

ARTICOL DE CERCETARE

Diagnosticul retinopatiei diabetice, bazat pe analiza comparativă a depigmentării zonei maculare: studiu experimental

Natalia Kresyun^{†*}, Leonid Godlevsky^{†2}

[†]Departamentul de Oftalmologie, Universitatea Națională de Medicină din Odessa, Odessa, Ucraina;

²Departamentul de Biofizică, informatică și dispozitive medicale, Universitatea Națională de Medicină din Odessa, Odessa, Ucraina.

Manuscrisul a fost primit la data: 27.04.2017

Acceptat pentru publicare la data: 12.06.2017

Autor corespondent:

Natalia Kresyun, PhD, profesor
Departamentul de Oftalmologie
Universitatea Națională de Medicină din Odessa
2, Valekhovsky lane, Odessa, Ucraina, 65082
e-mail: godlevsky@odmu.edu.ua

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Nu a fost studiată, deocamdată, modificarea cantitativă a culorii maculei pe scara CIELAB a imaginii oftalmoscopice, în funcție de gradul ei de depigmentare, în retinopatia diabetică.

Ipoteza de cercetare

Cuantificarea gradului de depigmentare a maculei pe scara CIELAB a culorilor, comparativ cu coloristica vaselor arteriale, permite diagnosticul precoce al microanevrismelor și al retinopatiei diabetice.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

S-a constatat creșterea luminozității zonei maculare la pacienții diabetici, care ar putea fi predictivă pentru apariția microanevrismelor și utilă pentru diagnosticul precoce al retinopatiei diabetice.

Rezumat

Introducere. Retinopatia diabetică (RD) se manifestă prin deteriorări morfologice caracteristice ale fundului de ochi. Dimensiunea redusă a microanevrismelor (MA), asociată cu culoarea similară a țesutului învecinat, complică abordarea diagnosticului de RD prin evaluarea MA. Având în vedere că un proces inflamator sever stă la baza dezvoltării RD, este posibil ca radicalii liberi să provoace depigmentarea țesutului retinian. Prin urmare, evaluarea culorii din zona maculară, com-

RESEARCH ARTICLE

Diabetic retinopathy diagnostics via comparative analysis of macular zone depigmentation: experimental study

Nataliya Kresyun^{†*}, Leonid Godlevsky^{†2}

[†]Department of Ophthalmology, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine;

²Department of Biophysics, informatics and medical devices, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine.

Manuscript received on: 27.04.2017

Accepted for publication on: 12.06.2017

Corresponding author:

Nataliya Kresyun, PhD, professor
Department of Ophthalmology
Odessa National Medical University
2, Valekhovsky lane, Odessa, Ukraine, 65082
e-mail: godlevsky@odmu.edu.ua

What is not known yet about the topic

At the moment, it has not been studied the quantitative modification of the macula color on the CIELAB scale on ophthalmoscope image, depending on its degree of depigmentation in the diabetic retinopathy.

Research hypothesis

The quantification of the degree of macular depigmentation on the CIELAB scale of colors, compared to the arterial vessels color, allows the early diagnosis of micro aneurisms and diabetic retinopathy.

Article's added novelty on the scientific topic

It was established increased lightness in macular zone in patients with diabetes, which might be predictive for micro aneurisms appearance and might be used for early diabetic retinopathy diagnostics.

Abstract

Introduction. Diabetic retinopathy (DR) is manifested by characteristic morphological deteriorations in the eye bottom. The small size of micro aneurisms (MA) along with similar color of neighboring tissue complicates the approach for DR diagnostics based on MA verification. As far as severe inflammatory process underlay DR development, it is possible that free radicals are able to cause depigmentation of retinal tissue. Hence, evaluation of the color in macula zone with the conse-

parată, ulterior, cu celelalte zone ale fundului de ochi care nu conțin astfel de pigment, ar putea fi utilă pentru determinarea semnelor precoce ale precipitării RD. Au fost investigate caracteristicile culorii maculei și ale trunchiului arterial învecinat drept biomarkeri ai precipitării retinopatiei diabetice.

Material și metode. Caracteristicile culorii structurilor fundului de ochi au fost verificate pe scala CIELAB a imaginilor oftalmoscopice. A fost comparată diferența dintre valorile medii ale coordonatelor L^* , a^* și b^* ale scalei CIE la pacienții cu diabet zaharat și la voluntari sănătoși. A fost estimată valoarea predictivă a diferențelor obținute pentru dezvoltarea RD pe baza apariției MA pe parcursul unui an de observație a pacienților cu diabet.

Rezultate. Valoarea medie a parametrului L^* la pacienții cu diabet zaharat a fost de 2,71 ori ($p < 0,05$) mai mare decât la grupul de persoane practic sănătoase, în timp ce valoarea parametrului a^* a fost redusă de 3,8 ori, comparativ cu cea de control ($p < 0,05$); parametrul b^* a depășit de 12,4 ori valoarea de control ($p < 0,05$). Parametrul integrat al diferenței de culoare (ΔE) a depășit valoarea de control de 2,87 ori ($p < 0,05$). Diferențele mai pronunțate ale ΔE au fost urmate de perioade mai scurte până la apariția MA, cu un nivel de corelație de -0,56 ($p < 0,05$).

Concluzii. Datele obținute susțin ipoteza creșterii luminozității în zona maculară la pacienții cu diabet zaharat, care ar putea fi predictivă pentru apariția MA și utilă pentru diagnosticul precoce al RD.

Cuvinte cheie: retinopatie diabetică, analiza imaginilor oftalmoscopice, microanevrism.

Introducere

Retinopatia diabetică (RD) se manifestă prin deteriorări morfologice caracteristice ale fundului de ochi. Apariția microanevrismelor (MA) reprezintă primul indicator inițial și robust pentru retinopatia indusă de diabet [1, 2]. Dimensiunea redusă a MA, asociată cu culoarea similară a țesutului învecinat, complică abordarea diagnosticului de RD, bazat pe evaluarea MA [2]. Prin urmare, diagnosticarea precoce a RD reprezintă un subiect actual în domeniul oftalmologiei [1, 3].

Având în vedere că un proces inflamator sever stă la baza dezvoltării RD [4], este posibil ca radicalii liberi să poată determina depigmentarea țesutului retinian [5]. Prin urmare, evaluarea culorii din zona maculară, comparată, ulterior, cu celelalte zone ale fundului de ochi, care nu conțin un astfel de pigment, ar putea fi utilă pentru determinarea semnelor precoce ale precipitării RD.

Trebuie de subliniat faptul că noi am elaborat mai recent sistemul propus pentru analiza caracteristicilor colorației suprafețelor biologice, care a fost utilizat eficient cu scop de diagnostic precoce al cariei, la pacienții ortodontici [6, 7]. Într-un astfel de sistem, cel mai important este utilizarea unui standard de culoare, calibrat, care permite efectuarea unei comparații fiabile. De aceea, pentru a efectua o comparație eficientă în timpul investigației diagnostice a fundului de ochi, am decis să folosim trunchiul vaselor arteriale drept standard de culoare. Această decizie a fost justificată de stabilitatea

quent comparison with the other zones of eye bottom, which are free from such pigment, might be helpful for the verification of early signs of DR precipitation. Color characteristics of macula and neighboring arterial trunk as biomarkers of diabetic retinopathy precipitation were investigated.

Material and methods. Color characteristics of eye bottom structures were verified in CIELAB scale on ophthalmoscope images. The difference of average values of L^* , a^* and b^* coordinates of CIE scale in patients with diabetes and healthy volunteers was compared. Predictive value of gained differences for DR development on the basis of appearance of MA in one year observation of patients with diabetes was estimated.

Results. The average value of L^* in diabetic patients exceeded such one in the group of practically healthy persons by 2.71 times ($p < 0.05$), while value of a^* index was reduced by 3.8 times when compared with control one ($p < 0.05$); b^* index exceeded such one in the control group by 12.4 times ($p < 0.05$). The integrated index on color difference (ΔE) exceeded control value by 2.87 times ($p < 0.05$). More pronounced differences with ΔE were followed by shorter period of MA appearance with correlation level at -0.56 ($p < 0.05$).

Conclusions. Gained data are in favor for the increased lightness in macular zone in patients with diabetes, which might be predictive for MA appearance and might be used for early DR diagnostics.

Key words: diabetic retinopathy, ophthalmoscope images analysis, micro aneurism.

Introduction

Diabetic retinopathy (DR) is manifested by characteristic morphological deteriorations in the eye bottom. Among others the appearance of micro aneurisms (MA) occupies first place as initial and robust indicator for diabetes-induced retinopathy [1, 2]. The small size of MA along with similar color of neighboring tissue complicates the approach for DR diagnostics based on MA verification [2]. That is why the early diagnostics of DR is still actual for the ophthalmology [1, 3].

As far as severe inflammatory process underlay DR development [4] it is possible that free radicals are able to cause depigmentation of retinal tissue [5]. Hence, evaluation of the color in macula zone with the consequent comparison with the other zones of eye bottom, which are free from such pigment, might be helpful for the verification of early signs of DR precipitation.

It should be stressed that earlier we have worked out the system purposed for the analysis of color characteristics of biological surfaces, which was effectively used in orthodontic patients for the early caries diagnostics [6, 7]. The necessity of the usage of calibrated standard of color which permits to perform reliable comparison is most important for such system. That is why for performing effective comparison in the course of eye bottom diagnostic investigation we decided to use arterial vessel trunk as a color standard. Such a decision

mai înaltă a hemoglobinei față de acțiunea radicalilor liberi în țesutul retinian și de degradarea minimă, presupusă, a colorației hemoglobinei.

Prin urmare, scopul prezentei lucrări a fost evaluarea posibilității principale de diagnostic al stadiului incipient al RD, bazată pe compararea caracteristicilor culorii zonei maculare cu cea din trunchiurile vaselor arteriale.

Material și metode

Au fost înrolați 20 de voluntari practic sănătoși (vârsta medie $33,2 \pm 3,5$ ani) și 53 de pacienți cu diabet zaharat de tip 2 insulinodependent (vârsta medie $30,6 \pm 3,3$ ani).

Toți subiecții au dat consimțământul scris pentru înrolare. Toate investigațiile au fost efectuate în conformitate cu cerințele etice ale comitetului de etică de la Universitatea Națională de Medicină din Odessa (Întreținerea Animalelor și Comitetul de Etică al ONMedU, 2008/84).

La selectarea grupului de control, au fost respectate următoarele criterii:

- (1) presiunea intraoculară < 21 mmHg;
- (2) acuitatea vizuală păstrată;
- (3) câmpul vizual nedeteriorat;
- (4) absența bolilor oftalmice și a tulburărilor neurologice.

Pentru diabetici, au fost următoarele criterii:

- (1) presiunea intraoculară mai puțin de 21 mmHg;
- (2) acuitatea vizuală corectabilă (mai mult de $7/10$);
- (3) absența semnelor de retinopatie proliferativă, care a fost stabilită prin intermediul fluoroangiografiei [1];
- (4) durata diabetului nu mai puțin de 2,5 ani.

Imaginile digitale ale fundului de ochi se caracterizează prin contrast scăzut al structurilor și o iluminare heterogenă, centrul imaginii fiind cel mai luminos [1, 3]. Cu scopul de a diminua aberațiile menționate, am utilizat tehnologia de egalizare de histogramă adaptivă, limitată de contrast (CLAHE), care s-a dovedit a fi eficientă pentru contrastul crescut al vaselor de la fundul de ochi și a permis creșterea contrastului de 1,7-3,0 ori [3, 8].

Ulterior, toate caracteristicile obținute pe scala de culori RGB au fost transferate pe scala CIELAB, în conformitate cu algoritmul de lucru [6, 7]. Mai târziu, scala CIE a permis evaluarea coordonatelor indicilor de luminozitate L^* , a^* și b^* .

Rezultatele cercetărilor au fost prelucrate statistic, aplicând metoda ANOVA și testul Newman-Keuls.

Rezultate

În conformitate cu examinarea oftalmoscopică, la 18 pacienți nu au fost detectate MA, iar la ceilalți pacienți a fost demonstrată prezența lor.

Indicele de luminozitate L^* a crescut comparativ cu valoarea normală (diferența dintre colorația trunchiului vascular și a maculei) (Figura 1). Astfel, valoarea medie a L^* la pacienții cu diabet zaharat a fost de 2,71 ori mai mare ($p < 0,05$) decât în grupul de control (persoane practic sănătoase). În același timp, valoarea indicelui a^* a fost redusă de 3,8 ori, comparativ cu cea de control ($p < 0,05$); indicele b^* al scalei CIELAB a depășit indicele de control de 12,4 ori ($p < 0,05$). Indexul inte-

was justified by more stable state of hemoglobin to action of free radicals at retinal tissue and presumably minimal deterioration of hemoglobin color.

Hence, the aim of the present work was to evaluate the principal possibility of the diagnostics of early stage of DR on the basis of comparison of color characteristics of macular zone with such one of arterial vessels trunks.

Material and methods

Were enrolled 20 practically healthy volunteers (the mean age 33.2 ± 3.5 years old) and 53 insulin-dependent patients who suffered from second type of diabetes (the mean age 30.6 ± 3.3 years old).

All subjects provided written consent to research conduction. All investigations have been performed in accordance to ethics demands of commission on ethics at Odessa National Medical University (ONMedU Animal Care and Ethics Committee, 2008/84).

By selecting the control group, the following criteria were adhered to:

- (1) the intraocular pressure < 21 mmHg;
- (2) preserved acuity of vision;
- (3) unaltered visual field;
- (4) absence of eye diseases and neurological disorders.

For the diabetics, the criteria were as follows:

- (1) the intraocular pressure less than 21 mmHg;
- (2) correctable acuity of vision (more than $7/10$);
- (3) absence of signs of the proliferative retinopathy, which was established by means of fluoroangiography [1];
- (4) duration of diabetes was not less than 2.5 years.

Digital images of eye bottom are characterized by low contrast of structures and heterogeneous illumination being most bright in the center of image [1, 3]. With the aim of diminishing of mentioned aberrations we used the contrast-limited adaptive histogram equalization (CLAHE) technology, which proved to be effective for the increasing contrast of vessels of eye bottom and permitted to increase the contrast by 1.7-3.0 times [3, 8].

Hence, all characteristics which have been gained in RGB color scale were transferred into CIELAB scale in accordance to worked algorithm [6, 7]. Later on the CIE scale permitted to evaluate coordinates of lightness index L^* , a^* and b^* .

Research results were statistically processed applying the ANOVA method and the Newman-Keuls test.

Results

In accordance to ophthalmoscope examination, in 18 patients MA were not detected, while the rest of patients demonstrated their presence.

The lightness index L^* increased when compared with the normal value (the difference between vessel trunk and macula color) (Figure 1). Thus, average value of L^* in diabetic patients exceeded such one in the control group (practically healthy persons) by 2.71 times ($p < 0.05$). At the same time, value of a^* index was reduced by 3.8 times when compared with control one ($p < 0.05$); b^* index of CIELAB scale exceeded such one in

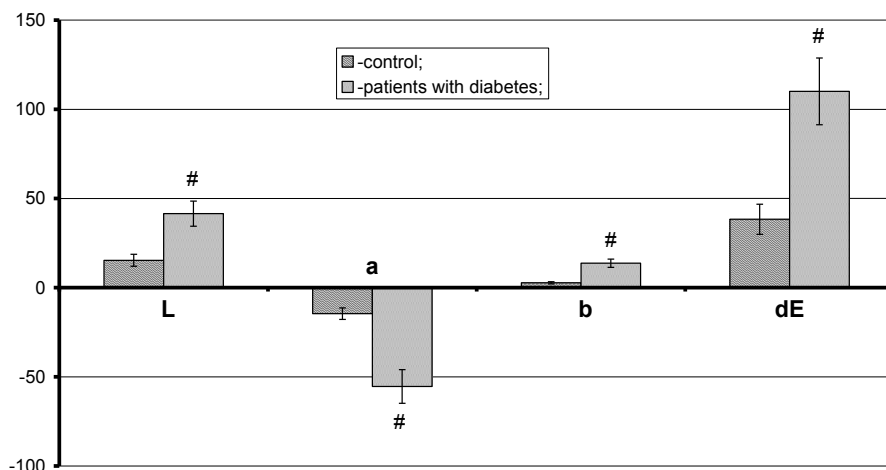


Fig. 1 Scala CIELAB la pacienții cu diabet zaharat.

Note: ordonata – diferența dintre maculă și trunchiul arterial (unități relative); abscisa – indicii scării CIELAB. Datele sunt prezentate drept medie și deviație standard. # – $p < 0,05$, comparativ cu datele din grupul de control. Statistică: testul ANOVA și Newman-Keuls.

Fig. 1 CIELAB scale data in patients suffered from diabetes.

Notes: ordinate – difference between macular and arterial trunk (relative units); abscissa – indices of CIELAB scale. Data are presented as mean and standard deviation. # – $p < 0.05$ in comparison with the data in control group. Statistics: ANOVA and Newman-Keuls test.

grat al diferenței de culoare (ΔE) a depășit valoarea de control de 2,87 ori ($p < 0,05$) (Figura 1).

Prin urmare, datele obținute sunt în favoarea ipotezei luminozității crescute în zona maculară la pacienții cu diabet zaharat și acest efect este datorat diminuării culorilor roșii și albastre, asociată cu creșterea culorilor verzi și galbene. În același timp, se observă creșterea diferenței integrale de culoare, comparativ cu datele de control.

Investigarea fundului de ochi la pacienții cu diabet zaharat la un an de la momentul înregistrării diferențelor de culoare, a evidențiat apariția MA la 11 pacienți (Figura 2). Coeficientul de corelație „r” dintre dinamica aspectului MA și valoarea ΔE

the control group by 12.4 times ($p < 0.05$). The integrated index on color difference (ΔE) exceeded control value by 2.87 times ($p < 0.05$) (Figure 1).

Hence, gained data are in favor for the increased lightness in macular zone in patients with diabetes, and such effect is developed on behalf of diminution of red and blue colors along with rising of green and yellow colors. The increasing of integral color difference in comparison with the control data is observed at the same time.

Investigation of eye bottom of patients with diabetes in one year from the moment of color differences investigations revealed the appearance of MA in 11 patients (Figure 2). Coef-

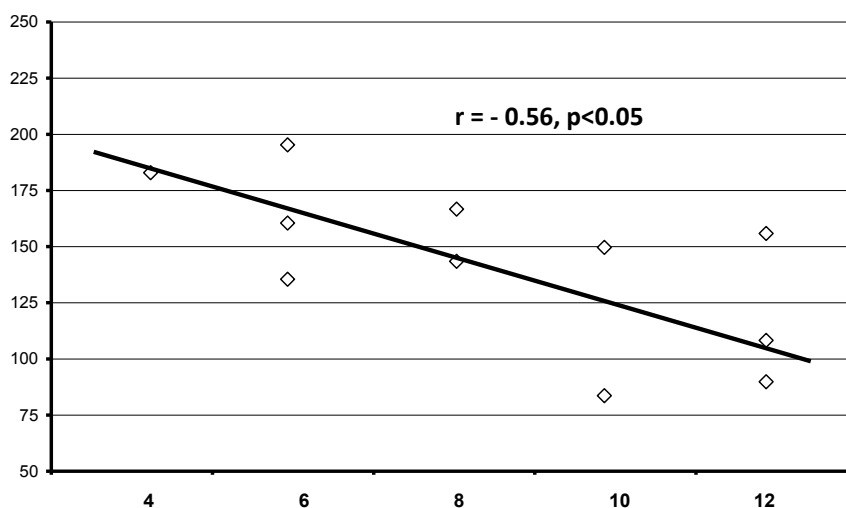


Fig. 2 Corelația dintre diferența integrală de culoare (ΔE) și timpul de apariție a MA la pacienții cu diabet zaharat tip 2.

Note: Ordonata – ΔE (unități relative), abscisa – timpul din momentul diagnosticării diferențelor de culoare (luni).

Marcaje: (romburi) – pacienți cu MA nou-apărut. Trendul de regresie este prezentat prin linia descendentă.

Fig. 2 Correlation between integral color difference (ΔE) and time of appearance of MA in patients with second type of diabetes.

Notes: ordinate – ΔE (relative units), abscissa – time from the moment of diagnostics of color differences (months).

Marks (rhombs) – patients with newly appeared MA. Regression trend is presented as declined line.

a fost $-0,56$ ($p < 0,05$). În mod corespunzător, diferențele mai pronunțate ale ΔE au fost urmate de o perioadă mai scurtă până la apariția MA.

Discuții

Astfel, datele obținute sunt în favoarea semnificației informative a diferenței culorii dintre zona maculară și vase (trunchiul arterial), drept indicator de diagnostic pentru RD. De asemenea, s-au obținut dovezi referitor la pierderea pigmentului în zona maculară, indusă de diabetul zaharat, care corespund cu datele altor autori [9, 10].

Astfel, datele noastre au arătat că reducerea indicelui a^* al scării CIELAB este în favoarea creșterii contribuției canalului verde, în timp ce contribuția canalului roșu a fost redusă. În același timp, se presupune că o contribuție sporită a canalului galben, cu scăderea reciprocă a contribuției canalului albastru, se datorează creșterii indicelui b^* [8, 11]. Având în vedere că modelul de absorbție al retinei colorate [3] pledează pentru o semnificație mai mare a culorii albastre drept marker al melaninei, reducerea înregistrată a contribuției culorii albastre a subliniat rolul neînsemnat al melaninei în determinarea colorației retinei la pacienții cu diabet. Între timp, scăderea stabilită a contribuției canalelor roșii susține scăderea rolului melaninei în determinarea colorației retinei. Modificările menționate sunt în corelație bună cu capacitatea radicalilor liberi de a șterge culoarea pigmentilor – efect care se manifestă prin modificări spectrale caracteristice [5].

Trebuie de subliniat faptul că apariția MA, ca semne primare și robuste ale RD [1-3], ar putea fi rezultatul unei dezvoltări mai profunde a procesului patologic, cu degenerarea pericitelor din cauza acțiunii citotoxice a radicalilor liberi. Modificările de culoare constatate au fost observate mai devreme decât apariția MA și merită atenție pentru o cercetare suplimentară în calitate de primă manifestare sugestivă de RD.

Concluzii

- 1) Diagnosticul eficient al pierderii pigmentului în zona maculară este posibil pe baza comparației caracteristicilor culorii zonei maculare și a trunchiurilor arteriale vecine pe scala CIELAB.
- 2) Pacienții care suferă de RD prezintă creșterea luminozității zonei maculare în banda galben-verde și scăderea acesteia în cea roșie.
- 3) Deteriorările constatate ale colorației structurilor fundului de ochi au prezis apariția MA, fiind cei mai fiabili markeri pentru dezvoltarea RD (coeficientul de corelație $r = -0,56$).

Declarația de conflict de interes

Nimic de declarat.

Contribuția autorilor

Ambii autori au contribuit în mod egal la elaborarea și scrierea articolului. Versiunea finală a articolului a fost aprobată de ambii autori.

coeficient of correlation “ r ” between dynamics of MA appearance and value of ΔE was -0.56 ($p < 0.05$). Correspondently, more pronounced differences with ΔE were followed by shorter period of MA appearance.

Discussion

Thus, gained data are in favor for the informative significance of the color difference between macular zone and vessels (arterial trunk) as a diagnostic index for DR. Also gained data points on the diabetes-induced losing of pigment in macular zone, which is in correspondence with other authors data [9, 10].

Thus, our data revealed that reduction of a^* index of CIELAB scale is in favor for the increasing of green channel contribution while the contribution of red channel was reduced. At the same time the increased contribution from yellow channel with reciprocal decrease of contribution from blue channel is supposed as a result of increase of b^* index [8, 11]. Taking into consideration that absorption model of colored retina [3] is in favor for greater significance of blue color as a melanin marker, the registered reduction of blue color contribution stressed the reduced role of melanin in retina color determination in patients with diabetes. Meanwhile, established decrease of red channel contribution supports the decreased role of melanin in retina color determination. Mentioned changes are in good correlation with the ability of pigments to be washed out from their color by free radicals – effect which is manifested in characteristic spectral changes [5].

It should be stressed that appearance of MA, as first and robust signs of DR [1-3], might be the result of more deep development of pathological process with degeneration of pericytes due to free radicals cytotoxic action. Observed changes of color are observed earlier than MA appearance, and deserves attention for further estimation as first indicative manifestation of DR.

Conclusions

- 1) The effective diagnostics on the losing of pigment in macular zone is possible to perform on the basis of comparison of color characteristics in CIELAB scale of macular zone and neighboring arterial trunks.
- 2) Patients suffered from DR displays the raise of the lightness in the macular zone in green-yellow bandwidth along with the decreasing it in the red one.
- 3) Established deteriorations of color of eye bottom structures predicted the appearance of MA as most reliable markers for DR development (correlation coefficient $r = -0.56$).

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

Authors' contribution

Both authors had an equal contribution for manuscript writing and reviewing. The final version of the article was approved by both authors.

Referințe / references

1. Kresyun N., Tatarchuk T., Godlevsky L. *et al.* Multiscale textural gradient method of eye bottom images analysis in automatic diagnostics of diabetic retinopathy. *Ophthalmological J.*, 2014; 4: 9-13.
2. Chin E., Ventura B., See K. Nonmydriatic fundus photography for teleophthalmology diabetic retinopathy screening in rural and urban clinics. *Telemed. J. e-Health*, 2014; 1: 102-108.
3. Hani A., Nugroho H. Retinal vasculature enhancement using independent component analysis. *J. Biomed. Sci. Engineer.*, 2009; 2: 543-549.
4. Yu Y., Chen H., Su S. Neuroinflammatory responses in diabetic retinopathy. *J. of Neuroinflammation*, 2015; 12: 141-147.
5. Kresyun N. Patophysiological mechanisms of diabetic retinopathy development and main approaches to its therapy. *Integrative Antropology*, 2013; 1 (21): 43-48.
6. Godlevsky L., Bidnyuk E., Bayazitov N. *et al.* Application of mobile photography with smartphone cameras for monitoring of orthodontic correction with dental BRACKETS. *China Journal of Modern Medicine*, 2014; 15: 10-14.
7. Godlevsky L., Bidnyuk E., Bayazitov N. *et al.* Application of mobile photography with smartphone cameras for monitoring of early caries appearance in the course of orthodontic correction with dental brackets. *Applied Medical Informatics (Romania)*, 2013; 33 (4): 21-26.
8. Fadzil M., Izhar L., Venkatachalam P. *et al.* Extraction and reconstruction of retinal vasculature. *J. Medical Engineer. Technol.*, 2007; 31: 435-442.
9. Scanolon G., Connell P., Ratzlaff M. *et al.* Macular pigment optical density is low in type 2 diabetes, compared with type 1 diabetes and normal controls. *Retina*, 2015; 35 (9): 1808-1816.
10. Lima V., Rosen R., Maia M. *et al.* Macular pigment optical density measured by dual-wavelength autofluorescence imaging in diabetic and nondiabetic patients: a comparative study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2010; 51 (11): 5840-5845.
11. Berendschot T., DeLint P., Norren D. Fundus reflectance-historical and present ideas. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2003; 22: 171-200.