* 2021; 35: 149–161.
6. Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, et al. Optical coherence tomography angiography. *Prog Retinal Eye Res* 2018; 64: 1–55.
7. Chua J, Le TT, Tan B, et al. Choriocapillaris microvasculature dysfunction in systemic hypertension. *Sci Rep* 2021; 11: 4603.
8. Stanga PE, Tsamis E, Papayannis A, et al. Swept-source optical coherence tomography AngioTM (Topcon Corp, Japan): technology review. In: Bandello F, Souied EH and Querques G (eds) *Developments in ophthalmology*. S. Karger AG; 2016 [cited 2021 Aug 28]. pp.13–17, <https://www.karger.com/Article/FullText/442771>.
9. Vadalà M, Castellucci M, Guarasi G, et al. Retinal and choroidal vasculature changes associated with chronic kidney disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2019; 257: 1687–1698.
10. Chua J, Le T, Sim YC, et al. Relationship of quantitative retinal capillary network and myocardial remodeling in systemic hypertension. *JAMA* 2022; 11: e024226.
11. Forte R, Haulani H and Jürgens I. Quantitative and qualitative analysis of the three capillary plexuses and choriocapillaris in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus without clinical signs of diabetic retinopathy: a prospective pilot study. *Retina* 2020; 40: 333–344.
12. Park JJ, Soetikno BT and Fawzi AA. Characterization of the middle capillary plexus using optical coherence tomography angiography in healthy and diabetic eyes. *Retina* 2016; 36: 2039–2050.
13. Camevali A, Sacconi R, Corbelli E, et al. Optical coherence tomography angiography analysis of retinal vascular plexuses and choriocapillaris in patients with type 1 diabetes without diabetic retinopathy. *Acta Diabetol* 2017; 54: 695–702.
14. Chu Z, Zhang Q, Gregori G, et al. Guidelines for imaging the choriocapillaris using OCT angiography. *Am J Ophthalmol* 2021; 222: 92–101.
15. Mousa M. Grading of macular perfusion in retinal vein occlusion using en-face swept-source optical coherence tomography angiography: a retrospective observational case series. *BMC Ophthalmol* 2019; 19(1): 127.

16. Terheyden JH, Wintergerst MWM, Pizarro C, et al. Retinal and choroidal capillary perfusion are reduced in hypertensive crisis irrespective of retinopathy. *Trans Vis Sci Tech* 2020; 9: 42.
17. Lee WH, Park JH, Won Y, et al. Retinal microvascular change in hypertension as measured by optical coherence tomography angiography. *Sci Rep* 2019; 9: 156.
18. Lim HB, Lee MW, Park JH, et al. Changes in ganglion cell-inner plexiform layer thickness and retinal microvasculature in hypertension: an optical coherence tomography angiography study. *Am J Ophthalmol* 2019; 199: 167–176.
19. Sun C, Ladores C, Hong J, et al. Systemic hypertension associated retinal microvascular changes can be detected with optical coherence tomography angiography. *Sci Rep* 2020; 10: 9580.
20. Hua D, Xu Y, Zeng X, et al. Use of optical coherence tomography angiography for assessment of microvascular changes in the macula and optic nerve head in hypertensive patients without hypertensive retinopathy. *Microvasc Res* 2020; 129: 103969.
21. Chua J, Chin CWL, Hong J, et al. Impact of hypertension on retinal capillary microvasculature using optical coherence tomographic angiography. *J Hypertens* 2019; 37: 572–580.
22. Chua J, Chin CWL, Tan B, et al. Impact of systemic vascular risk factors on the choriocapillaris using optical coherence tomography angiography in patients with systemic hypertension. *Sci Rep* 2019; 9: 5819.
23. Monteiro-Henriques I, Rocha-Sousa A and Barbosa-Breda J. Optical coherence tomography angiography changes in cardiovascular systemic diseases and risk factors: a review. *Acta Ophthalmol* 2022; 100: a05.14851.
24. Peng Q, Hu Y, Huang M, et al. Retinal neurovascular impairment in patients with essential hypertension: an optical coherence tomography angiography study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020; 61: 42.
25. Park YG, Kim M and Roh YJ. Evaluation of foveal and parafoveal microvascular changes using optical coherence tomography angiography in type 2 diabetes patients without clinical diabetic retinopathy in South Korea. *J Diabetes Res* 2020; 2020: 1–7.
26. Sun MT, Huang S, Chan W, et al. Impact of cardiometabolic factors on retinal vasculature: a 3×3, 6×6 and 8×8-mm optical coherence tomography angiography study. *Clin Experiment Ophthalmol* 2021; 49: 260–269.
27. Zeng R, Garg I, Barnai D, et al. Retinal microvasculature and vasoreactivity changes in hypertension using optical coherence tomography-angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2022; 260: 3505–3515.
28. Hua D, Xu Y, Zhang X, et al. Retinal microvascular changes in hypertensive patients with different levels of blood pressure control and without hypertensive retinopathy. *Curr Eye Res* 2021; 46: 107–114.

7. DISCUSIÓN

7.1. APLICACIONES.

La OCTA es una novedosa técnica de imagen no invasiva que permite la visualización de la microcirculación retiniana y coroidea sin la necesidad de administrar un contraste intravenoso, evitando de esta forma los riesgos asociados al mismo, como náuseas, vómitos, complicaciones cardiovasculares y anafilaxia(90).

Desde su comercialización, su uso se ha extendido rápidamente en la práctica clínica, revolucionando nuestro conocimiento acerca de la fisiopatología de diferentes enfermedades coriorretinianas, como la retinopatía diabética, la oclusión venosa retiniana, la oclusión arterial retiniana, la degeneración macular asociada a la edad, las enfermedades inflamatorias intraoculares y las distrofias hereditarias de la retina(10). En lo que respecta a otras patologías coriorretinianas, los estudios con OCTA son escasos, limitándose a la descripción cualitativa de las imágenes de OCTA en pequeñas series de casos. Este es el caso de los PCR, condición que puede ser secundaria a una hipermetropía primaria o que puede ser producida por numerosas enfermedades oculares(56–59,62). Las escasas series de casos publicadas en la literatura describen la presencia de líneas hiporreflectivas en el PCP y en la CC de los pacientes con PCR secundarios a coriorretinopatía serosa central, hipotonía, anisometropía debida a hipermetropía, malformación orbitaria venosa y adenoma pleomorfo de la glándula lagrimal. Es posible que esta disminución del flujo sanguíneo sea debida o bien al estiramiento que producen los PCR en la CC o bien al efecto de enmascaramiento que producen las células del EPR compactadas en el valle de los pliegues(56,57,62). La primera investigación de la presente tesis demostró que en pacientes con PCR hipermetrópicos no se alteró la DV en el PCP y en la CC, indicando que los pacientes con PCR hipermetrópicos no presentan afectación microvascular retiniana ni coroidea. Se sugiere que los pacientes con PCR secundarios presentan mayor afectación del flujo sanguíneo debido a que el estiramiento de la CC o la compactación del EPR en el valle de los pliegues se produce de una forma más aguda y brusca que en el caso de los PCR hipermetrópicos, impidiéndose la puesta en marcha de los mecanismos de autorregulación. Además, se ha observado que en los PCR de larga duración o crónicos (como sería el caso de los PCR idiopáticos) se produce un daño en las células compactadas del EPR(91), lo que disminuiría el efecto de enmascaramiento que produce el pigmento del EPR en la medición del flujo sanguíneo en la CC. Estos resultados podrían indicar que cuando se disponga de bases de datos normativas, la OCTA podría distinguir los PCR hipermetrópicos de los PCR secundarios, evitando la realización de pruebas complementarias innecesarias. Recientemente, un estudio en pacientes con PCR secundarios a oftalmopatía tiroidea también demostró una disminución de la DV en el PCS, concluyendo que la afectación de la DV en los PCR se produce en aquellos casos con afectación visual(64). En los casos con afectación visual es probable que la ondulación de la

coroides, la MB y el EPR sea mayor, provocando dicha ondulación una mayor alteración de la microcirculación. No obstante, en los PCR idiopáticos se puede encontrar una reducción de la DV en el PCS asociada a la hipermetropía, al igual que se demostró en el primer estudio de la presente tesis y en la investigación de Bayraktar et al(65).

Otra de las potenciales aplicaciones de la OCTA es el cribado de diferentes patologías oculares, como por ejemplo el glaucoma, en el cual los estudios han demostrado que la OCTA permite detectarlo en sus estadios más iniciales(92,93). En los últimos años ha habido un interés creciente en la investigación del papel de la OCTA como método de cribado de la toxicidad retiniana por HCQ. La HCQ es un inmunomodulador utilizado en el tratamiento de numerosas enfermedades autoinmunes debido a su excelente perfil de seguridad sistémica. No obstante, uno de sus potenciales efectos adversos es la toxicidad retiniana, la cual es más probable en pacientes que reciben este tratamiento durante más de 5 años(66–70). Las últimas guías aconsejan el cribado de la toxicidad retiniana por HCQ mediante la realización de una OCT y una imagen de autofluorescencia del fondo de ojo cada año(74). Sin embargo, numerosos estudios con OCTA han demostrado una disminución de la DV en el PCS, el PCM, el PCP y la CC, así como un aumento del área de la ZAF en el PCS y el PCP en pacientes en tratamiento con HCQ(66,68,69,71,75–79). Por el contrario, en la segunda investigación llevada a cabo no disminuyó la DV ni se incrementó el área de la ZAF en los pacientes que se encontraban en tratamiento con HCQ. Resultados similares ha obtenido la reciente investigación de Esser et al., que tampoco observó una disminución de la DV en un grupo de pacientes con AR en tratamiento con HCQ, concluyéndose que la OCTA no puede sustituir a la OCT en el screening de la toxicidad retiniana por HCQ(94). El mecanismo por el cual se produce la toxicidad retiniana por HCQ es la unión de la HCQ a la melanina del EPR y de la coroides. Además, la HCQ produce una alteración del metabolismo celular de los FR. Por ello, la HCQ podría producir un aumento del área de la ZAF (debido a la unión de la HCQ a la melanina de las células del EPR), así como una disminución de la DV en el PCP y la CC (secundaria a la alteración del metabolismo de los FR)(66–73). No obstante, la disminución de la DV en el PCS demostrada por la mayoría de estudios no es explicable por la toxicidad de la HCQ. Además, dichas investigaciones no tienen en cuenta el efecto que pueden tener las enfermedades autoinmunes (incluyendo también la duración de las mismas) que padecen los pacientes en tratamiento con HCQ en la microcirculación retiniana y corioidea(95).

El ojo humano es el único órgano que permite la visualización directa de la microvascularización sistémica de manera no invasiva gracias a la OCTA. Así mismo, se ha observado que la microvascularización del ojo humano presenta grandes similitudes con la circulación cerebral, la circulación coronaria y la microvascularización glomerular(53,85–88,96–99). Por lo tanto, la OCTA presenta además una potencial aplicación en la prevención

y estratificación del riesgo cardiovascular, especialmente en pacientes con factores de riesgo cardiovascular como la diabetes mellitus, la DL o la HTA, entre otros(98).

Los estudios en pacientes diabéticos son múltiples, concluyendo la mayoría de ellos que la OCTA es capaz de detectar anomalías en la microvascularización retiniana incluso cuando no se observan signos de RD en el fondo de ojo(12,43,100–105). Sin embargo, con respecto a la DL o a la HTA, las investigaciones son escasas. La DL puede afectar a la microcirculación sistémica antes de que se manifieste la aterosclerosis sistémica, ya que produce una disfunción endotelial que termina en la vasoconstricción de la microcirculación sistémica(106). Chua et al. estudiaron recientemente a 247 pacientes que se encontraban en seguimiento por el cardiólogo, con el objetivo de investigar la posible asociación de DL, HTA, diabetes mellitus, insuficiencia cardíaca, enfermedad arterial coronaria, enfermedad arterial periférica, enfermedad cerebrovascular y patología renal crónica, con la DV del PCS medida por OCTA. Los autores demostraron que la DL, la HTA, la diabetes mellitus, la enfermedad arterial coronaria, la enfermedad arterial periférica y la patología renal crónica se encontraban asociadas con una disminución de la DV en el PCS. No obstante, tras el análisis multivariante, tan solo la DL presentó una asociación significativa con la DV en el PCS(82). Por otra parte, Stefanutti et al. llevaron a cabo una investigación en 20 pacientes con hipercolesterolemia familiar y no observaron diferencias estadísticamente significativas respecto a la DV en el PCS y el PCP en comparación con el grupo control(53). Los resultados de la tercera investigación de la presente tesis son similares a los del estudio de Stefanutti et al., pues tampoco se observaron alteraciones en la DV en el PCS y el PCP en el grupo de pacientes con DL. Sin embargo, sí que se objetivó una disminución de la DV en la CC en los pacientes con DL. La CC podría dañarse antes que la microcirculación retiniana en los pacientes con DL, debido a que presenta una menor capacidad de autorregulación que la microvascularización retiniana(84). Además, se observó un aumento no significativo del área de la ZAF en los pacientes con DL, por lo que es posible que los capilares más pequeños de la región perifoveal se afecten en mayor medida por la aterosclerosis secundaria a la DL. Estos resultados sugieren que la OCTA podría utilizarse en el diagnóstico de la aterosclerosis subclínica sistémica secundaria a la DL a través de la visualización de la microcirculación coroidea.

En relación a la HTA, la mayoría de estudios acerca de OCTA publicados en la literatura demuestran una disminución de la DV en el PCP y la CC de los pacientes hipertensos(55,84,86,88,89,96,107–110). De acuerdo con estos resultados, la cuarta investigación de la presente tesis demuestra una menor DV parafoveal en el PCP, el PCT y la CC de los pacientes hipertensos. Por ello, se sugiere que la HTA afecta a los plexos vasculares con menor capacidad de autorregulación, como el PCP y la CC(10,32,33,84). Además, no se observaron alteraciones en la DV central de todos los plexos capilares

retinianos y de la CC, indicando que en la HTA se produce una autorregulación vascular que intenta mantener la alta demanda metabólica de los FR de la región foveal(12). Al contrario que en el caso de la DL, no se encontró un aumento del área de la ZAF en los pacientes hipertensos. Por ello, se sugiere que podrían existir diferencias en el mecanismo patogénico de la DL y de la HTA que darían lugar a una mayor capacidad de autorregulación en el caso de la HTA. Al igual que en la DL, en la HTA se produce una disfunción endotelial, una activación de la respuesta inflamatoria y una activación del sistema renina-angiotensina. No obstante, se cree que el primer cambio que sucede en respuesta al aumento de la presión arterial es la vasoconstricción, la cual intenta mantener el flujo sanguíneo. Además, se ha demostrado que la angiogénesis puede tener un papel esencial en la patogenia de la retinopatía hipertensiva, siendo el factor de crecimiento del endotelio vascular un marcador precoz de la existencia de daño vascular endotelial(106,111). Por lo tanto, la respuesta de autorregulación podría ser más fuerte en el caso de la HTA, pudiéndose preservar por ello el árbol vascular perifoveal, que es el responsable de mantener la alta demanda metabólica de los FR. En definitiva, se concluye que la OCTA podría emplearse para la prevención y el seguimiento de la afectación microvascular sistémica provocada por la HTA.

7.2. LIMITACIONES.

En la actualidad, la principal limitación de la OCTA es la ausencia de bases de datos normativas, lo cual dificulta la aplicación clínica del análisis cuantitativo de la misma. Además, la reciente introducción de esta nueva tecnología, así como las continuas y rápidas mejoras de la misma, supone un exigente reto para los oftalmólogos, que deben actualizarse constantemente. Esta necesidad se ve incrementada por el interés exponencial, y en parte necesario, en la utilización de la OCTA en la patología retiniana y sistémica(10).

Otra de las limitaciones de la OCTA que dificulta su aplicación en la práctica clínica es la existencia de diferentes equipos de OCTA comercializados por distintas compañías, que utilizan softwares propios para el procesamiento de las imágenes y la cuantificación de los distintos parámetros vasculares, lo que impide la comparación de las mediciones entre los diferentes equipos(46,112).

7.2.1. Tecnología swept-source.

La tecnología SS fue descrita por primera vez en 1990, aunque fue comercializada en el año 2012. Esta tecnología emplea un láser de barrido sintonizable con una longitud de onda de 1050 nm, lo que le confiere una serie de ventajas con respecto a la tecnología SD(113).

En primer lugar, permite una mayor velocidad de adquisición (100.000 A-scans por segundo), lo que facilita la adquisición de las imágenes en pacientes con problemas de

fijación o con ojo seco, al mismo tiempo que disminuye el artefacto de movimiento. Además, su mayor velocidad facilita la captura de imágenes de áreas más amplias de la retina, así como la captura de muchos más scans en cada posición, lo que permite incrementar la calidad de las imágenes(46,113,114).

En segundo lugar, gracias al empleo de una mayor longitud de onda, consigue una mejor visualización de las estructuras más profundas, como por ejemplo la coroides, debido a que se reduce la absorción y dispersión de la luz reflejada por el EPR. De esta forma, se reduce el artefacto de proyección en las capas más profundas, como el PCP y la CC. Además, en casos con opacidad de medios se consigue una mejor visualización de las estructuras(46,90,113–115).

En tercer lugar, la línea de escaneo empleado es prácticamente invisible, lo que mejora el confort de los pacientes, permitiendo una adquisición más fácil de las imágenes, especialmente en pacientes con patologías de la superficie ocular(46).

Sin embargo, a pesar de sus muchas ventajas, la tecnología SS presenta dos inconvenientes. El primero de ellos es que tiene menor resolución axial y transversal (de entre 6 y 8 μm respecto a la resolución axial de hasta 5 μm de los equipos SD, y de 20 μm en comparación con la resolución transversal de hasta 14 μm que alcanzan los equipos con tecnología SD). Por último, esta tecnología tiene un alto coste. Tanto es así que actualmente en Estados Unidos la OCTA-SS solo se encuentra disponible en los grandes centros de investigación(23).

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, la OCTA-SS es superior a la OCTA-SD, especialmente si se tiene acceso a ella. Actualmente hay comercializados tres aparatos de OCTA-SS: el modelo Plex Elite 9000 de Zeiss, el modelo Triton de Topcon y el modelo Xephilio OCT-S1 de Canon(25). Una de las ventajas del modelo Triton de Topcon es que permite el cálculo automático de la DV en todos los plexos capilares retinianos y en la CC por medio de la realización de un ajuste manual de la segmentación automática proporcionada por el equipo(52).

7.2.2. Tamaño de los cubos.

En la actualidad, la mayoría de los modelos de OCTA ofrecen la posibilidad de capturar imágenes de OCTA desde los 3 mm x 3 mm hasta los 12 mm x 12 mm. La gran variedad de tamaños de cubos disponibles ha generado un creciente interés acerca de la influencia del tamaño del cubo de OCTA en la medición de los distintos parámetros cuantitativos(37,116–118). Los cubos de menor tamaño presentan una mejor resolución, a costa de sacrificar la visualización de un mayor campo de la retina. Una de las posibles soluciones a este problema sería la realización de montajes de imagen a partir de cubos más pequeños de las distintas regiones de la retina que se deseen visualizar. Sin embargo,

a mayor tiempo de adquisición más probabilidades de aumentar los artefactos de movimiento(117).

Los resultados acerca de si el área de la ZAF y la DV son semejantes entre los cubos de 3 mm x 3 mm y de 6 mm x 6 mm son contradictorios. Mientras que Dong et al. y Rabiolo et al. no encontraron diferencias en el área de la ZAF entre los distintos cubos, pero sí en la DV(118,119); Chen et al. no encontraron diferencias en la DV, pero sí en el área de la ZAF(116). No obstante, actualmente las guías para el estudio de la CC por medio de la OCTA aconsejan los cubos de 3 mm x 3 mm y 6 mm x 6 mm para la cuantificación de la misma(37). De hecho, el modelo de OCTA-SS Triton de Topcon no proporciona la medición automática de la DV en los distintos plexos capilares retinianos y en la CC en los cubos de 9 mm x 9 mm y de 12 mm x 12 mm. Debido a que actualmente no existen estudios que analicen la reproducibilidad y repetibilidad de la DV medida por el software incorporado en el modelo de OCTA-SS Triton de Topcon en los cubos de 3 mm x 3 mm y de 4,5 mm x 4,5 mm(120), se decidió analizar el cubo de 6 mm x 6 mm en la mayoría de las presentes investigaciones. Sin embargo, en el estudio en pacientes hipertensos se incluyó tan solo el análisis del cubo de 4,5 mm x 4,5 mm, lo que constituyó una limitación. Se decidió emplear este tamaño de cubo debido a su mejor resolución y a la menor presencia de artefactos.

7.2.3. Segmentación.

A nivel macular se han descrito tres plexos capilares retinianos histológicamente: el PCS, el PCI y el PCP. El PCS está formado por arteriolas con alta presión de perfusión que se encargan de suplir por medio de anastomosis verticales al PCI y al PCP, los cuales presentan una menor presión de perfusión(10,11,32–34). A diferencia del PCS y el PCP, el PCI no presenta una segmentación preestablecida por los softwares integrados en los distintos modelos de la OCTA, siendo integrado automáticamente en el PCS o el PCP. El PCI fue definido por Park et al. como el plexo vascular situado en la unión entre la CPI y la CNI(32). En la presente tesis se decidió incluir en el análisis cuantitativo de las imágenes de OCTA la DV en el PCM, con el objetivo de analizar los posibles cambios patogénicos producidos a nivel de este plexo capilar diferenciado histológicamente. No obstante, no existen estudios en la literatura que confirmen la reproducibilidad y repetibilidad de esta medida con el software de cálculo automático proporcionado por la OCTA-SS Triton de Topcon, lo que supuso una limitación(120). Uno de los motivos que dificulta la segmentación automática del PCI es el artefacto de proyección(114,121).

Por otra parte, la medición de la DV en el PCT, definido previamente en la literatura como el plexo vascular que incluye la totalidad del grosor retiniano(100), eliminaría en parte los problemas relacionados con los errores de segmentación y el artefacto de proyección. En la presente tesis, se determinaron estos valores en dos de los estudios (en las

investigaciones acerca de la toxicidad retiniana por HCQ y la HTA), a pesar de la falta de estudios en la literatura que confirmen la reproducibilidad y repetibilidad de esta medida con la OCTA-SS Triton de Topcon(120).

En relación con la CC, no existe consenso en la literatura sobre cuál es la segmentación más adecuada de la CC. Mientras que hay modelos de OCTA que incluyen el EPR en la segmentación de la CC (AngioVue y AngioPlex), existen otros que no lo incluyen (Heidelberg Spectralis y Triton)(46). Por este motivo el grosor de la CC varía entre los distintos modelos, pues hay que tener en cuenta que el EPR presenta un grosor de alrededor de 11 μm y la MB varía entre las 2 y 6 μm . En la actualidad, en la literatura se aconseja que la CC quede segmentada por debajo de la MB y presente un grosor de entre 10 y 20 μm , pues a pesar de que el grosor de la CC es de entre 6 y 10 μm , la resolución axial actual de la OCTA-SS es de 6 para Plex Elite 9000 y de 8 μm para Triton, por lo que no es capaz de distinguir entre el EPR, la MB y la CC(36,37). Es por ello que en el presente estudio se decidió definir la CC con un grosor de 31,2 μm por debajo de la MB. Esto constituyó una limitación, ya que no hay investigaciones en la literatura actual que demuestren la repetibilidad y reproducibilidad de la DV medida en la CC utilizando los criterios de segmentación anteriores(120).

7.2.4. Parámetros cuantitativos medidos por la angiografía por tomografía de coherencia óptica.

La alta resolución que presentan las imágenes de OCTA ha permitido la cuantificación de diversos parámetros de la microvascularización retiniana y coroidea, destacando el área de la ZAF y la DV. Todavía no existe consenso en la literatura sobre cuál es el mejor método de procesamiento de las imágenes y de cuantificación de los distintos parámetros(112,117). Entre los factores que afectan la medición de los parámetros cuantitativos de la OCTA se encuentran los algoritmos de procesamiento de las imágenes, la segmentación, la calidad de las imágenes, la presencia de artefactos, el tamaño del cubo y la técnica de cuantificación (manual, semi-automática o automática)(117,118). Todos estos factores difieren entre los distintos equipos de OCTA, lo que dificulta la comparación de los parámetros cuantitativos entre los diferentes modelos de OCTA. Es por ello que existe consenso en la literatura acerca de que los parámetros cuantitativos medidos por la OCTA no son comparables entre los distintos equipos, y por lo tanto, solo son comparables aquellas medidas obtenidas utilizando el mismo modelo de OCTA y las mismas técnicas de medición (manual o automática en el caso del área de la ZAF y semi-automática o automática en el caso de la DV)(117,118,122,123).

Otra posible limitación de la OCTA sería la constante actualización y mejora de los softwares de procesamiento de las imágenes. Es posible que un futuro próximo dichas

mejoras hicieran incomparables las medidas obtenidas en distintos periodos de tiempo incluso por el mismo equipo de OCTA(10,52).

7.2.4.1. Área de la zona avascular foveal.

El área de la ZAF varía en función de edad, género, longitud axial y raza, siendo mayor en mujeres y en los ojos con menor longitud axial(11,123). Mientras que AngioVue y AngioPlex ofrecen el cálculo automático del área de la ZAF, Heidelberg Spectralis y Triton tan solo ofrecen una herramienta para el cálculo del área de la ZAF por medio del delineado manual de la misma(24,26,28,29). No obstante, a pesar de la variabilidad de los distintos métodos de medición del área de la ZAF, así como de la variabilidad de su medición manual, los estudios muestran que el área de la ZAF medida por los diferentes modelos de OCTA es similar(25,123).

Las diferencias entre las áreas de la ZAF del PCS y del PCP suelen ser poco significativas. Además, las áreas de la ZAF del PCS y del PCP dependen en gran medida de las estrategias de segmentación utilizadas, ya que las capas internas de la retina son más delgadas conforme se acercan a la región foveal. Es por ello que se aconseja realizar la medición del área de la ZAF del PCT, para conseguir medidas menos variables(90,121).

7.2.4.2. Densidad vascular.

La DV es la proporción de microvascularización existente en un área determinada y se obtiene por medio de la binarización de las imágenes en face de la OCTA. Por otra parte, la densidad de la longitud de los vasos (o “skeleton density”) es la DV que considera al vaso sanguíneo como una unidad de longitud, sin tener en cuenta su diámetro. Por ello, los grandes vasos y los pequeños capilares contribuyen por igual en esta medida de DV(11,12). El modelo de OCTA-SS Triton incorpora un software para el cálculo automático de la DV por binarización, mientras que Plex Elite 9000 calcula automáticamente la DV por binarización y la densidad de la longitud de los vasos por esqueletización(52,123).

A diferencia del área de la ZAF, la DV no es comparable entre los distintos equipos de OCTA, como revela la literatura(25,117,118,122,123,125). En primer lugar, existen una serie de factores en relación a los softwares incorporados en los distintos modelos de OCTA que afectan a la variabilidad de la DV (como los algoritmos de procesamiento de las imágenes, los métodos de segmentación, la calidad de las imágenes, la presencia de artefactos, e incluso el tamaño del cubo de OCTA)(117,118). En segundo lugar, existen una gran variedad de métodos para calcular la DV. Por un lado, el cálculo automático proporcionado por los distintos equipos de OCTA parece el mejor método para la cuantificación de la DV en la práctica clínica(126). No obstante, no hay estudios que comparen la cuantificación automática de la DV proporcionada por los diversos equipos.

Además, las investigaciones acerca de la reproducibilidad utilizando el cálculo automático son escasas. En el caso del equipo de OCTA-SS Triton, el estudio de Fernández-Vigo et al. analizó la reproducibilidad de la DV en el PCS, el PCP y la CC utilizando el cubo de 6 mm x 6 mm en 40 ojos de 40 pacientes sanos, demostrando una buena reproducibilidad para la DV medida en la región foveal y una moderada reproducibilidad en el caso de los cuadrantes parafoveales (superior, inferior, temporal y nasal)(120).

Otra forma de cuantificar la DV es por medio de softwares externos, como Image J, Fiji, MATLAB o AngioTool, entre otros(127–129). Con estos softwares se puede realizar la binarización de las imágenes de OCTA utilizando una gran variedad de métodos, con el objetivo de calcular la DV. Los métodos de binarización pueden ser globales (Otsu global y Media) o locales (Otsu local, Niblack, Phansalkar y Sauvola)(112,130). Los estudios que comparan entre los distintos modelos de OCTA y que analizan la reproducibilidad de la DV utilizando el método de cálculo semi-automático por medio del uso de softwares externos son más numerosos(25,46,125,128,130).

A pesar de que los estudios que han demostrado la reproducibilidad de la DV son mucho más numerosos en el caso del cálculo semi-automático respecto al cálculo automático, se sugiere que el cálculo automático presenta más ventajas para su aplicación en la práctica clínica. En primer lugar, el tiempo que hay que emplear en el cálculo semi-automático es mucho mayor, al tener que extraer las imágenes y procesarlas. En segundo lugar, a pesar de que se ha demostrado que hay métodos de binarización que son más reproducibles que otros(127,130), existen muchos estudios en la literatura acerca del análisis cuantitativo de las imágenes de OCTA (incluidos estudios que evalúan la reproducibilidad de las medidas de la OCTA) que no especifican el método de binarización empleado(40,86,97,105,107,125,131–134). En tercer lugar, los softwares de cálculo automático han sido desarrollados por los diseñadores de cada modelo de OCTA, los cuales son los mejores conocedores de las características técnicas del equipo, pudiendo por lo tanto desarrollar los mejores métodos de cálculo de la DV adaptados a su tecnología.

7.3. LÍNEAS DE FUTURO

La OCTA ha revolucionado el conocimiento que se tiene acerca de todas aquellas patologías que pueden afectar a la microvascularización retiniana y coroidea. Aunque su aplicación clínica todavía está limitada por la ausencia de bases de datos normativas, recientemente se han publicado dos bases de datos normativas con los modelos de OCTA-SS Triton y Plex Elite 9000 con un total de 346 y 375 pacientes, respectivamente(25,52,123). La primera se realizó con un cubo de 6 mm x 6 mm y en la segunda se utilizaron los cubos de 3 mm x 3 mm, 6 mm x 6 mm y 12 mm x 12 mm. Estas bases de datos han sido creadas gracias a investigaciones que han utilizado el cálculo

automático de la DV proporcionado por los softwares de los propios equipos de OCTA-SS(52,123), por lo que podrían emplearse en un futuro para detectar los cambios patológicos en la microvascularización retiniana y coroidea provocados por patologías oculares o sistémicas.

Actualmente, son necesarios más estudios que analicen la reproducibilidad de la DV calculada automáticamente en los distintos cubos de la OCTA-SS Triton (3 mm x 3 mm y 4,5 mm x 4,5 mm) y utilizando diferentes estrategias de segmentación (por ejemplo, utilizando diferentes métodos de segmentación para el PCS, el PCI y el PCP, midiendo la CC utilizando diferentes grosores, así como midiendo la coroides más profunda)(120). Además, son necesarias más investigaciones que realicen una comparación de los equipos de OCTA-SS en lo referente al cálculo automático de la DV(130), así como una comparación entre la tecnología SD y SS en el cálculo automático de la DV(25,46). Los resultados indican que la tecnología SS se impondrá a la tecnología SD en un futuro próximo, al igual que el cálculo automático de la DV, por lo que son fundamentales más estudios sobre su reproducibilidad para la incorporación en la práctica clínica de las bases de datos normativas.

Otro de los puntos pendientes de la OCTA es la posibilidad de capturar imágenes de un campo más amplio de la retina sin sacrificar la resolución de las mismas. Los continuos avances en esta tecnología, especialmente los relacionados con la tecnología SS y su mayor velocidad de adquisición de las imágenes, facilitarán la visualización de campos más amplios sin sacrificar la calidad de las imágenes(23). Recientemente, Munsell et al. han publicado una base de datos normativa de DV en el PCS, el PCP y el PCT utilizando un cubo de OCTA de 12 mm x 12 mm por medio del modelo de OCTA-SS Plex Elite 9000(123).

Por último, la OCTA ha demostrado su capacidad para detectar la RD o el glaucoma en sus estadios más incipientes(12,92,93), así como la DL y la HTA (según los resultados de las investigaciones incluidas en la presente tesis). Sin embargo, la OCTA presenta además una potencial aplicación para demostrar la progresión y evaluar la respuesta al tratamiento de las enfermedades que afectan a la retina(112), por lo que son necesarios más estudios prospectivos longitudinales que analicen la capacidad de la OCTA para detectar la progresión del daño microvascular en pacientes con factores de riesgo cardiovascular, como por ejemplo la DL, la HTA, el hábito tabáquico, o la historia previa de un infarto agudo de miocardio o de enfermedad cerebrovascular, entre otros.

8. CONCLUSIONES

1. La OCTA-SS demuestra cuantitativamente la ausencia de afectación vascular en los pacientes con PCR idiopáticos o hipermetrópicos. Es por ello que en un futuro podría emplearse para distinguir los PCR hipermetrópicos de los PCR secundarios.
2. La OCTA-SS no detecta disminución de la DV en los pacientes que se encuentran en tratamiento con HCQ y que no presentan ningún signo de toxicidad retiniana, por lo que no es útil como método de screening de la toxicidad retiniana por HCQ.
3. La OCTA-SS demuestra cambios en la DV central de la CC en sujetos con DL, por lo que podría emplearse en el diagnóstico de la aterosclerosis subclínica sistémica a través de la visualización de la microcirculación coroidea.
4. La OCTA-SS muestra cambios en la DV parafoveal del PCP, el PCT y la CC de los pacientes con HTA, por lo que podría utilizarse potencialmente para la prevención y el seguimiento de la afectación microvascular sistémica provocada por la HTA.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. NH, Atebara E Thall. Principles of lasers. In: Ophthalmology. 4th edition. China: Elsevier; 2014. p. 32–7.
2. Boyd S, Brancato R, Straatsma BR, editors. Optical coherence tomography: atlas and text. Clayton, Panama: Jaypee Highlights Medical; 2009. 154 p.
3. Dacosta S, Rajendran B, Janakiraman P. Spectral Domain Optical Coherence Tomography: A Practical Guide. 2/e. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.; 2011.
4. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, Fujimoto JG. Optical coherence tomography. Science. 1991 Nov 22;254(5035):1178-81.
5. Fujimoto J, Swanson E. The Development, Commercialization, and Impact of Optical Coherence Tomography. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 2016;57(9):OCT1.
6. Drexler W, Liu M, Kumar A, Kamali T, Unterhuber A, Leitgeb RA. Optical coherence tomography today: speed, contrast, and multimodality. Journal of Biomedical Optics. 2014;19(7):071412.
7. Romero-Aroca P, Baget-Bernaldiz M, Pareja-Rios A, Lopez-Galvez M, Navarro-Gil R, Verges R. Diabetic Macular Edema Pathophysiology: Vasogenic versus Inflammatory. Journal of Diabetes Research. 2016;2016:1–17.
8. American Academy of Ophthalmology. Basic and Clinical Science Course, Section 02: Fundamentals and Principles of Ophthalmology. San Francisco: American Academy of Ophtalmology; 2015.
9. Cuenca N, Ortuño-Lizarán I, Sánchez-Sáez X, Kutsyr O, Albertos-Arranz H, Fernández-Sánchez L, et al. Interpretation of OCT and OCTA images from a histological approach: Clinical and experimental implications. Progress in Retinal and Eye Research. 2020;77:100828.
10. Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, Sadda SR, Staurenghi G. Optical coherence tomography angiography. Progress in Retinal and Eye Research. 2018;64:1–55.
11. Sambhav K, Grover S, Chalam KV. The application of optical coherence tomography angiography in retinal diseases. Survey of Ophthalmology. 2017;62(6):838–66.

12. Sun Z, Yang D, Tang Z, Ng DS, Cheung CY. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: an updated review. *Eye*. 2021;35(1):149–61.
13. Choi W, Waheed NK, Moulton EM, Adhi M, Lee B, De Carlo T, Vijaysekhar J, Bauman CR, Duker JS, Fujimoto JG. Ultrahigh speed swept source optical coherence tomography angiography of retinal and choriocapillaris alterations in diabetic patients with and without retinopathy. *Retina*. 2017;37(1):11–21.
14. Zhu TP, Li EH, Li JY, Dai XZ, Zhang HN, Chen BB, Ye PP, Su ZA, Ye J. Comparison of projection-resolved optical coherence tomography angiography-based metrics for the early detection of retinal microvascular impairments in diabetes mellitus. *Retina*. 2020;40(9):1783–92.
15. Coffey AM, Hutton EK, Combe L, Bhindi P, Gertig D, Constable PA. Optical coherence tomography angiography in primary eye care. *Clinical and Experimental Optometry*. 2021;104(1):3–13.
16. On behalf of the Vision Academy Steering Committee, Rodríguez FJ, Staurenghi G, Gale R. The role of OCT-A in retinal disease management. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2018;256(11):2019–26.
17. Gao SS, Jia Y, Zhang M, Su JP, Liu G, Hwang TS, Bailey ST, Huang D. Optical Coherence Tomography Angiography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2016;57(9):OCT27.
18. Yazdanfar S, Rollins AM, Izatt JA. Imaging and velocimetry of the human retinal circulation with color Doppler optical coherence tomography. *Optics Letters*. 2000;25(19):1448.
19. Makita S, Hong Y, Yamanari M, Yatagai T, Yasuno Y. Optical coherence angiography. *Optics Express*. 2006;14(17):7821.
20. An L, Wang RK. In vivo volumetric imaging of vascular perfusion within human retina and choroids with optical micro-angiography. *Optics Express*. 2008;16(15):11438.
21. Motaghiannezam R, Fraser S. Logarithmic intensity and speckle-based motion contrast methods for human retinal vasculature visualization using swept source optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2012;3(3):503.

22. Jia Y, Tan O, Tokayer J, Potsaid B, Wang Y, Liu JJ, Kraus MF, Subhash H, Fujimoto JG, Hornegger J, Huang D. Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography. *Optics Express*. 2012;20(4):4710.
23. Laíns I, Wang JC, Cui Y, Katz R, Vingopoulos F, Staurengi G, Vavvas DG, Miller JW, Miller JB. Retinal applications of swept source optical coherence tomography (OCT) and optical coherence tomography angiography (OCTA). *Progress in Retinal and Eye Research*. 2021;84:100951.
24. Huang D, Jia Y, Gao SS, Lumbroso B, Rispoli M. Optical Coherence Tomography Angiography Using the Optovue Device. 2016;56:7.
25. L Lu Y, Wang JC, Cui Y, Zhu Y, Zeng R, Lu ES, Katz R, Husain D, Vavvas DG, Kim LA, Miller JW, Miller JB. A quantitative comparison of four optical coherence tomography angiography devices in healthy eyes. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2021;259(6):1493–501.
26. Rosenfeld PJ, Durbin MK, Roisman L, Zheng F, Miller A, Robbins G, Schaal KB, Gregori G. ZEISS Angioplex™ Spectral Domain Optical Coherence Tomography Angiography: Technical Aspects. *Dev Ophthalmol*. 2016;56:18-29.
27. Cicinelli MV, Cavalleri M, Consorte AC, Rabiolo A, Sacconi R, Bandello F, Querques G.. Swept-source and spectral domain optical coherence tomography angiography versus dye angiography in the measurement of type 1 neovascularization. *Retina*. 2020;40(3):499–506.
28. Coscas G, Lupidi M, Coscas F. Heidelberg Spectralis Optical Coherence Tomography Angiography: Technical Aspects. *Developments in Ophthalmology*. 2016;56:1-5.
29. Stanga PE, Tsamis E, Papayannis A, Stringa F, Cole T, Jalil A. Swept-Source Optical Coherence Tomography Angio™ (Topcon Corp, Japan): Technology Review. *Developments in Ophthalmology*. 2016;56:13-7.
30. Camino A, Zhang M, Gao SS, Hwang TS, Sharma U, Wilson DJ, Huang D, Jia Y. Evaluation of artifact reduction in optical coherence tomography angiography with real-time tracking and motion correction technology. *Biomedical Optics Express*. 2016;7(10):3905.
31. Chen FK, Viljoen RD, Bukowska DM. Classification of image artefacts in optical coherence tomography angiography of the choroid in macular diseases: OCT

- angiography in macular diseases. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2016;44(5):388–99.
32. Park JJ, Soetikno BT, Fawzi AA. Characterization of the middle capillary plexus using optical coherence tomography angiography in healthy and diabetic eyes. *Retina*. 2016;36(11):2039–50.
 33. Park YG, Kim M, Roh YJ. Evaluation of Foveal and Parafoveal Microvascular Changes Using Optical Coherence Tomography Angiography in Type 2 Diabetes Patients without Clinical Diabetic Retinopathy in South Korea. *Journal of Diabetes Research*. 2020;2020:1–7.
 34. Lee H, Lee M, Chung H, Kim HC. Quantification of retinal vessel tortuosity in diabetic retinopathy using optical coherence tomography angiography. *Retina*. 2018;38(5):976–85.
 35. Borrelli E, Palmieri M, Viggiano P, Ferro G, Mastropasqua R. Photoreceptor damage in diabetic choroidopathy. *Retina*. 2020;40(6):1062–9.
 36. Scharf J, Corradetti G, Corvi F, Sadda S, Sarraf D. Optical Coherence Tomography Angiography of the Choriocapillaris in Age-Related Macular Degeneration. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(4):751.
 37. Chu Z, Zhang Q, Gregori G, Rosenfeld PJ, Wang RK. Guidelines for Imaging the Choriocapillaris Using OCT Angiography. *American Journal of Ophthalmology*. 2021;222:92–101.
 38. Tavares Ferreira J, Vicente A, Proença R, Santos BO, Cunha JP, Alves M, Papoila AL, Abegão Pinto L. Choroidal thickness in diabetic patients without diabetic retinopathy. *Retina*. 2017;0(0):10.
 39. Conti FF, Qin VL, Rodrigues EB, Sharma S, Rachitskaya AV, Ehlers JP, Singh RP. Choriocapillaris and retinal vascular plexus density of diabetic eyes using split-spectrum amplitude decorrelation spectral-domain optical coherence tomography angiography. *British Journal of Ophthalmology*. 2019;103(4):452–6.
 40. Gendelman I, Alibhai AY, Moulton EM, Levine ES, Braun PX, Mehta N, Zhao Y, Ishibazawa A, Sorour OA, Bauman CR, Witkin AJ, Reichel E, Fujimoto JG, Duker JS, Waheed NK.. Topographic analysis of macular choriocapillaris flow deficits in diabetic

- retinopathy using swept-source optical coherence tomography angiography. *International Journal of Retina and Vitreous*. 2020;6(1):6.
41. Campos A, Campos EJ, Martins J, Ambrósio AF, Silva R. Viewing the choroid: where we stand, challenges and contradictions in diabetic retinopathy and diabetic macular oedema. *Acta Ophthalmologica*. 2017;95(5):446–59.
 42. Campos A, Campos EJ, do Carmo A, Patrício M, Castro de Sousa JP, Ambrósio AF, Silva R. Choroidal thickness changes stratified by outcome in real-world treatment of diabetic macular edema. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2018;256(10):1857–65.
 43. Cao D, Yang D, Huang Z, Zeng Y, Wang J, Hu Y, Zhang L. Optical coherence tomography angiography discerns preclinical diabetic retinopathy in eyes of patients with type 2 diabetes without clinical diabetic retinopathy. *Acta Diabetologica*. 2018;55(5):469–77.
 44. Forte R, Haulani H, Jürgens I. Quantitative and qualitative analysis of the three capillary plexuses and choriocapillaris in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus without clinical signs of diabetic retinopathy: a prospective pilot study. *Retina*. 2020;40(2):333–44.
 45. Lavia C, Mecê P, Nassisi M, Bonnin S, Marie-Louise J, Couturier A, Erginay A, Tadayoni R, Gaudric A. Retinal Capillary Plexus Pattern and Density from Fovea to Periphery Measured in Healthy Eyes with Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography. *Scientific Reports*. 2020;10(1):1474.
 46. Li XX, Wu W, Zhou H, Deng JJ, Zhao MY, Qian TW, Yan C, Xu X, Yu SQ. A quantitative comparison of five optical coherence tomography angiography systems in clinical performance. *International Journal of Ophthalmology*. 2018;11(11):1784-1795.
 47. Sen S, Ramasamy K, Sivaprasad S. Indicators of Visual Prognosis in Diabetic Macular Oedema. *Journal of Personalized Medicine*. 2021;11(6):449.
 48. Acón D, Wu L. Multimodal Imaging in Diabetic Macular Edema. *Asia-Pacific journal of ophthalmology (Philadelphia, Pa.)*. 2018;7(1):22-27.
 49. Akil H, Karst S, Heisler M, Etminan M, Navajas E, Maberley D. Application of optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: a comprehensive review. *Canadian Journal of Ophthalmology*. 2019;54(5):519–28.

50. Tey KY, Teo K, Tan ACS, Devarajan K, Tan B, Tan J, Schmetterer L, Ang M. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: a review of current applications. *Eye and Vision*. 2019;6(1):37.
51. Suciu CI, Suciu VI, Nicoara SD. Optical Coherence Tomography (Angiography) Biomarkers in the Assessment and Monitoring of Diabetic Macular Edema. *Journal of Diabetes Research*. 2020;2020:1–10.
52. Fernández-Vigo JI, Kudsieh B, Shi H, Arriola-Villalobos P, Donate-López J, García-Feijóo J, Ruiz-Moreno JM, Fernández-Vigo JÁ. Normative database and determinants of macular vessel density measured by optical coherence tomography angiography. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2020;48(1):44–52.
53. Stefanutti C, Mesce D, Pacella F, Di Giacomo S, Turchetti P, Forastiere M, Trovato Battagliola E, La Torre G, Smaldone G, Pacella E. Optical coherence tomography of retinal and choroidal layers in patients with familial hypercholesterolaemia treated with lipoprotein apheresis. *Atherosclerosis Supplements*. 2019;40:49–54.
54. Wintergerst MWM, Falahat P, Holz FG, Schaefer C, Finger RP, Schahab N. Retinal and choriocapillaris perfusion are associated with ankle-brachial-pressure-index and Fontaine stage in peripheral arterial disease. *Scientific Reports*. 2021;11(1):11458.
55. Monteiro-Henriques I, Rocha-Sousa A, Barbosa-Breda J. Optical coherence tomography angiography changes in cardiovascular systemic diseases and risk factors: A Review. *Acta Ophthalmologica*. 2022;100(1):e1-e15.
56. Del Turco C, Rabiolo A, Carnevali A, La Spina C, Bettin P, Querques G, Bandello F. Optical Coherence Tomography Angiography Features of Chorioretinal Folds: A Case Series. *European Journal of Ophthalmology*. 2017;27(2):e35–8.
57. Chen NN, Lai CH, Yueh-Ju T, Chen CY. Post-operative optical coherence tomography angiography features of chorioretinal folds resulting from pleomorphic adenoma of the lacrimal gland (PALG) of orbit- a case report. *BMC Ophthalmology*. 2020;20(1):486.
58. Grosso D, Borrelli E, Sacconi R, Bandello F, Querques G. Recognition, Diagnosis and Treatment of Chorioretinal Folds: Current Perspectives. *Clinical Ophthalmology*. 2020;14:3403–9.
59. Bagnis A, Cutolo CA, Corallo G, Musetti D, Nicolò M, Traverso CE. Chorioretinal folds: a proposed diagnostic algorithm. *International Ophthalmology*. 2019;39(11):2667–73.

60. Sato T, Kohmoto R, Fukumoto M, Morishita S, Kimura D, Tajiri K, Kobayashi T, Kida T, Kojima S, Ikeda T. A Case of Diabetic Macular Edema with Prominent Chorioretinal Folds. *Case Reports in Ophthalmology*. 2017;8(1):163–9.
61. Olsen TW, Palejwala NV, Lee LB, Bergstrom CS, Yeh S. Chorioretinal Folds: Associated Disorders and a Related Maculopathy. *American Journal of Ophthalmology*. 2014;157(5):1038-1047.e1.
62. Gündüz AK, Shields CL, Bekdemir Ş, Shields JA. Multimodal imaging of chorioretinal folds induced by orbital vascular malformation in two cases. *European Journal of Ophthalmology*. 2022;32(1):NP212–7.
63. Tick S, Rossant F, Ghorbel I, Gaudric A, Sahel JA, Chaumet-Riffaud P, Paques M. Foveal Shape and Structure in a Normal Population. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011;52(8):5105.
64. Zeng P, Wang J, Tian P, Peng YY, Liang JQ, Wang M, Zhou SY. Macular and peripapillary optical coherence tomography angiography metrics in thyroid-associated ophthalmopathy with chorioretinal folds. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2022;103146.
65. Bayraktar Z, Pehlivanoglu S, Bayraktar S, Albayrak S, Karakaya M. Inter-Ocular Symmetry of Vascular Density and Retinal Thickness in Unilateral Anisometropic Amblyopia. *Clinical Ophthalmology*. 2020;14:1261-1267.
66. Akhlaghi M, Kianersi F, Radmehr H, Dehghani A, Naderi Beni A, Noorshargh P. Evaluation of optical coherence tomography angiography parameters in patients treated with Hydroxychloroquine. *BMC Ophthalmology*. 2021;21(1):209.
67. Kan E, Yakar K, Demirag MD, Gok M. Macular ganglion cell–inner plexiform layer thickness for detection of early retinal toxicity of hydroxychloroquine. *International Ophthalmology*. 2018;38(4):1635–40.
68. Goker YS, Ucgul Atılgan C, Tekin K, Kızıltoprak H, Yetkin E, Yesil Karahan N, Koc M, Kosekahya P. The Validity of Optical Coherence Tomography Angiography as a Screening Test for the Early Detection of Retinal Changes in Patients with Hydroxychloroquine Therapy. *Current Eye Research*. 2019;44(3):311–5.

69. Ozek D, Onen M, Karaca EE, Omma A, Kemer OE, Coskun C. The optical coherence tomography angiography findings of rheumatoid arthritis patients taking hydroxychloroquine. *European Journal of Ophthalmology*. 2019;29(5):532–7.
70. Marshall E, Robertson M, Kam S, Penwarden A, Riga P, Davies N. Prevalence of hydroxychloroquine retinopathy using 2018 Royal College of Ophthalmologists diagnostic criteria. *Eye*. 2021;35(1):343–8.
71. Bulut M, Akıdan M, Gözkaya O, Erol MK, Cengiz A, Çay HF. Optical coherence tomography angiography for screening of hydroxychloroquine-induced retinal alterations. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2018;256(11):2075–81.
72. Ahn SJ, Ryu SJ, Lim HW, Lee BR. Toxic effects of hydroxychloroquine on the choroid: Evidence From Multimodal Imaging. *Retina*. 2019;39(5):1016–1026.
73. G Garrity ST, Jung JY, Zambrowski O, Pichi F, Su D, Arya M, Waheed NK, Duker JS, Chetrit Y, Miserocchi E, Giuffrè C, Kaden TR, Querques G, Souied EH, Freund KB, Sarraf D. Early hydroxychloroquine retinopathy: optical coherence tomography abnormalities preceding Humphrey visual field defects. *British Journal of Ophthalmology*. 2019;103(11):1600–4.
74. Royal College of Ophthalmologists Guideline Development Group. Hydroxychloroquine and Chloroquine Retinopathy: Recommendations on Screening [Internet]. 2020. Available from: <https://www.rcophth.ac.uk/standards-publications-research/clinical-guidelines/>
75. Forte R, Haulani H, Dyrda A, Jürgens I. Swept source optical coherence tomography angiography in patients treated with hydroxychloroquine: correlation with morphological and functional tests. *British Journal of Ophthalmology*. 2021;105(9):1297-1301.
76. Işık MU, Akmaz B, Akay F, Güven YZ, Solmaz D, Gercik Ö, Kabadayı G, Kurut İ, Akar S. Evaluation of subclinical retinopathy and angiopathy with OCT and OCTA in patients with systemic lupus erythematosus. *International Ophthalmology*. 2021;41(1):143–50.
77. Mihailovic N, Leclaire MD, Eter N, Brücher VC. Altered microvascular density in patients with systemic lupus erythematosus treated with hydroxychloroquine—an optical coherence tomography angiography study. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2020;258(10):2263–9.

78. Tarakcioglu HN, Ozkaya A, Yigit U. Is optical coherence tomography angiography a useful tool in the screening of hydroxychloroquine retinopathy? *International Ophthalmology*. 2021;41(1):27–33.
79. Cinar E, Yuce B, Aslan F. Evaluation of retinal and choroidal microvascular changes in patients who received hydroxychloroquine by optical coherence tomography angiography. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 2021;84(1):2-10.
80. Karti O, Ayhan Z, Zengin MO, Kaya M, Kusbeci T. Choroidal Thickness Changes in Rheumatoid Arthritis and the Effects of Short-term Hydroxychloroquine Treatment. *Ocular Immunology and Inflammation*. 2018;26(5):770–5.
81. Xiao W, Guo X, Ding X, He M. Serum lipid profiles and dyslipidaemia are associated with retinal microvascular changes in children and adolescents. *Scientific Reports*. 2017;7(1):44874.
82. Sun MT, Huang S, Chan W, Craig JE, Knight LSW, Sanders P, Newland H, Casson R, Selva D, Wong CX. Impact of cardiometabolic factors on retinal vasculature: A 3 × 3, 6 × 6 and 8 × 8-mm ocular coherence tomography angiography study. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2021;49(3):260–9.
83. Uslu H, Gurler B, Yildirim A, Tatar MG, Aylin Kantarcı F, Goker H, Pehlevan HS, Colak HN. Effect of Hydroxychloroquine on the Retinal Layers: A Quantitative Evaluation with Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Journal of Ophthalmology*. 2016;2016:1–8.
84. Chua J, Chin CWL, Tan B, Wong SH, Devarajan K, Le TT, Ang M, Wong TY, Schmetterer L. Impact of systemic vascular risk factors on the choriocapillaris using optical coherence tomography angiography in patients with systemic hypertension. *Scientific Reports*. 2019;9(1):5819.
85. Anjos R, Ferreira A, Barkoudah E, Claggett B, Abegão Pinto L, Miguel A. Application of Optical Coherence Tomography Angiography Macular Analysis for Systemic Hypertension. A Systematic Review and Meta-analysis. *American Journal of Hypertension*. 2022;35(4):356–64.
86. Xu Q, Sun H, Huang X, Qu Y. Retinal microvascular metrics in untreated essential hypertensives using optical coherence tomography angiography. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2021;259(2):395–403.

87. Tan W, Yao X, Le TT, Tan ACS, Cheung CY, Chin CWL, Schmetterer L, Chua J. The Application of Optical Coherence Tomography Angiography in Systemic Hypertension: A Meta-Analysis. *Frontiers in Medicine*. 2021;8:778330.
88. Donati S, Maresca AM, Cattaneo J, Grossi A, Mazzola M, Caprani SM, Premoli L, Docchio F, Rizzoni D, Guasti L, Azzolini C. Optical coherence tomography angiography and arterial hypertension: A role in identifying subclinical microvascular damage? *European Journal of Ophthalmology*. 2021;31(1):158–65.
89. Chua J, Chin CWL, Hong J, Chee ML, Le TT, Ting DSW, Wong TY, Schmetterer L. Impact of hypertension on retinal capillary microvasculature using optical coherence tomographic angiography. *Journal of Hypertension*. 2019;37(3):572–80.
90. Munk MR, Giannakaki-Zimmermann H, Berger L, Huf W, Ebner A, Wolf S, Zinkernagel MS. OCT-angiography: A qualitative and quantitative comparison of 4 OCT-A devices. Stieger K, editor. *PLoS ONE*. 2017;12(5):e0177059.
91. Fine HF, Cunningham ET, Kim E, Smith RT, Chang S. Autofluorescence Imaging Findings in Long-Standing Chorioretinal Folds. *Retinal Cases & Brief Reports*. 2009;3(2):137–9.
92. Van Melkebeke L, Barbosa-Breda J, Huygens M, Stalmans I. Optical Coherence Tomography Angiography in Glaucoma: A Review. *Ophthalmic Research*. 2018;60(3):139–51.
93. Akil H, Falavarjani K, Sadda S, Sadun A. Optical coherence tomography angiography of the optic disc; an overview. *Journal of Ophthalmic and Vision Research*. 2017;12(1):98.
94. Esser EL, Zimmermann JA, Storp JJ, Eter N, Mihailovic N. Retinal microvascular density analysis in patients with rheumatoid arthritis treated with hydroxychloroquine. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2022; 10.1007/s00417-022-05946-6.
95. Ferreira A, Anjos R, José-Vieira R, Afonso M, Abreu AC, Monteiro S, Macedo M, Andrade JP, Furtado MJ, Lume M. Application of optical coherence tomography angiography for microvascular changes in patients treated with hydroxychloroquine: a systematic review and meta-analysis. *Graefes' Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2023:1–13.

96. Chua J, Le TT, Tan B, Ke M, Li C, Wong DWK, Tan ACS, Lamoureux E, Wong TY, Chin CWL, Schmetterer L. Choriocapillaris microvasculature dysfunction in systemic hypertension. *Scientific Reports*. 2021;11(1):4603.
97. Chua J, Le TT, Sim YC, Chye HY, Tan B, Yao X, Wong D, Ang BWY, Toh DF, Lim H, Bryant JA, Wong TY, Chin CWL, Schmetterer L. Relationship of Quantitative Retinal Capillary Network and Myocardial Remodeling in Systemic Hypertension. *Journal of the American Heart Association*. 2022;11(6):e024226.
98. Wintergerst MWM, Falahat P, Holz FG, Schaefer C, Finger RP, Schahab N. Retinal and choriocapillaris perfusion are associated with ankle-brachial-pressure-index and Fontaine stage in peripheral arterial disease. *Scientific Reports*. 2021;11(1):11458.
99. Chalkias IN, Bakirtzis C, Pirounides D, Boziki MK, Grigoriadis N. Optical Coherence Tomography and Optical Coherence Tomography with Angiography in Multiple Sclerosis. *Healthcare*. 2022;10(8):1386.
100. Carnevali A, Sacconi R, Corbelli E, Tomasso L, Querques L, Zerbini G, Scordia V, Bandello F, Querques G. Optical coherence tomography angiography analysis of retinal vascular plexuses and choriocapillaris in patients with type 1 diabetes without diabetic retinopathy. *Acta Diabetologica*. 2017;54(7):695–702.
101. Zeng Y, Cao D, Yu H, Yang D, Zhuang X, Hu Y, Li J, Yang J, Wu Q, Liu B, Zhang L. Early retinal neurovascular impairment in patients with diabetes without clinically detectable retinopathy. *British Journal of Ophthalmology*. 2019;103(12):1747-1752.
102. Yang JY, Wang Q, Yan YN, Zhou WJ, Wang YX, Wu SL, Yuan MX, Wei WB, Jonas JB. Microvascular retinal changes in pre-clinical diabetic retinopathy as detected by optical coherence tomographic angiography. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2020;258(3):513–20.
103. Dimitrova G, Chihara E, Takahashi H, Amano H, Okazaki K. Quantitative Retinal Optical Coherence Tomography Angiography in Patients With Diabetes Without Diabetic Retinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2017;58(1):190-196.
104. Simonetti JM, Scarinci F, Picconi F, Giorno P, De Geronimo D, Di Renzo A, Varano M, Frontoni S, Parravano M. Early microvascular retinal changes in optical coherence tomography angiography in patients with type 1 diabetes mellitus. *Acta Ophthalmologica*. 2017;95(8):e751–5.

105. Laotaweerungsawat S, Psaras C, Liu X, Stewart JM. OCT Angiography Assessment of Retinal Microvascular Changes in Diabetic Eyes in an Urban Safety-Net Hospital. *Ophthalmology Retina*. 2020;4(4):425–32.
106. Sitia S, Tomasoni L, Atzeni F, Ambrosio G, Cordiano C, Catapano A, Tramontana S, Perticone F, Naccarato P, Camici P, Picano E, Cortigiani L, Bevilacqua M, Milazzo L, Cusi D, Barlassina C, Sarzi-Puttini P, Turiel M. From endothelial dysfunction to atherosclerosis. *Autoimmunity Reviews*. 2010;9(12):830–4.
107. Vadalà M, Castellucci M, Guarrasi G, Terrasi M, La Blasca T, Mulè G. Retinal and choroidal vasculature changes associated with chronic kidney disease. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2019;257(8):1687–98.
108. Terheyden JH, Wintergerst MWM, Pizarro C, Pfau M, Turski GN, Holz FG, Finger RP. Retinal and Choroidal Capillary Perfusion Are Reduced in Hypertensive Crisis Irrespective of Retinopathy. *Translational Vision Science and Technology*. 2020;9(8):42.
109. Sun C, Ladores C, Hong J, Nguyen DQ, Chua J, Ting D, Schmetterer L, Wong TY, Cheng CY, Tan ACS. Systemic hypertension associated retinal microvascular changes can be detected with optical coherence tomography angiography. *Scientific Reports*. 2020;10(1):9580.
110. Peng Q, Hu Y, Huang M, Wu Y, Zhong P, Dong X, Wu Q, Liu B, Li C, Xie J, Kuang Y, Yu D, Yu H, Yang X. Retinal Neurovascular Impairment in Patients with Essential Hypertension: An Optical Coherence Tomography Angiography Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2020;61(8):42.
111. Dziedziak J, Zaleska-Żmijewska A, Szaflik JP, Cudnoch-Jędrzejewska A. Impact of Arterial Hypertension on the Eye: A Review of the Pathogenesis, Diagnostic Methods, and Treatment of Hypertensive Retinopathy. *Medical Science Monitor*. 2022;28:e935135.
112. Tan B, Sim R, Chua J, Wong DWK, Yao X, Garhöfer G, Schmidl D, Werkmeister RM, Schmetterer L. Approaches to quantify optical coherence tomography angiography metrics. *Annals of Translational Medicine*. 2020;8(18):1205–1205.
113. Vira J, Marchese A, Singh RB, Agarwal A. Swept-source optical coherence tomography imaging of the retinochoroid and beyond. *Expert Review of Medical Devices*. 2020;17(5):413–26.

114. Ghasemi Falavarjani K, Al-Sheikh M, Akil H, Sadda SR. Image artefacts in swept-source optical coherence tomography angiography. *British Journal of Ophthalmology*. 2017;101(5):564–8.
115. Zhang J, Tang FY, Cheung CY, Chen H. Different Effect of Media Opacity on Vessel Density Measured by Different Optical Coherence Tomography Angiography Algorithms. *Translational Vision Science and Technology*. 2020;9(8):19.
116. Chen FK, Menghini M, Hansen A, Mackey DA, Constable IJ, Sampson DM. Intrasection Repeatability and Interocular Symmetry of Foveal Avascular Zone and Retinal Vessel Density in OCT Angiography. *Translational Vision Science and Technology*. 2018;7(1):6.
117. Kraker JA, Omoba BS, Cava JA, Gilat Schmidt T, Chui TY, Rosen RB, Kim JE, Carroll J, Linderman RE. Assessing the Influence of OCT-A Device and Scan Size on Retinal Vascular Metrics. *Translational Vision Science and Technology*. 2020;9(11):7.
118. Rabiolo A, Gelormini F, Marchese A, Cicinelli MV, Triolo G, Sacconi R, Querques L, Bandello F, Querques G. Macular Perfusion Parameters in Different Angiocube Sizes: Does The Size Matter in Quantitative Optical Coherence Tomography Angiography? *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2018;59(1):231.
119. Dong J, Jia YD, Wu Q, Zhang S, Jia Y, Huang D, Wang X. Interchangeability and reliability of macular perfusion parameter measurements using optical coherence tomography angiography. *British Journal of Ophthalmology*. 2017;101(11):1542–9.
120. Fernández-Vigo JI, Kudsieh B, Macarro-Merino A, Arriola-Villalobos P, Martínez-de-la-Casa JM, García-Feijóo J, Fernández-Vigo JÁ. Reproducibility of macular and optic nerve head vessel density measurements by swept-source optical coherence tomography angiography. *European Journal of Ophthalmology*. 2020;30(4):756–63.
121. Campbell JP, Zhang M, Hwang TS, Bailey ST, Wilson DJ, Jia Y, Huang D. Detailed Vascular Anatomy of the Human Retina by Projection-Resolved Optical Coherence Tomography Angiography. *Scientific Reports*. 2017;7(1):42201.
122. Falavarjani KG, Shenazandi H, Naseri D, Anvari P, Kazemi P, Aghamohammadi F, Alissmail F, Alemzadeh SA. Foveal avascular zone and vessel density in healthy subjects: An optical coherence tomography angiography study. *Journal of Ophthalmic and Vision Research*. 2018;13(3):260.

123. Munsell MK, Garg I, Duich M, Zeng R, Baldwin G, Wescott HE, Koch T, Wang KL, Patel NA, Miller JB. A normative database of wide-field swept-source optical coherence tomography angiography quantitative metrics in a large cohort of healthy adults. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2023; 10.1007/s00417-022-05963-5.
124. Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, Sadda SR, Staurengi G. Optical coherence tomography angiography. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2018;64:1–55.
125. Corvi F, Pellegrini M, Erba S, Cozzi M, Staurengi G, Giani A. Reproducibility of Vessel Density, Fractal Dimension, and Foveal Avascular Zone Using 7 Different Optical Coherence Tomography Angiography Devices. *American Journal of Ophthalmology*. 2018;186:25–31.
126. Munk MR, Kashani AH, Tadayoni R, Korobelnik JF, Wolf S, Pichi F, Tian M. Standardization of OCT Angiography Nomenclature in Retinal Vascular Diseases: First Survey Results. *Ophthalmology Retina*. 2021;5(10):981–90.
127. Terheyden JH, Wintergerst MWM, Falahat P, Berger M, Holz FG, Finger RP. Automated thresholding algorithms outperform manual thresholding in macular optical coherence tomography angiography image analysis. *PLoS ONE*. 2020;15(3):e0230260.
128. Fang D, Tang FY, Huang H, Cheung CY, Chen H. Repeatability, interocular correlation and agreement of quantitative swept-source optical coherence tomography angiography macular metrics in healthy subjects. *British Journal of Ophthalmology*. 2019;103(3):415–20.
129. Zudaire E, Gambardella L, Kurcz C, Vermeren S. A Computational Tool for Quantitative Analysis of Vascular Networks. *PLoS ONE*. 2011;6(11):e27385.
130. Shoji T, Yoshikawa Y, Kanno J, Ishii H, Ibuki H, Ozaki K, Kimura I, Shinoda K. Reproducibility of Macular Vessel Density Calculations Via Imaging With Two Different Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography Systems. *Translational Vision Science and Technology*. 2018;7(6):31.
131. Shahlaee A, Samara WA, Hsu J, Say EA, Khan MA, Sridhar J, Hong BK, Shields CL, Ho AC. In Vivo Assessment of Macular Vascular Density in Healthy Human Eyes Using Optical Coherence Tomography Angiography. *American Journal of Ophthalmology*. 2016;165:39–46.

132. Zeng R, Garg I, Bannai D, Kasetty M, Katz R, Park JY, Lizano P, Miller JB. Retinal microvasculature and vasoreactivity changes in hypertension using optical coherence tomography-angiography. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2022;260(11):3505-3515.
133. Vujosevic S, Toma C, Villani E, Gatti V, Brambilla M, Muraca A, Ponziani MC, Aimaretti G, Nuzzo A, Nucci P, De Cilla' S. Early Detection of Microvascular Changes in Patients with Diabetes Mellitus without and with Diabetic Retinopathy: Comparison between Different Swept-Source OCT-A Instruments. *Journal of Diabetes Research*. 2019;2019:1–12.
134. Um T, Seo EJ, Kim YJ, Yoon YH. Optical coherence tomography angiography findings of type 1 diabetic patients with diabetic retinopathy, in comparison with type 2 patients. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2020;258(2):281–8.