



Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii
i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Barbara Piekłarz

**Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem
wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową**

Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu
dyscyplina: nauki medyczne

Promotor

Dr hab. n. med. Diana Anna Dmuchowska

Klinika Okulistyki

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Białystok 2024

Spis treści

1	Życiorys	3
2	Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską	4
3	Zestawienie dorobku naukowego doktoranta	4
3.1	Wykaz publikacji doktoranta	4
3.2	Doniesienia zjazdowe	5
4	Wstęp	7
4.1	Twardzina układowa	7
4.2	Naczyniówka oraz naczyniówkowy wskaźnik naczyniowy	8
5	Omówienie prac składających się na rozprawę doktorską	10
5.1	Cel badań	10
5.2	Materiał i metodologia.....	10
5.2.1	Projekt badań	10
5.2.2	Grupa badana i porównawcza.....	11
5.2.3	Metodologia – uwagi ogólne	11
5.2.4	Protokół badania przy pomocy OCT	12
5.2.5	Protokół binaryzacji obrazów OCT	13
5.3	Wyniki	14
5.3.1	Charakterystyka grup: badanej i porównawczej.....	14
5.3.2	Ocena parametrów naczyniówki	15
5.3.3	Analiza związku parametrów naczyniówki z parametrami klinicznymi.....	16
5.4	Wnioski	17
6	Publikacje składające się na rozprawę doktorską	18
6.1	Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis.....	18
6.1.1	Materiały uzupełniające.....	31
6.2	Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis.....	38

6.2.1	Materiały uzupełniające.....	50
7	Streszczenie	57
8	Summary	60
9	Piśmiennictwo	62
10	Oświadczenia współautorów	66
10.1	Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacji I wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu (praca oryginalna)	66
10.2	Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacji II wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu (praca oryginalna)	76
11	Uchwała Komisji Bioetycznej.....	85

1 Życiorys

DANE PERSONALNE

Imię i nazwisko: Barbara Piekларz

Data urodzenia: 27 kwietnia 1990 roku

Miejsce urodzenia: Hajnówka

e-mail: barbara.piekларz@gmail.com

Telefon: 792 436 438

Miejsce pracy: Klinika Okulistyki

Uniwersytecki Szpital Kliniczny (USK)

ul. M. Skłodowskiej-Curie 24a, 15-276 Białystok

Tel. (85) 831 8372

NPWZL: 3128172

WYKSZTAŁCENIE

◆ 2009-2015 – Uniwersytet Medyczny w Białymstoku (UMB)

Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii

i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim

◆ 2017-2024 – szkolenie specjalizacyjne z okulistyki, USK w Białymstoku

DOŚWIADCZENIE ZAWODOWE I ZATRUDNIENIE

- 2021-2023 – członek zespołu badawczego projektu naukowego, finansowanego z subwencji UMB, pt. „Kompleksowa ocena okulistyczna, anatomiczna oraz funkcjonalna pacjentów z twardziną układową”. SUB/1/DN/22/001/1157
- 2020-2022 – członek zespołu badawczego projektu naukowego pt. „Ocena naczyń i siatkówki u pacjentów z cukrzycą”, UMB
- 2017-2024 – lekarz rezydent, Klinika Okulistyki, USK w Białymstoku
- 2015-2016 – staż podyplomowy, Wojewódzki Szpital Zespolony im. J. Śniadeckiego w Białymstoku
- Członek Polskiego Towarzystwa Okulistycznego, Oddział w Białymstoku

2 Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską

1. **Pieklarz B**, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4. Epub ahead of print. PMID: 38133798. IF 2.900; MEiN 100 (praca oryginalna).
2. **Pieklarz B**, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorczuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438. PMID: 37915331; PMCID: PMC10617027. IF 3.900; MEiN 100 (praca oryginalna).

3 Zestawienie dorobku naukowego doktoranta

3.1 Wykaz publikacji doktoranta

1. **Pieklarz B**, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4. Epub ahead of print. PMID: 38133798. IF 2.900; MEiN 100.
2. **Pieklarz B**, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorczuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438. PMID: 37915331; PMCID: PMC10617027. IF 3.900; MEiN 100.
3. **Pieklarz B**, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Konopińska J, Kowal-Bielecka O, Dmuchowska DA. Purtscher-like Retinopathy in a Patient with Systemic Sclerosis: A Case Report and Narrative Review. *Biomedicines*. 2023 Mar 10;11(3):839. doi: 10.3390/biomedicines11030839. PMID: 36979818; PMCID: PMC10044861. IF 4.700; MEiN 100.
4. Dmuchowska DA, **Pieklarz B**, Konopinska J, Mariak Z, Obuchowska I. Impact of Three Waves of the COVID-19 Pandemic on the Rate of Elective Cataract Surgeries at a Tertiary Referral Center: A Polish Perspective. *Int J Environ Res Public Health*. 2021

- Aug 14;18(16):8608. doi: 10.3390/ijerph18168608. PMID: 34444356; PMCID: PMC8393808. DAD, BP equal contribution. IF 4.614; MEiN 140.
5. Dmuchowska DA, Sidorczuk P, **Pieklarz B**, Konopińska J, Mariak Z, Obuchowska I. Quantitative Assessment of Choroidal Parameters in Patients with Various Types of Diabetic Macular Oedema: A Single-Centre Cross-Sectional Analysis. *Biology (Basel)*. 2021 Jul 29;10(8):725. doi: 10.3390/biology10080725. PMID: 34439957; PMCID: PMC8389323. IF 5.168; MEiN 100.
 6. Sidorczuk P, **Pieklarz B**, Konopinska J, Saeed E, Mariak Z, Dmuchowska D. Foveal Avascular Zone Does Not Correspond to Choroidal Characteristics in Patients with Diabetic Retinopathy: A Single-Center Cross-Sectional Analysis. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2021 Jun 28;14:2893-2903. doi: 10.2147/DMSO.S318860. PMID: 34234487; PMCID: PMC8254029. IF 3.249; MEiN 100.
 7. **Pieklarz B**, Grochowski ET, Saeed E, Sidorczuk P, Mariak Z, Dmuchowska DA. Iridoschisis-A Systematic Review. *J Clin Med*. 2020 Oct 16;9(10):3324. doi: 10.3390/jcm9103324. PMID: 33081187; PMCID: PMC7602847. IF 4.242; MEiN 140.
 8. **Pieklarz B**, Grochowski ET, Dmuchowska DA, Saeed E, Sidorczuk P, Mariak Z. Iris-Claw Lens Implantation in a Patient with Iridoschisis. *Am J Case Rep*. 2020 Aug 28;21:e925234. doi: 10.12659/AJCR.925234. PMID: 32857754; PMCID: PMC7483544. MEiN 70.
 9. **Pieklarz B**, Dmuchowska DA, Mariak Z. Błyski w doku – co dalej?. *Stany Nagłe po Dyplomie*. 2018;3:45-49. MEiN 1.

3.2 Doniesienia zjazdowe

1. Dmuchowska DA, **Pieklarz B**, Gińdzieńska-Sieśkiewicz E, Kowal-Bielecka O, Konopińska J: Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis. 23rd Euretina Congress. Amsterdam, Netherlands, 5.10.-8.10.2023.
2. Dmuchowska DA, **Pieklarz B**, Konopińska J, Mariak Z: „Do trzech razy sztuka” – leczenie aqueous misdirection syndrome za pomocą hialoidozonuloirydektomii. I Ogólnopolski Zjazd Stowarzyszenia Chirurgów Okulistów Polskich. Online. 24.09.-25.09.2021.
3. Stec W, **Pieklarz B**: Assessment of the efficacy and safety of F4H5 in patients after the removal of silicone oil from the vitreous chamber. 15th Białystok International Medical Congress for Young Scientists, Białystok, 21.05.-22.05.2021.

4. **Pieklarz B**, Dmuchowska DA, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Kowal-Bielecka O, Bagrowska M, Daniluk J, Konopińska J: Retinopatia Purtschero-podobna u pacjenta z twardziną układową – opis przypadku. Konferencja Naukowo-Szkoleniowa, XII Śląski Meeting Siatkówkowy, Katowice, 25.11.-26.11.2021.
5. Kraśnicki P, Dmuchowska DA, **Pieklarz B**, Mariak Z: Ocena skuteczności oraz bezpieczeństwa stosowania F4H5 u pacjentów po usunięciu oleju silikonowego z komory ciała szklistego. V Ogólnopolska Konferencja Naukowo-Szkoleniowa, „Terapie łączone Pomorskie Dni Retinologiczne”, Gdynia, 31.08.-1.09.2018.

Rodzaj publikacji	Liczba pozycji	Impact Factor	Punktacja MEiN
Publikacje włączone do rozprawy doktorskiej	2	6.800	200.000
Publikacje niewłączone do rozprawy doktorskiej	7	21.773	651.000
Doniesienia zjazdowe	5	-	-
Razem	14	28.573	851.000

Łączna liczba prac	Liczba prac z IF	Liczba prac z punktacją	Łączna wartość IF	Łączna wartość punktacji
Ogółem	7	9	28.573	851.000
Kazuistyka	1	2	4.700	170.000
Praca oryginalna	5	5	19.631	540.000
Praca przeglądowa	1	2	4.242	141.000

4 Wstęp

4.1 Twardzina układowa

Twardzina układowa SSc (*systemic sclerosis*) – to rzadko występująca choroba autoimmunologiczna, charakteryzująca się uszkodzeniem tętniczek i naczyń mikrokrążenia oraz przewlekłym i postępującym włóknieniem tkanek i narządów wewnętrznych. Zmiany narządowe dotyczą głównie płuc, serca oraz układu pokarmowego. Spośród innych chorób reumatologicznych wyróżnia ją wysoka śmiertelność, a diagnostyka, określenie ciężkości i aktywności choroby oraz leczenie powikłań narządowych w dalszym ciągu stanowią wyzwania dla klinicystów. (1, 2)

Diagnoza twardziny układowej w głównej mierze opiera się na aktualnie obowiązujących kryteriach ACR/EULAR z 2013 roku (*American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism*). (3) Wyróżnia się dwie główne postaci choroby: ograniczoną lSSc (*limited systemic sclerosis*) oraz uogólnioną dSSc (*diffuse systemic sclerosis*), które różnią się rozległością zajęcia skóry oraz rodzajem i szybkością wystąpienia powikłań narządowych. Postać uogólniona ma z reguły cięższy przebieg, zmiany skórne obejmują twarz oraz proksymalne części kończyn. Niemal jednocześnie pojawiają się zmiany narządowe, z których najczęściej rozwija się choroba śródmiąższowa płuc. Natomiast w postaci ograniczonej stwardnienie skóry kończyn lokalizuje się dystalnie od łokci i kolan, z zajęciem lub zaoszczędzeniem twarzy. Częściej dochodzi do zajęcia przewodu pokarmowego oraz rozwoju nadciśnienia płucnego. (1)

Zmiany patologiczne w przebiegu twardziny układowej mogą dotyczyć także narządu wzroku, obejmując przydatki oraz przedni i tylny odcinek oka. U tych pacjentów częściej stwierdza się zespół suchego oka, nieprawidłowości powiek w postaci włóknienia oraz teleangiektazji, jaskrę, zwłaszcza jaskrę normalnego ciśnienia. W piśmiennictwie opisano także nieprawidłowości dotyczące spojówki, twardówki, tęczówki, a także zaburzenia naczyń krwionośnych w obrębie krążenia siatkówkowego i naczyńówkowego. (4-7)

W patogenezie choroby inicjującym procesem jest uszkodzenie mikrokrążenia z dysfunkcją komórek śródbłonna. Ich nieprawidłowa funkcja skutkuje zwiększoną produkcją czynników zwężających naczynia krwionośne, z jednoczesnym niedostatecznym wytwarzaniem czynników rozszerzających. Uszkodzenie bariery komórek śródbłonna, odpowiedź autoimmunologiczna, procesy zapalne, zmiany

epigenetyczne oraz defekty angiogenezy prowadzą do zmian niedokrwiennych oraz postępującego włóknienia skóry i narządów wewnętrznych. Prowadzi to do ich nieodwracalnego uszkodzenia. (2, 8)

Mikroangiopatię, charakterystyczną dla twardziny układowej, można uwidocznic dzięki badaniu kapilaroskopowemu wału paznokciowego. Wg Cutolo ocena morfologii kapilar pozwala na klasyfikację chorych do 3 grup: wczesna, aktywna oraz późna postać choroby. (9)

4.2 Naczyniówka oraz naczyniówkowy wskaźnik naczyniowy

Naczyniówka to część błony naczyniowej gałki ocznej. Składa się z gęstej sieci naczyń krwionośnych oraz zrębu, zbudowanego z tkanki łącznej. Jej integralność strukturalna i funkcjonalna ma kluczowe znaczenie w procesie widzenia, odżywia bowiem zewnętrzne warstwy siatkówki, zawierające fotoreceptory oraz nabłonek barwnikowy. Przepływ krwi w naczyniówce ma charakter segmentowy. Łożysko choriokapilar z obecnością fenestracji w komórkach śródbłonna zbudowane jest z niezależnych zrazików, których kształt i wielkość różnią się w zależności od lokalizacji, natomiast ich gęstość maleje na obwodzie. Z kolei warstwy Hallera i Sattlera składają się odpowiednio z dużych oraz średnich i małych naczyń krwionośnych. Złożona budowa naczyniówki oraz obecność tzw. obszarów ostatniej łąki (*watershed zones*) sprawiają, że jest ona szczególnie podatna na niedokrwienie i procesy zapalne. (10, 11)

Toteż zaburzenia mikrokrążenia, obserwowane u pacjentów z twardziną układową, mogą dotyczyć również naczyniówki oka. Wskazują na to nieliczne – jak dotąd – dane z piśmiennictwa, sprowadzające się jednak głównie do oceny grubości naczyniówki. (12-19)

Optyczna koherentna tomografia OCT (*optical coherence tomography*) umożliwia obrazowanie siatkówki i naczyniówki w sposób precyzyjny, szybki, nieinwazyjny oraz powtarzalny. Wraz z rozwojem tej technologii oraz wprowadzeniem skanowania metodą EDI-OCT (*enhanced depth imaging-OCT*), umożliwiającego bardziej szczegółowe obrazowanie naczyniówki, znacząco wzrosło zainteresowanie morfologią naczyniówki w przebiegu różnych chorób, w tym także chorób autoimmunologicznych. (20, 21)

Początkowo najszerzej wykorzystywanym do oceny parametrem była grubość naczyniówki. (12, 20, 22-25) Natomiast w 2016 roku zaproponowano nowy, ilościowy

wskaźnik, precyzujący komponentę naczyniową tej błony – naczyniówkowy wskaźnik naczyniowy CVI (*choroidal vascularity index*). (26, 27)

Ilościowy pomiar komponenty naczyniowej naczyniówki pozwala na pogłębienie wiedzy na temat patomechanizmu zmian, zachodzących w naczyniówce w przebiegu wielu schorzeń. Dane z piśmiennictwa wskazują, że CVI jest parametrem bardziej stabilnym i mniej zależnym od czynników fizjologicznych, niż grubość naczyniówki. (28) Uważa się, że CVI może mieć zastosowanie w rozpoznawaniu chorób na ich wczesnym etapie, monitorowaniu progresji i leczenia chorób siatkówki, naczyniówki, jak również chorób ogólnoustrojowych. (11, 28) Jego dotychczasowe zastosowanie ogranicza się jednak tylko do badań naukowych, choć podejmowane są próby opracowania oprogramowania do OCT, służącego zautomatyzowaniu pomiaru CVI w celu standaryzacji wyników. (29)

W ostatnich latach poszukuje się wskaźników biologicznych, które w szybki, nieinwazyjny sposób pozwalałyby na identyfikację chorób, ocenę ich aktywności, prognozowanie oraz poszerzałyby wiedzę na temat patogenez. Podkreśla się także potencjalną rolę biomarkerów w spersonalizowanym, celowanym leczeniu. Badania nad biomarkerami – to intensywnie rozwijająca się dziedzina, także w obszarze chorób autoimmunologicznych. (30) Jako wskaźniki proponowano właśnie parametry naczyniówki, oceniane m.in. w badaniu OCT. (20, 31) Jak dotąd, brak jest danych, uzasadniających ich praktyczne wykorzystanie w twardzinie układowej. Postanowiliśmy tę lukę wypełnić.

Analizie poddano dwa istotne obszary w obrębie naczyniówki: plamkowy oraz okołotarczowy. Pierwsza praca (2.1.) dotyczy oceny parametrów naczyniówki w plamce. Grubość naczyniówki została oznaczona na obszarze o średnicy 6 mm, w 9 polach ETDRS (*Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*), co wyróżnia to badanie spośród innych, dostępnych w literaturze, w których ocenie podlegały jedynie pojedyncze punkty w różnych odległościach od dołka. Obok grubości naczyniówki, badanie uzupełniono o jej objętość, co pozwoliło uwzględnić nieregularności granicy naczyniówkowo-twardówkowej. Natomiast ocena parametrów naczyniówki w obszarze okołotarczowym jest tematem drugiej pracy (2.2.), włączonej do rozprawy.

W ostatnim czasie na łamach literatury podkreśla się powiązanie zmniejszonej grubości naczyniówki okołotarczowej z częstszym występowaniem neuropatii jaskrowej (32), a częstsze występowanie jaskry, zwłaszcza jaskry normalnego ciśnienia, jest obserwowane wśród pacjentów z twardziną układową. (33)

Oznaczenie CVI w obszarach plamkowym oraz okołotarczowym pCVI (*peripapillary CVI*) mogłoby więc dostarczyć dodatkowych informacji o dwóch składowych naczyniówki: komponenty naczyniowej oraz zrębu, które to założenie stało się punktem wyjścia do naszych badań.

5 Omówienie prac składających się na rozprawę doktorską

5.1 Cel badań

Celem wiodącym badań było poznanie patogenezy zmian, zachodzących w obrębie naczyniówki, oraz ocena ich powiązań z parametrami klinicznymi u pacjentów z twardziną układową.

Cele szczegółowe:

1. Ocena parametrów naczyniówki w plamce, z uwzględnieniem grubości, objętości oraz CVI u pacjentów z twardziną układową.
2. Ocena grubości naczyniówki okołotarczowej, pCVI oraz grubości włókien nerwowych siatkówki u pacjentów z twardziną układową.
3. Ustalenie powiązań między parametrami morfologicznymi naczyniówki a parametrami klinicznymi u pacjentów z twardziną układową w celu identyfikacji biomarkerów. Wskazanie parametru, który mógłby pełnić rolę wskaźnika biologicznej aktywności i progresji choroby, mogłoby mieć zastosowanie w praktyce klinicznej.

5.2 Materiał i metodologia

5.2.1 Projekt badań

Było to prospektywne, jednośrodkowe, przekrojowe badanie, które zostało przeprowadzone w okresie od marca 2021 r. do marca 2022 r. w Klinice Okulistyki Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Zgoda na przeprowadzenie badań została wydana przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku, nr APK.002.109.2021. Badanie było zgodne z założeniami Deklaracji Helsińskiej. Wszyscy uczestnicy zapoznali się z informacją odnośnie badania, oraz po rozmowie z lekarzem przeprowadzającym badanie wyrazili świadomą, pisemną zgodę na wzięcie w nim udziału.

5.2.2 Grupa badana i porównawcza

Do badań włączono 33 pacjentów (66 oczu), hospitalizowanych w Klinice Reumatologii oraz Chorób Wewnętrznych USK w Białymstoku. Grupę porównawczą stanowiło 40 zdrowych osób (80 oczu), zgłaszających się na rutynowe badanie okulistyczne do Kliniki Okulistyki USK w Białymstoku.

Kryteria włączenia:

- osoby pełnoletnie (grupa badana i porównawcza),
- rozpoznanie twardziny układowej, postaci uogólnionej lub ograniczonej, zgodnie z kryteriami 2013 ACR/EULAR (grupa badana).

Kryteria wykluczające (grupa badana i grupa porównawcza):

- nieprawidłowości w badaniu dna oka (uwidocznione po rozszerzeniu źrenicy, w lampie szczelinowej, analizie fotografii dna oka lub ocenie skanów OCT w obrębie plamki),
- ametropia $\geq 3,0$ dioptrii,
- przebyta operacja zaćmy w ciągu 12 ostatnich miesięcy,
- przebyte operacje w obrębie tylnego odcinka oka,
- przebyta laseroterapia siatkówki,
- niedostateczna jakość badania OCT,
- współistniejąca cukrzyca.

Porównywane grupy nie różniły się istotnie pod względem wieku, płci oraz długości gałki ocznej.

5.2.3 Metodologia – uwagi ogólne

Wszyscy pacjenci zostali poddani szczegółowemu badaniu okulistycznemu: refrakcja, ostrość wzroku, ciśnienie wewnątrzgałkowe, biometria z pomiarem długości gałki ocznej, ocena przedniego i tylnego odcinka gałki ocznej w lampie szczelinowej. Wykonano kolorowe fotografie dna oka. Przeprowadzono badanie OCT siatkówki oraz naczyniówki (SD-OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Niemcy).

Zebrane zostały dane nt. płci, wieku, czasu trwania choroby, palenia tytoniu, chorób towarzyszących i przyjmowanych leków. W grupie badanej do analizy włączono też dane, charakterystyczne dla twardziny układowej: owrzodzenia paliczków, chorobę śródmiąższową płuc (potwierdzoną badaniem TK o wysokiej rozdzielczości), wskaźniki stanu zapalnego, zajęcie mięśnia sercowego (podwyższone wartości stężenia peptydu natriuretycznego [NT-proBNP] w badaniach laboratoryjnych lub potwierdzone

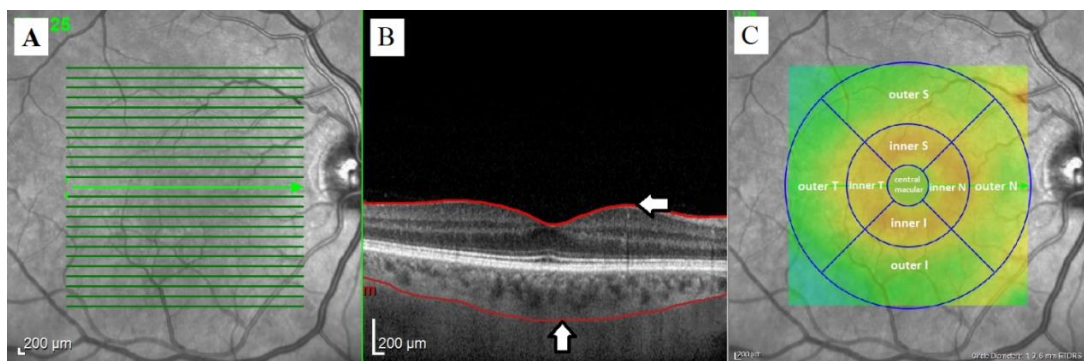
w badaniu MRI), obrzęk/ból stawów.

Przeprowadzone zostało badanie kapilaroskopowe, kwalifikujące pacjentów do 3 grup: wczesna, aktywna oraz późna postać choroby. (9) Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu R software wersja 4.0.5. Za poziom istotności przyjęto $p < 0.05$.

5.2.4 Protokół badania przy pomocy OCT

Badanie OCT u wszystkich uczestników wykonywano między godziną 12⁰⁰ a 15⁰⁰, aby zminimalizować wpływ pory dnia na dobowe fluktuacje grubości naczyńki. Protokół obrazowania OCT składał się z 25 poziomych skanów rastrowych plamki, pojedynczego liniowego B-skanu przez dołek (EDI-OCT) oraz okrężnego skanu wokół tarczy nerwu wzrokowego (360°) o średnicy 3,5 mm. W poszczególnych polach ETDRS oznaczono grubość i objętość naczyńki w obszarze plamkowym, a za pomocą skanu okrężnego wokół tarczy nerwu wzrokowego wykonano pomiary grubości naczyńki okołotarczowej oraz grubości włókien nerwowych siatkówki RNFL (*retinal nerve fiber layer*).

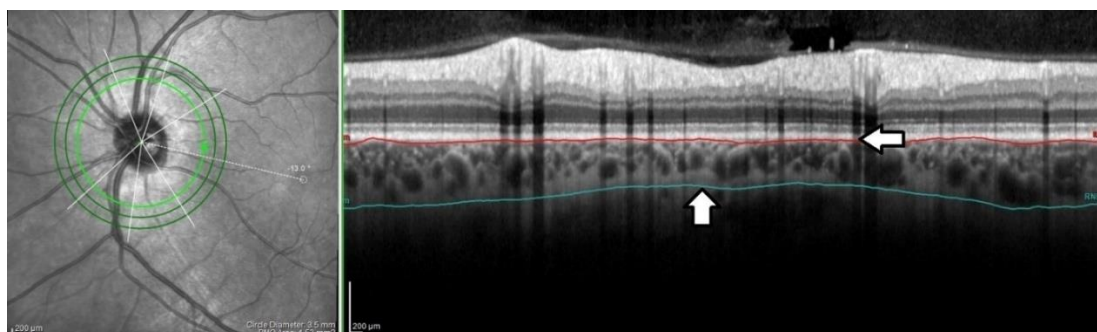
Na 25 poziomych skanach obszaru plamkowego, błona graniczna wewnętrzna ILM (*internal limiting membrane*) oraz błona Brucha BM (*Bruch's membrane*) wyznaczone zostały automatycznie przez oprogramowanie OCT. Grubość naczyńki została wyznaczona manualnie (Ryc. 1). Mapy grubości oraz objętości wyznaczono automatycznie w 9 polach ETDRS. Utworzone zostały mapy grubości/objętości siatkówki oraz sumy grubości/objętości siatkówki i naczyńki. Wartości, dotyczące parametrów naczyńki, uzyskano odejmując od siebie powyższe wartości.



Ryc. 1. A. 25 skanów poziomych przez plamkę w badaniu OCT. B. Błona graniczna wewnętrzna ILM została zaznaczona automatycznie (strzałka pozioma). Granica połączenia naczyńki-twardówki CSJ (*choroidal-scleral junction*)

zaznaczona została manualnie na każdym skanie poprzez przesunięcie granicy BM do CSJ (strzałka pionowa). C. Poszczególne pola ETDRS, podlegające badaniu.

Na określonym skanie wokół tarczy nerwu wzrokowego, grubość RNFL została wyznaczona automatycznie przez oprogramowanie OCT i przedstawiona w postaci map grubości, jako wartość całkowita oraz w poszczególnych kwadrantach (górny, dolny, nosowy, skroniowy). Grubość naczyniówki została wyznaczona manualnie (Ryc. 2). Wartości przedstawiono w postaci map grubości, analogicznych do RNFL. Szczegółowe informacje nt. analizy obrazów OCT znajdują się w pracach oryginalnych, wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (str. 18 i 38).



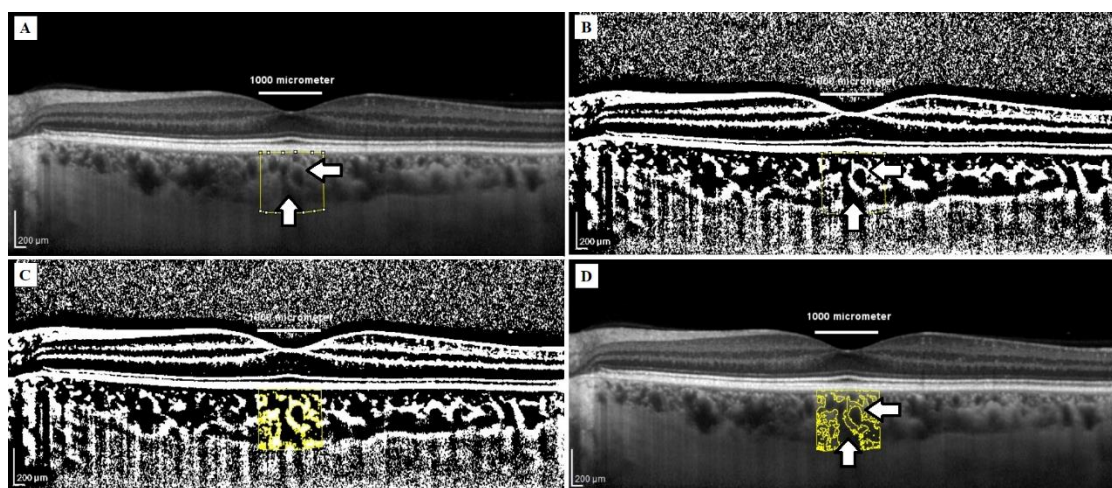
Ryc. 2. Okrężny skan OCT siatkówki i naczyniówki wokół tarczy nerwu wzrokowego. Granica ILM została manualnie przeniesiona w miejsce BM (strzałka pozioma), natomiast granica RNFL w miejsce CSJ (strzałka pionowa).

5.2.5 Protokół binaryzacji obrazów OCT

Naczyniówka na skanie badania OCT widoczna jest jako obszar od góry ograniczony przez nabłonek barwnikowy siatkówki i błonę Brucha, natomiast od dołu granica przebiega w miejscu połączenia naczyniówkowo-twardówkowego. Ciemne, hiporefleksyjne obszary odpowiadają światłu naczyń, natomiast struktury jasne, hiperrefleksyjne lub o pośredniej refleksyjności, odpowiadają zrębowi naczyniówki. Binaryzacja obrazu umożliwia analizę ilościową poszczególnych składowych naczyniówki poprzez progowanie obrazu. Piksele jaśniejsze od wyznaczonego progu jasności otrzymują jedną wartość, natomiast ciemniejsze drugą, dzięki czemu możliwa jest ich ilościowa ocena.

Binaryzację przeprowadzono korzystając z oprogramowania ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij>, version 1.53k, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA), w oparciu o protokół zaproponowany przez Sonoda (26) i Agrawal'a (27), z pewnymi modyfikacjami. Analizie poddano przeddołkowy pojedynczy skan EDI-

OCT (Ryc. 3) oraz okrężny skan okołotarczowy. Manualnie zmierzono całkowitą powierzchnię naczyniówki TCA (*total choroidal area*) na szerokości 1000 mikrometrów na skanie plamkowym, w którym centrum stanowił dołek, oraz na całym okrężnym skanie okołotarczowym. Na powyższych obszarach wykonano pomiary powierzchni światła naczyń LA (*luminal area*). Powierzchnię zrębu SA (*stromal area*) obliczono, odejmując wartość LA od TCA, natomiast CVI obliczono jako procentowy stosunek LA do TCA. Szczegółowy opis oraz graficzne przedstawienie kolejnych etapów binaryzacji obrazów OCT oraz kalkulacji CVI znajdują się w pracach oryginalnych oraz suplementach do artykułów, wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (str. 31 i 51).



Ryc. 3. Kolejne etapy binaryzacji skanu EDI-OCT (*enhanced depth imaging-OCT*) przez plamkę. LA (strzałka pionowa) oraz SA (strzałka pozioma). **A.** Manualnie zaznaczony obszar TCA na szerokości 1000 mikrometrów. **B.** Binaryzacja z użyciem metody Niblack. **C.** Oznaczenie LA w obrębie TCA. **D.** Nałożenie LA na oryginalny skan EDI-OCT.

5.3 Wyniki

5.3.1 Charakterystyka grup: badanej i porównawczej

Do badania włączono 33 pacjentów z twardziłą układową: 22 pacjentów z postacią dSSc oraz 11 z lSSc. Mediana czasu trwania choroby wynosiła 4 lata. Zajęcie płuc stwierdzono u 22 pacjentów (66,7%), uszkodzenie mięśnia sercowego u 11 chorych (33,3%), zajęcie stawów u 16 (48,5%). Obecność lub historię owrzodzeń paliczek odnotowano w 11 przypadkach (33,3%). U 9 osób (27,3%) zmiany kapilaroskopowe

odpowiadały wczesnej postaci choroby, 15 pacjentów (45,5%) prezentowało cechy postaci aktywnej, a 9 (27,3%) postaci późnej.

Grupę porównawczą stanowiło 40 zdrowych osób. Badane grupy nie różniły się znamienne pod względem wieku, płci, długości gałki ocznej, ostrości wzroku oraz dodatniego wywiadu w kierunku palenia tytoniu ($p>0.05$). Wykazano natomiast istotnie niższe wartości średniego ciśnienia tętniczego MAP (*mean arterial pressure*) oraz ciśnienia wewnątrzgałkowego IOP (*intraocular pressure*) w grupie badanej, aniżeli w grupie porównawczej ($p<0.05$). Ponadto nie wykazano statystycznych różnic między postaciami twardziny układowej (dSSc/lSSc) w odniesieniu do wieku, płci, długości gałki ocznej, ostrości wzroku, dodatniego wywiadu w kierunku palenia tytoniu ($p>0.05$), jednakże grupy różniły się wartościami MAP oraz IOP ($p<0.05$). Szczegółowe dane zamieszczono w tabelach publikacji, składających się na rozprawę doktorską.

5.3.2 Ocena parametrów naczyńiówki

5.3.2.1 Obszar plamkowy

U pacjentów z twardziną układową wykazano znamienne mniejszą grubość naczyńiówki w polach ETDRS: centralnym, nosowym wewnętrznym, skroniowym wewnętrznym oraz zewnętrznym. Podołkowa grubość naczyńiówki SFCT (*subfoveal choroidal thickness*) również okazała się istotnie mniejsza, niż w grupie porównawczej ($p<0.05$). W pozostałych polach ETDRS wartości były mniejsze, jednak różnice nie osiągnęły istotnego poziomu. Wykazano natomiast istotnie niższe wartości objętości naczyńiówki w analogicznych polach ETDRS, a także w polu dolnym wewnętrznym. Wartość CVI była znamienne wyższa u pacjentów z twardziną układową, natomiast wartości TCA, LA oraz SA były istotnie niższe w grupie badanej w porównaniu z grupą odniesienia ($p<0.05$). Nie wykazano istotnych różnic w parametrach naczyńiówki między grupami dSSc oraz lSSc. Parametry te nie różniły się też w oczach pacjentów, sklasyfikowanych jako wczesna, aktywna lub późna postać choroby na podstawie badania kapilaroskopowego.

5.3.2.2 Obszar okołotarczowy

Wykazano statystycznie niższą wartość pCVI w grupie pacjentów z twardziną układową, niż w grupie porównawczej ($p<0.001$). Wartość pCVI nie różniła się między grupami dSSc i lSSc ($p>0.05$).

Nie wykazano istotnych różnic w grubości naczyniówki, okołotarczowych powierzchniach pTCA (*peripapillary total choroidal area*), pLA (*peripapillary luminal area*) oraz pSA (*peripapillary stromal area*) pomiędzy badanymi grupami, jak również w podgrupach dSSc względem ISSc ($p > 0.05$). Ponadto grubość RNFL nie różniła się statystycznie w powyższych grupach. Nie wykazano korelacji grubości całkowitej RNFL z parametrami naczyniówki (pCVI i całkowitą grubością naczyniówki okołotarczowej).

Ponadto wykazano istotnie wyższe wartości grubości naczyniówki we wszystkich kwadrantach, z wyłączeniem kwadrantu nosowego, pTCA, pLA oraz pSA u pacjentów z późną postacią choroby w porównaniu do aktywnej w oparciu o badanie kapilaroskopowe ($p < 0.05$). Wartości RNFL w kwadrancie skroniowym były istotnie wyższe u pacjentów z wczesną postacią choroby w porównaniu do grupy, sklasyfikowanej jako postać aktywna ($p = 0.009$).

5.3.3 Analiza związku parametrów naczyniówki z parametrami klinicznymi

5.3.3.1 Obszar plamkowy

Nie wykazano związku pomiędzy parametrami naczyniówki (CVI, centralną grubością i objętością naczyniówki) a parametrami demograficznymi oraz klinicznymi, takimi jak: wiek, płeć, dodatni wywiad w kierunku palenia tytoniu, długość gałki ocznej. Czas trwania choroby, postać twardziny układowej (dSSc/ISSc) oraz wczesna, aktywna i późna postać choroby w oparciu o badanie kapilaroskopowe również nie wykazały związku z parametrami naczyniówki. Nie wykazano także zależności z obecnością przeciwciał przeciwko topoizomerazie I (anty-Scl70) i przeciwciał antycentromerowych, jak również z zajęciem narządów wewnętrznych oraz stosowanymi lekami (za wyjątkiem blokerów kanałów wapniowych w odniesieniu do CVI). Wykazano związek TCA, LA oraz SA z centralną grubością i objętością naczyniówki, jak również SA z CVI, zarówno w grupie badanej, jak i porównawczej.

5.3.3.2 Obszar okołotarczowy

Wykazano związek pCVI z wiekiem, pTCA, pLA, całkowitą grubością naczyniówki, MAP, z uszkodzeniem mięśnia sercowego oraz stosowaniem leków moczopędnych u pacjentów z twardziną układową ($p < 0.05$). Nie wykazano jednak związku z płcią, paleniem tytoniu, długością gałki ocznej, grubością RNFL, pSA, obecnością charakterystycznych przeciwciał, zajęciem płuc, stawów, obecnością

owrzodzeń paliczków, stosowanymi lekami (za wyjątkiem diuretyków). Czas trwania choroby, postać twardziny układowej (dSSc/ISSc) oraz wczesna, aktywna oraz późna postać choroby również nie wykazały powiązania z parametrami naczyńki okołotarczowej. W grupie porównawczej wykazano związek pCVI z pLA.

Przedstawione analizy poszerzają dotychczasową wiedzę z zakresu patofizjologii naczyńki u pacjentów z twardziną układową i pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków.

5.4 Wnioski

- Zmiany parametrów morfologicznych naczyńki potwierdzają objęcie jej procesem chorobowym w przebiegu twardziny układowej.
- Wyższa wartość CVI w obszarze plamkowym może wskazywać na przewagę patologii w obrębie zrębu naczyńki w postaci włóknienia nad zmianami naczyniowymi na tym obszarze. Jest to nowe spojrzenie na patomechanizm, prowadzący do ścieńczenia naczyńki.
- Niższa wartość CVI w obszarze okołotarczowym może wskazywać na uszkodzenie mikrokrążenia naczyńki, co częściowo tłumaczy częstsze występowanie jaskry, zwłaszcza normalnego ciśnienia, u pacjentów z twardziną układową.
- Odmienny charakter i kierunek zmian grubości naczyńki i CVI na dwóch badanych obszarach: plamkowym i okołotarczowym, wynikają prawdopodobnie z jej złożonej, segmentowej budowy. Mogą także świadczyć o nierównomiernym uszkodzeniu naczyńki.
- Nie wykazano zależności pomiędzy parametrami morfologicznymi naczyńki a parametrami klinicznymi. Wyjątek stanowiła grubsza naczyńka okołotarczowa u pacjentów z późną postacią choroby w porównaniu do postaci aktywnej. Wynika stąd, iż ani grubość naczyńki, ani CVI nie stanowią odpowiedniego markera do dokonania takiej oceny.

6 Publikacje składające się na rozprawę doktorską

6.1 Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis

Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology
<https://doi.org/10.1007/s00417-023-06342-4>

RETINAL DISORDERS



Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis

Barbara Pieklarz¹ · Ewa Gińdzieńska-Sieśkiewicz² · Izabela Zawadzka¹ · Magdalena Bagrowska² · Joanna Daniluk² · Marcin Palewski¹ · Agnieszka Zonenberg¹ · Otylia Kowal-Bielecka² · Joanna Konopińska¹ · Diana Anna Dmuchowska¹

Received: 24 June 2023 / Revised: 26 November 2023 / Accepted: 10 December 2023
© The Author(s) 2023

Abstract

Purpose The aim of this study was to investigate choroidal parameters in patients with systemic sclerosis (SSc) using enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography (EDI-SD-OCT) and to determine their relationships with clinical variables and ocular features.

Methods Thirty-three patients with SSc and 40 controls were enrolled. The groups did not differ with regard to age, sex, and axial length. The mean choroidal thickness and volume were obtained in each conventional Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study grid subfield. The choroidal vascularity index (CVI), which provides a quantitative analysis of vasculature by calculating the proportion of the luminal area (LA) to the total choroidal area (TCA), was determined.

Results Lower choroidal thickness and volume were observed in the SSc group. The CVI was significantly higher in SSc patients, whereas the TCA, LA, and stromal area were significantly lower in the SSc group; however, the significant difference of the stromal component was more pronounced than that of the luminal component. Regression analyses did not identify any clinical factors associated with the CVI (except Ca-blocker use), central macular thickness, or volume. No significant differences in choroidal parameters were found within the SSc subtypes (diffuse cutaneous systemic sclerosis (dcSSc) vs. limited cutaneous systemic sclerosis (lcSSc)), or between eyes stratified according to SSc pattern (early, active, or late) using nailfold capillaroscopy ($p > 0.05$ for all).

Conclusion Our results, with notably higher CVI values, may shed new light on choroidal impairment in patients with SSc. Stromal involvement appeared to dominate the vascular component.

Keywords Choroidal vascularity index · Choroidal thickness · Systemic sclerosis · Choroidal microcirculation

✉ Barbara Pieklarz
barbara.pieklarz@gmail.com

✉ Diana Anna Dmuchowska
diana.dmuchowska@umb.edu.pl

¹ Ophthalmology Department, Medical University of Białystok, 24a M. Skłodowskiej-Curie, 15-276 Białystok, Poland

² Department of Rheumatology and Internal Diseases, Medical University of Białystok, 24a M. Skłodowskiej-Curie, 15-276 Białystok, Poland

Key messages***What is known***

- Patients with SSc have significantly thinner macular choroids than healthy subjects.
CVI serves as a diagnostic tool to determine the involvement of both choroidal components, vascular and stromal.

What this study adds

- The macular CVI is significantly higher in SSc patients.
- Stromal involvement seemed to predominate the vascular component. Consequently, fibrosis might outweigh microangiopathy.

Introduction

Systemic sclerosis (SSc) is a complex, progressive, autoimmune connective tissue disease with partially understood triggers. The pathomechanisms first involve microvascular damage, followed by autoimmune response, inflammation, and diffuse fibrosis [1]. SSc can be generally classified based on the extent of skin involvement. Cases with proximal skin involvement are classified as diffuse cutaneous systemic sclerosis (dcSSc), whereas those with skin involvement affecting the limbs distal to the elbows and knees, with or without neck and face involvement, are classified as limited cutaneous systemic sclerosis (lcSSc) [2]. Both dcSSc and lcSSc patients are at risk of internal organ involvement [3].

Many ocular manifestations involving anterior and posterior segments have been reported in SSc patients [4–6], and there is no doubt that retinal and choroidal microcirculation impairments occur in SSc patients [7–10]. It has been hypothesized that generalized vasculopathy causes alterations in the posterior segment and uveal tract, whereas fibrosis-related impairment is more likely to affect the anterior segment and adjacent area [6].

The choroid is a highly vascularized tissue that provides 85% of the total ocular blood flow [11]. Choroidal circulation is characterized by a high level of blood flow with low oxygen extraction in contrast to retinal circulation [11]. The end-arterial nature of the choroidal vasculature makes this layer vulnerable to inflammation and ischemia in multisystemic diseases [12]. Therefore, it seems that the choroidal vasculature is ideal for the observation of generalized arteriolar and capillary injury in SSc [13]. Enhanced depth imaging optical coherence tomography (EDI-OCT) is a noninvasive, rapid, objective, and reliable diagnostic modality for imaging choroidal alterations [14, 15]. In recent years, choroidal thickness (CT) has been proposed as an inflammatory biomarker in systemic autoimmune diseases, especially those with vascular

components [16]. Most studies on choroidal thickness have found that patients with SSc have a significantly thinner macular choroid than healthy subjects, presumably as a result of chronic vascular damage [7–9, 17–20]. Choroidal thickness is a rough estimate rather than an accurate marker of choroidal status and is dependent on various physiological and pathological factors, including age, ethnicity, sex, refraction, and axial length [21]. Hence, we determined not only the choroidal thickness but also the choroidal vascularity index (CVI), which is a novel OCT-based choroidal quantitative parameter that provides more detailed information about the vascular component of the choroid across all layers: the choriocapillaris, Sattler's layer, and Haller's layer. The CVI provides a quantitative analysis of the vasculature by calculating the proportion of the luminal area to the total choroidal area. The current literature suggests that the CVI has less variability and is influenced by fewer physiological factors than choroidal thickness. Therefore, it can be considered a relatively stable parameter for the evaluation of changes in the choroidal vasculature [22–24]. It has been proposed as a potential biomarker for establishing early diagnosis, monitoring disease progression, and prognosticating patients [23–25]. As other authors have emphasized, the CVI should not be viewed as an isolated marker, but as an addition to existing parameters such as CT [25]. Therefore, we considered not only the choroidal thickness but also the choroidal volume, in order to take into account irregularities in the choroidal–scleral junction [26].

In the current study, we aimed to investigate choroidal parameters and to determine their relationships with clinical variables and ocular features. We hypothesized that patients with SSc might demonstrate alterations in choroidal morphology. Moreover, assessment of the CVI may help to differentiate whether vascular, stromal, or both components are involved in the pathogenesis of choroidal changes. This is the first ever study to address this pathogenic issue.

Material and methods

This prospective, single-center cross-sectional study was conducted between March 2021 and March 2022 at the Ophthalmology Department of the Medical University of Białystok. The study involved 33 adult SSc patients (66 eyes) admitted to the Department of Rheumatology and Internal Diseases of the Medical University of Białystok. Diagnoses were made according to the 2013 ACR/EULAR SSc criteria [27], and subtypes were ascertained as diffuse or limited. The protocol of the study was approved by the local Bioethics Committee at the Medical University of Białystok (decision no APK.002.109.2021), and the study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. Informed written consent was obtained from each patient.

The control group was composed of 80 eyes from 40 patients undergoing routine ophthalmological assessments. SSc patients and controls did not differ with regard to age, sex, and axial length (AL). The following detailed ophthalmologic examination, including refraction, best corrected visual acuity (BCVA) in Snellen converted to log MAR, intraocular pressure (IOP) measured with a Pascal dynamic contour tonometer (DCT; Zeimer Ophthalmic Systems AG, Port, Switzerland), slit-lamp biomicroscopy, AL measured with a Tomey OA-2000 biometer (Nagoya, Japan), dilated fundus examination, and enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography (EDI SD-OCT, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany; 2016), was performed on all participants. Blood pressure was measured in the sitting position after 5 min of rest, and OCT images were obtained immediately afterwards for all patients.

Data regarding age, sex, disease duration, autoantibody profile, current smoking status, and details of systemic treatment were recorded. History of digital ulcers (present or past), the presence of interstitial lung disease (ILD) confirmed by high-resolution computed tomography (HRCT) of the lungs, cardiac involvement (elevated N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) or heart fibrosis upon magnetic resonance imaging (MRI)), and joint involvement (arthralgia or joint swelling) were also included in the analysis. Nailfold capillaroscopy (NFC) was performed using a CapillaryScope 200 Dino-lite Digital microscope (MEDL4N PRO capillaroscopy equipment) and stratified based on capillaroscopic characteristics (capillary density, capillary dimension, abnormal capillary morphology, and presence or absence of hemorrhages) as “early,” “active,” or “late” SSc pattern, as proposed by Cutolo et al. [28]. Blood parameters, including C-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR; after 2 h), were measured.

Exclusion criteria encompassed the presence of fundus pathology, ametropia ≥ 3 diopters, phacoemulsification

less than 12 months prior to examination, history of posterior segment surgery, retinal laser treatment, and poor quality of OCT scans (< 25 dB). To exclude preexisting fundus abnormalities, funduscopy in mydriasis was performed and color fundus photographs were obtained and analyzed for each patient. Additionally, each OCT scan was carefully evaluated with emphasis on Bruch's membrane/RPE and choroidal abnormalities to detect any features of the pachychoroid, including pachychoroid pigment epitheliopathy [29].

OCT image acquisition and analysis

OCT images were captured in mydriasis during the same time interval (12 pm–3 pm) to avoid diurnal variation in choroidal parameters. The EDI-SD-OCT imaging protocol was composed of 25 raster scans ($20^\circ \times 20^\circ$) and a linear 30° B-scan centered at the fovea. Choroidal thickness and volume were determined in the same manner as in our previous study [23]. Briefly, the internal limiting membrane (ILM) and Bruch's membrane (BM) were detected automatically, while the choroidal–scleral junction (CSJ) was manually marked on each scan by the same experienced examiner (MP). Retinal parameters were calculated from the ILM to the BM and choroidal parameters from the BM to the CSJ. Average thickness and volume maps were created automatically according to the conventional ETDRS grid with nine subfields: central macular subfield (central field within a 500- μm radius), four inner subfields (within a 500–1500- μm radius), and four outer subfields (within a 1500–3000- μm radius) (Fig. 1) [30]. Separate maps were created for retinal thickness and volume, as well as for the sum of the retinal and choroidal thickness and volume. Values of the choroidal parameters were calculated by subtracting retinal parameters from the summed retinal and choroidal parameters. SFCT was defined as the distance between the BM and the CSJ at the fovea and was measured automatically.

Binarization of the choroidal area (Fig. 2) was performed by two of the authors (BP and AZ). The macular region was scanned using a single horizontal line scan (30°) centered on the fovea, with 100 frames averaged in a B-scan. Only high-quality scans (defined as scans with a signal strength of more than 25 dB (ranging from 0 = poor to 40 = excellent)) were used for analysis. Images were analyzed with ImageJ public domain software (<https://imagej.nih.gov/ij/>) using the protocol previously described by Sonoda et al. and Agrawal et al. [31, 32], with a few modifications. The most important modification concerned the setting of the scale, which considered the stretching of images to avoid erroneous quantification of the measured area [33]. Damian et al. analyzed nonstretched OCT scans ($1 \times 1 \mu\text{m}$) to overcome the erroneous quantification of choroidal parameters [34]. However,

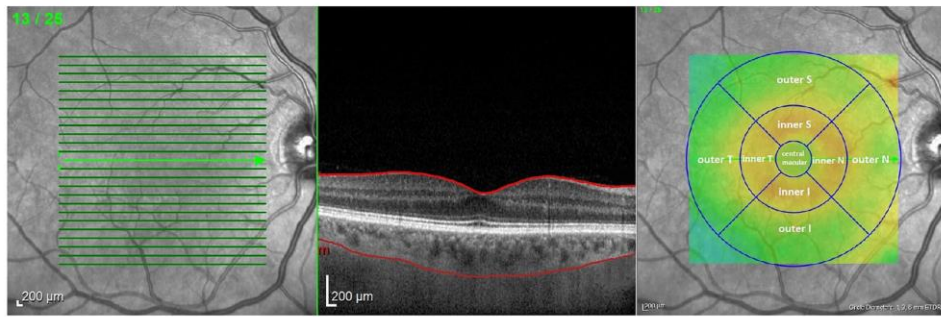


Fig. 1 Examined choroidal and retinal area overlaid on fundus image

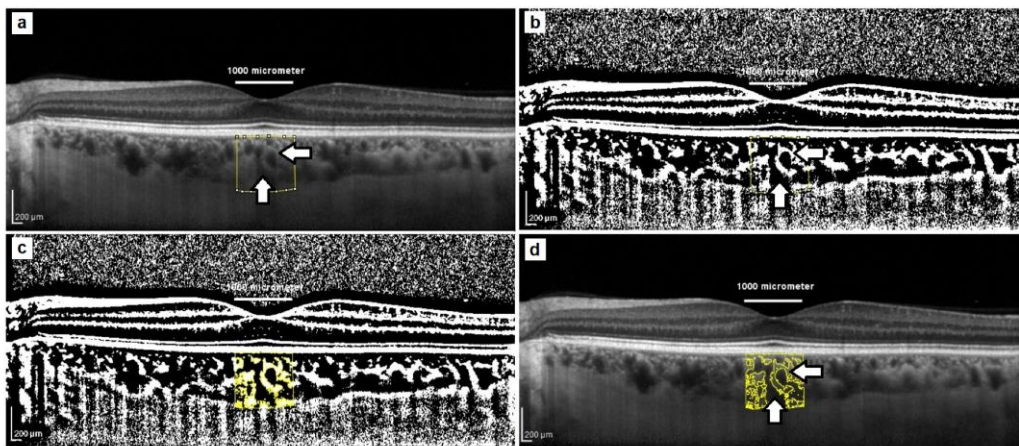


Fig. 2 Image binarization of choroid: luminal area (vertical arrows) and stromal area (horizontal arrows). **a** Total choroidal area marked on original enhanced depth imaging (EDI) SD-OCT scan. Measure-

ment area was defined as 1000 µm in width. **b** Niblack auto local threshold tool applied. **c** Highlighted luminal area using color threshold tool. **d** Overlay of luminal area on original OCT scan

an image presented in a 1:1 pixel aspect ratio (stretched axially) has better detailed visualization of a structure than a 1 × 1 µm image (OCT sampling density is higher in the axial direction than the transverse) [33]. Therefore, the scale was set considering pixel aspect ratio to reflect the actual size of the measured area. A detailed step-by-step image analysis algorithm is provided in the Supplementary Material. The measurement area was defined as 1000 µm in width and centered on the fovea. The total choroidal area (TCA) was selected from the outer boundary of the RPE–BM layer to the choroidal–scleral junction using the polygon selection tool. The images were converted to 8-bit images to allow the application of the Niblack auto local threshold tool. The binarized images were reconverted to RGB images to allow the color threshold tool to be used to select dark pixels that represented vascularized areas. The luminal area (LA) and TCA were measured, while the stromal area (SA)

was calculated by subtracting LA from TCA. The CVI was determined as the ratio of LA to TCA (%). The interobserver reproducibility of the measurements was assessed by measuring the intraclass correlation coefficient (ICC) and absolute agreement. The ICC values for the CVI, TCA, and LA measurements were > 0.87.

Statistical analysis

Analyses were performed using R 4.0.5. statistical software (R Core Team (2021). R: Language and environment for statistical computing by R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Data are presented as n (%) for nominal variables and as means ± SD or medians (Q1; Q3) for continuous variables, depending on normality of distribution (validated via Shapiro–Wilk test and based on skewness and kurtosis values). Comparisons among groups were made

using chi-squared tests or Fisher's exact tests for nominal data, as well as t-tests, ANOVA, or Kruskal–Wallis tests for continuous variables, as appropriate. Post hoc comparisons were based on Tukey tests. For the comparison of choroidal parameters between groups, Benjamini–Hochberg correction for multiple comparisons was applied. Additionally, linear regression analysis was performed to verify the associations between the CVI, central macular choroidal thickness, and volume, as well as demographic, clinical, and ocular features. All calculations were based on $\alpha = 0.05$.

Results

A total of 66 eyes of 33 SSc patients and 80 eyes of 40 healthy control subjects were enrolled in this study. The groups did not differ with regard to age, sex, AL, smoking status, or visual acuity. However, differences in mean arterial pressure (MAP) and IOP were found. A total of 22 (66.66%) patients presented dcSSc, and 11 (33.33%) had lcSSc. There were no significant differences between the two subtypes in terms of age, sex distribution, AL, smoking status, or visual acuity, but significant differences were found in MAP and

IOP. Detailed demographic and clinical data are shown in Table 1 (control group vs. SSc group) and Table 2 (control group vs. dcSSc vs. lcSSc).

Choroidal parameters were compared between the SSc and control groups (Table 3). Lower choroidal thickness and volume values were demonstrated in various ETDRS subfields for the SSc group. The CVI was significantly higher in patients with SSc, whereas the TCA, LA, and SA were significantly lower in SSc patients than in the control group.

No significant differences in choroidal thickness and volume or other choroidal parameters were found within the SSc subtypes (Table 4) or between eyes stratified according to SSc pattern (early, active, or late) using nailfold capillaroscopy ($p > 0.05$ for all) (Table 5). For the comparison of choroidal parameters between groups, correction for multiple comparisons was applied (Tables 3, 4, and 5), without a significant impact on the overall results.

The univariate regression analyses of the associations between the choroidal parameters (CVI and central macular choroidal thickness and volume) and clinical, demographic, and ocular features are presented in Table 6 (SSc group) and Table 7 (control group). No significant associations were found between the choroidal parameters and age, sex, AL, nicotine use, MAP, duration of the disease, SSc subtype,

Table 1 Demographic and clinical characteristics of SSc patients and control group

Variable	SSc group	Control group	<i>p</i>
Number of patients	33	40	
Number of eyes	66	80	
Age, years (mean \pm SD)	50.97 \pm 12.27	50.43 \pm 10.52	0.841 ²
Sex, F, <i>n</i> (%)	24 (72.7)	22 (55.0)	0.188
Sex, M, <i>n</i> (%)	9 (27.3)	18 (45.0)	
MAP, mean \pm SD	86.47 \pm 9.24	97.21 \pm 12.43	< 0.001 ²
Nicotine, <i>n</i> (%)	3 (9.1)	6 (15.0)	0.484 ¹
logMAR, median (Q1;Q3)	0.00 (0.00; 0.00)	0.00 (0.00; 0.00)	0.686 ³
IOP (mmHg), mean \pm SD	13.94 \pm 3.22	15.37 \pm 2.13	0.007 ²
AL (mm), mean \pm SD	23.15 \pm 0.82	23.39 \pm 0.97	0.104 ²
Duration of the disease (years), median (Q1;Q3)	4.00 (2.00; 10.00)		
Pulmonary involvement, <i>n</i> (%)	22 (66.7)		
Cardiac involvement, <i>n</i> (%)	11 (33.3)		
Joint involvement, <i>n</i> (%)	16 (48.5)		
Digital ulcers (present/history), <i>n</i> (%)	11 (33.3)		
CRP (mg/l), median	1.45 (1.00; 3.43)		
ESR (mm/2 h), median	27.00 (18.00; 39.00)		
Anti-Scl70 positive, <i>n</i> (%)	16 (53.3)		
Anti-centromere positive, <i>n</i> (%)	7 (23.3)		
Other Abs positive, <i>n</i> (%)	13 (43.3)		
NFC (active/early/late; number of eyes)	30/18/18		

Abbreviations: *Abs* antibodies, *AL* axial length, *CRP* C-reactive protein, *ESR* erythrocyte sedimentation rate, *F* female, *h* hours, *IOP* intraocular pressure, *M* male, *MAP* mean arterial pressure, *NFC* nailfold capillaroscopy, *SSc* systemic sclerosis Significant difference were tested using chi-square test or Fisher exact test¹ for nominal variables and with *t*-test² or Mann–Whitney *U* test³ for continuous variables, $p < 0.05$ was considered statistically significant (highlighted with bold)

Table 2 Demographic and clinical characteristics of control group and SSc subtypes

Variable	Control group	dSSc	lSSc	<i>p</i>	Post hoc		
					Control vs. dSSc	Control vs. lSSc	dSSc vs. lSSc
Number of patients	40	22	11				
Number of eyes	80	44	22				
Age, years (mean ± SD)	50.43 ± 10.52	51.41 ± 13.92	50.09 ± 8.55	0.933 ²			
Sex, F, <i>n</i> (%)	22 (55.0)	14 (63.6)	10 (90.9)	0.091 ¹			
Sex, M, <i>n</i> (%)	18 (45.0)	8 (36.4)	1 (9.1)				
MAP, mean ± SD	97.21 ± 12.43	87.63 ± 10.44	84.13 ± 6.01	0.001 ²	0.009	0.005	0.694
Nicotine, <i>n</i> (%)	6 (15.0)	2 (9.1)	1 (9.1)	0.885 ¹			
logMAR, median	0.00	0.00	0.00	0.919 ³			
IOP (mmHg), mean ± SD	15.37 ± 2.13	13.58 ± 3.38	14.76 ± 2.75	0.005 ²	0.003	0.682	0.294
AL (mm), mean ± SD	23.39 ± 0.97	23.23 ± 0.76	23.00 ± 0.94	0.179 ²			
Duration of the disease (years), median (Q1;Q3)	-	4.00 (2.00; 10.00)	5.00 (2.00; 10.00)	0.817 ³			
Pulmonary involvement, <i>n</i> (%)	-	18 (81.8)	4 (36.4)	0.018 ¹			
Cardiac involvement, <i>n</i> (%)	-	8 (36.4)	3 (27.3)	0.709 ¹			
Joint involvement, <i>n</i> (%)	-	8 (36.4)	8 (72.7)	0.071			
Digital ulcers (present/history), <i>n</i> (%)	-	9 (40.9)	2 (18.2)	0.259 ¹			
Anti-Sc170 positive, <i>n</i> (%)	-	16 (80.0)	0 (0.0)	<0.001 ¹			
Anti-centromere positive, <i>n</i> (%)	-	2 (10.0)	5 (50.0)	0.026 ¹			
Other Abs positive, <i>n</i> (%)	-	8 (40.0)	5 (50.0)	0.091 ¹			

Abbreviations: *Abs* antibodies, *AL* axial length, *CRP* C-reactive protein, *dSSc* diffuse SSc, *ESR* erythrocyte sedimentation rate, *F* female, *h* hours, *IOP* intraocular pressure, *lSSc* limited SSc, *M* male, *MAP* mean arterial pressure, *NFC* nailfold capillaroscopy, *SSc* systemic sclerosis
Notes: groups compared with chi-square test or Fisher exact test¹ for nominal variables and with ANOVA² or Kruskal–Wallis test³ for continuous variables. Post hoc tests used: Tukey test for ANOVA. *p* < 0.05 was considered statistically significant (highlighted with bold)

scleroderma pattern in NFC, antibody profile, organ involvement, or medications that could affect choroidal parameters in the SSc group (except for Ca-blocker use and CVI). No associations of clinical and choroidal parameters were found in the control subjects.

The CVI was calculated as LA/TCA, and the TCA consisted of the LA and SA. Consequently, associations among these parameters were detected in univariate regression analyses, as well as between choroidal thickness and volume.

Discussion

Detailed studies on choroidal thickness have found that patients with SSc have significantly thinner macular choroids than healthy subjects [7–9, 17–20], which is consistent with our results. However, these studies have been based on measurements taken at various points and at different distances from the fovea. To the best of our knowledge, the present study was the first to analyze choroidal

thickness and volume over a 6-mm diameter in the macula in SSc patients. The mean choroidal thickness and volume were obtained for each ETDRS subfield. According to Singh et al., even an accurate estimate of choroidal thickness from a few sampling points could be inadequate for assessing choroidal involvement due to irregularities in the choroidal–scleral junction. Hence, a volumetric analysis of the choroid is preferable [26]. Hirata et al. confirmed the asymmetric nature of macular choroidal thickness in healthy subjects, with a significantly thinner inferior choroid than superior choroid, and the outer nasal choroid was significantly thinner than all other areas in the ETDRS ring [35], which was also reflected in our results in both the control and SSc groups. We confirmed significantly lower subfoveal choroidal thickness (SFCT) values and thinner choroids within various ETDRS subfields for patients with SSc compared to the control group and, consequently, lower choroidal volume with a significantly lower total volume of the choroid. In addition to choroidal thickness, a few studies have focused on the

Table 3 Choroidal parameters comparison between eyes of SSc patients and control group

Variable	SSc mean \pm SD	Control group mean \pm SD	MD	95% CI	<i>p</i>	<i>P</i> _{adj} *
Choroidal thickness (μm):						
Outer T	252.64 \pm 45.91	267.86 \pm 60.94	-15.22	-33.20; 2.77	0.097	0.114
Inner T	279.98 \pm 60.20	301.82 \pm 74.54	-21.84	-44.54; 0.86	0.059	0.084
Central Macular	286.63 \pm 64.83	318.35 \pm 82.20	-31.73	-56.49; -6.97	0.012	0.043
Outer N	223.68 \pm 64.12	241.81 \pm 64.02	-18.13	-39.95; 3.69	0.103	0.114
Inner N	265.44 \pm 66.35	297.86 \pm 84.91	-32.42	-57.89; -6.95	0.013	0.043
Outer S	286.46 \pm 63.36	311.22 \pm 67.28	-24.76	-46.91; -2.61	0.029	0.058
Inner S	285.22 \pm 65.25	323.58 \pm 76.68	-38.36	-62.31; -14.41	0.002	0.020
Outer I	255.51 \pm 59.85	268.08 \pm 74.02	-12.57	-35.12; 9.98	0.272	0.272
Inner I	270.36 \pm 58.58	293.76 \pm 80.93	-23.40	-46.89; 0.08	0.051	0.084
SFCT	288.92 \pm 65.23	318.53 \pm 88.80	-29.62	-55.55; -3.69	0.025	0.058
Choroidal volume (mm^3):						
Outer T	1.34 \pm 0.25	1.42 \pm 0.32	-0.08	-0.17; 0.02	0.122	0.136
Inner T	0.44 \pm 0.09	0.47 \pm 0.12	-0.03	-0.07; 0.002	0.068	0.097
Central macular	0.23 \pm 0.05	0.25 \pm 0.06	-0.02	-0.04; -0.01	0.013	0.035
Outer N	1.17 \pm 0.30	1.26 \pm 0.35	-0.09	-0.20; 0.02	0.093	0.116
Inner N	0.42 \pm 0.10	0.47 \pm 0.13	-0.05	-0.09; -0.01	0.007	0.035
Outer S	1.50 \pm 0.36	1.66 \pm 0.36	-0.16	-0.28; -0.03	0.014	0.035
Inner S	0.45 \pm 0.10	0.51 \pm 0.12	-0.06	-0.10; -0.02	0.003	0.030
Outer I	1.35 \pm 0.32	1.40 \pm 0.39	-0.05	-0.17; 0.07	0.419	0.419
Inner I	0.42 \pm 0.09	0.46 \pm 0.13	-0.04	-0.08; -0.002	0.041	0.068
Total	7.35 \pm 1.48	7.92 \pm 1.76	-0.57	-1.12; -0.02	0.041	0.068
Other choroidal parameters:						
TCA (μm^2)	323 181.03 \pm 64 155.42	360 476.63 \pm 88 764.76	-37,295.60	-63,436.91; -11,154.28	0.006	0.012
LA (μm^2)	217 247.28 \pm 42 660.47	238 322.08 \pm 56 400.96	-21,074.80	-38,002.76; -4146.84	0.015	0.020
SA (μm^2)	105 933.75 \pm 23 574.39	122 154.55 \pm 34 367.12	-16,220.80	-26,136.48; -6305.11	0.002	0.008
CVI (%)	67.26 \pm 2.63	66.30 \pm 2.82	0.97	0.03; 1.90	0.043	0.043

Abbreviations: *CI* confidence interval, *CVI* choroidal vascularity index, *I* inferior, *LA* luminal area, *MD* mean difference, *N* nasal, *SSc* systemic sclerosis, *S* superior, *SFCT* subfoveal choroidal thickness, *SA* stromal area, *T* temporal, *TCA* total choroidal area. Conventional ETDRS grid with nine subfields, central macular field (central field within a 500- μm radius), four inner subfields (within a 500–1500- μm radius) and four outer subfields (within a 1500–3000- μm radius) Notes: data presented as mean \pm SD. Groups compared with *t*-test. *p* < 0.05 was considered statistically significant (highlighted with bold)

**p* value after Benjamini–Hochberg correction for multiple comparisons. Correction was made separately for: choroidal thickness parameters (10 comparisons), choroidal volume parameters (10 comparisons), and other choroidal parameters (4 comparisons)

specific choroidal vessel layer thicknesses. Using EDI-OCT scans, Ranjbar et al. manually measured subfoveal thicknesses in SSc patients and revealed thinner Sattler's and Haller's layers in contrast to unchanged thickness of the choriocapillaris layer. They speculated that the choriocapillaris remained morphologically unchanged in connection with proximity to the retinal pigment epithelium, which is a major source of vascular endothelial growth factor A, enhancing endothelial cell survival. Simultaneously, submacular perfusion (determined by the binarization of OCT-A angiograms) was significantly reduced in all three vascular layers in patients with SSc compared to control patients [10]. Similar results were reported by Rommel et al., except for choriocapillaris perfusion, which did not differ significantly [8]. Additionally,

Hekimsoy et al. reported no significant difference in choriocapillaris flow area in OCT-A [7].

In addition, in our study, we investigated not only the choroidal thickness but also the CVI. A CVI-measured area of 1000 μm in width centered on the fovea was determined to match the choroidal thickness and volume values from the central macular ETDRS ring of 1000- μm diameter. Our results showed that the CVI was significantly higher in patients with SSc than in healthy control subjects. Choroidal thickness is mainly determined by the thickness of the Sattler's and Haller's layers [8], and it was previously believed that the thinner choroid in patients with SSc was mainly due to vascular damage [18, 19], which was not reflected in the CVI in our study. The TCA, LA, and SA were significantly lower in SSc patients compared to control group. However,

Table 4 Choroidal parameters comparison of SSc patients stratified according to the subtypes versus controls

Variable	Control group, mean \pm SD	dSSc, mean \pm SD	lSSc, mean \pm SD	<i>p</i>	<i>p</i> _{adj} *	Post hoc		
						Controls vs. dSSc	Controls vs. lSSc	dSSc vs. lSSc
Choroidal thickness (μm):								
Outer T	267.86 \pm 60.94	254.79 \pm 47.16	248.45 \pm 44.24	0.257	0.286			
Inner T	301.82 \pm 74.54	280.59 \pm 56.45	278.80 \pm 68.47	0.188	0.235			
Central Macular	318.35 \pm 82.20	286.44 \pm 58.79	287.00 \pm 76.93	0.054	0.143			
Outer N	241.81 \pm 64.02	231.62 \pm 67.47	208.20 \pm 55.36	0.109	0.182			
Inner N	297.86 \pm 84.91	265.31 \pm 64.21	265.70 \pm 72.07	0.057	0.143			
Outer S	311.22 \pm 67.28	294.08 \pm 64.79	271.60 \pm 59.23	0.044	0.143	0.377	0.045	0.427
Inner S	323.58 \pm 76.68	288.72 \pm 63.29	278.40 \pm 70.07	0.009	0.090	0.039	0.036	0.862
Outer I	268.08 \pm 74.02	257.23 \pm 64.42	252.15 \pm 51.16	0.548	0.548			
Inner I	293.76 \pm 80.93	271.74 \pm 57.50	267.65 \pm 62.08	0.172	0.235			
SFCT	318.53 \pm 88.80	286.64 \pm 60.83	293.35 \pm 74.54	0.098	0.182			
Choroidal volume (mm^3):								
Outer T	1.42 \pm 0.32	1.36 \pm 0.26	1.30 \pm 0.24	0.257	0.286			
Inner T	0.47 \pm 0.12	0.44 \pm 0.09	0.44 \pm 0.11	0.205	0.256			
Central macular	0.25 \pm 0.06	0.23 \pm 0.05	0.22 \pm 0.06	0.055	0.138			
Outer N	1.26 \pm 0.35	1.20 \pm 0.31	1.12 \pm 0.28	0.184	0.256			
Inner N	0.47 \pm 0.13	0.42 \pm 0.10	0.41 \pm 0.11	0.031	0.103	0.077	0.107	0.951
Outer S	1.66 \pm 0.36	1.53 \pm 0.38	1.44 \pm 0.31	0.031	0.103	0.187	0.047	0.622
Inner S	0.51 \pm 0.12	0.46 \pm 0.10	0.44 \pm 0.11	0.011	0.103	0.058	0.035	0.799
Outer I	1.40 \pm 0.39	1.36 \pm 0.34	1.34 \pm 0.27	0.701	0.701			
Inner I	0.46 \pm 0.13	0.43 \pm 0.09	0.42 \pm 0.10	0.146	0.243			
Total	7.92 \pm 1.76	7.45 \pm 1.50	7.14 \pm 1.46	0.109	0.218			
Other choroidal parameters:								
TCA (μm^2)	360 476.63 \pm 88 764.76	315 500.56 \pm 59 521.34	338 946.18 \pm 71 863.48	0.017	0.034	0.013	0.539	0.540
LA (μm^2)	238 322.08 \pm 56 400.96	213 195.58 \pm 41 928.53	225 563.92 \pm 44 081.19	0.045	0.060	0.036	0.593	0.662
SA (μm^2)	122 154.55 \pm 34 367.12	102 304.99 \pm 19 824.10	113 382.26 \pm 29 036.73	0.004	0.016	0.003	0.494	0.389
CVI (%)	66.30 \pm 2.82	67.45 \pm 2.60	66.88 \pm 2.73	0.102	0.102			

Abbreviations: CVI choroidal vascularity index, dSSc diffuse SSc, I inferior, lSSc limited SSc, LA luminal area, N nasal, SSc systemic sclerosis, S superior, SFCT subfoveal choroidal thickness, SA stromal area, T temporal, TCA total choroidal area. Conventional ETDRS grid with nine subfields, central macular field (central field within a 500- μm radius), four inner subfields (within a 500–1500- μm radius), and four outer subfields (within a 1500–3000- μm radius) Notes: data presented as mean \pm SD. Groups compared with ANOVA. Post hoc tests used: Tukey test for ANOVA. $p < 0.05$ was considered statistically significant (highlighted with bold). * p value after Benjamini–Hochberg correction for multiple comparisons. Correction was made separately for: choroidal thickness parameters (10 comparisons), choroidal volume parameters (10 comparisons), and other choroidal parameters (4 comparisons)

the significant difference in the stromal component was more pronounced than that in the luminal. This may suggest that both the luminal and stromal components were thinner, with the latter being more affected. Histopathological studies have shown endothelial cell damage, basement membrane thickening, the absence of pericytes, and the deposition of abnormal material in and around the endothelium in choroidal vessels in SSc patients [36]. The fibrotic process in SSc is characterized by the progressive tissue accumulation of extracellular matrix (ECM) protein-like collagens, elastin, glycosaminoglycans, tenascin, and fibronectin isoforms in the skin and multiple organs [1]. The question remains open whether luminal changes precede, accompany, or follow stromal changes. Carnevali et al. investigated abnormalities in retinal and choroidal vascular plexuses in patients with SSc using SD-OCT and OCT-A. In contrast to our results, they did not find a significant difference in the CVIs between

the SSc and control groups. They revealed a significantly higher choriocapillaris plexus flow index, which was not within the scope of our study. They speculated that compensatory mechanisms occurred in order to counterbalance the increased oxygen demand of the retinal layers. Moreover, they suggested that the unaltered CVI, together with an increased choriocapillaris flow index, suggests that the choroidal vasculature does not seem to be primarily affected in SSc and hypothesized that increased choroidal vessel area is accompanied by a corresponding increase in the stromal compartment [37]. Unfortunately, they did not show data regarding choroidal thickness and the size of area used for CVI calculation, which makes comparison more difficult.

Structural microvascular abnormalities related to the pathophysiological process of SSc can be visualized noninvasively using the nailfold capillaroscopy technique [28]. The presence of giant capillaries is characteristic for “early” and

Table 5 Comparison of choroidal parameters between eyes stratified according to SSc pattern on nailfold capillaroscopy

	Early SSc pattern	Active SSc pattern	Late SSc pattern	<i>P</i>	<i>P</i> _{adj} *
Choroidal thickness (μm):					
Outer T	258.29 ± 56.18	249.14 ± 40.66	252.79 ± 44.90	0.816	0.966
Inner T	282.41 ± 70.40	275.71 ± 57.07	285.57 ± 56.77	0.869	0.966
Central Macular	289.59 ± 74.70	281.86 ± 65.00	292.57 ± 54.89	0.863	0.966
Outer N	235.76 ± 84.83	208.25 ± 56.20	239.86 ± 44.04	0.213	0.966
Inner N	262.12 ± 70.55	259.96 ± 65.44	280.43 ± 65.59	0.630	0.966
Outer S	288.82 ± 72.88	279.43 ± 66.55	297.64 ± 43.91	0.676	0.966
Inner S	288.00 ± 73.52	277.39 ± 66.49	297.50 ± 53.43	0.636	0.966
Outer I	249.82 ± 64.36	252.39 ± 53.42	268.64 ± 68.61	0.644	0.966
Inner I	268.24 ± 63.65	271.14 ± 56.79	271.36 ± 60.16	0.985	0.985
SFCT	299.12 ± 76.13	280.89 ± 64.10	292.57 ± 55.02	0.651	0.966
Choroidal Volume (mm ³):					
Outer T	1.36 ± 0.29	1.31 ± 0.23	1.38 ± 0.25	0.630	0.926
Inner T	0.45 ± 0.11	0.44 ± 0.09	0.45 ± 0.09	0.904	0.995
Central macular	0.23 ± 0.06	0.22 ± 0.05	0.23 ± 0.04	0.847	0.995
Outer N	1.19 ± 0.36	1.12 ± 0.30	1.25 ± 0.24	0.435	0.926
Inner N	0.43 ± 0.12	0.41 ± 0.10	0.44 ± 0.08	0.642	0.926
Outer S	1.53 ± 0.39	1.45 ± 0.40	1.57 ± 0.24	0.536	0.926
Inner S	0.46 ± 0.11	0.44 ± 0.10	0.47 ± 0.09	0.610	0.926
Outer I	1.33 ± 0.34	1.34 ± 0.28	1.42 ± 0.36	0.648	0.926
Inner I	0.42 ± 0.10	0.42 ± 0.09	0.43 ± 0.10	0.995	0.995
Total	7.39 ± 1.78	7.18 ± 1.40	7.63 ± 1.29	0.641	0.926
Other choroidal parameters:					
TCA (μm ²)	331,813.70 ± 69,467.72	316,810.48 ± 67,641.16	327,921.50 ± 51,425.26	0.734	0.889
LA (μm ²)	223,529.93 ± 47,807.53	212,188.40 ± 45,001.79	221,672.38 ± 30,812.96	0.650	0.889
SA (μm ²)	108,283.77 ± 23,328.90	104,622.08 ± 24,232.33	106,249.12 ± 23,968.39	0.889	0.889
CVI (%)	67.26 ± 2.39	67.01 ± 2.52	67.85 ± 3.22	0.639	0.889

Abbreviations: SSc systemic sclerosis, T temporal, I inferior, N nasal, S superior, SFCT subfoveal choroidal thickness, TCA total choroidal area, LA luminal area, SA stromal area, CVI choroidal vascularity index; conventional ETDRS grid with nine subfields, central macular field (central field within a 500-μm radius), four inner subfields (within a 500–1500-μm radius), and four outer subfields (within a 1500–3000-μm radius) Notes: data presented as mean ± SD, unless otherwise indicated. Groups compared with ANOVA or Kruskal–Wallis test. Post hoc tests used: Tukey test for ANOVA, Dunn test for Kruskal–Wallis test. *p* < 0.05 was considered statistically significant. **p* value after Benjamini–Hochberg correction for multiple comparisons. Correction was made separately for: choroidal thickness parameters (10 comparisons), choroidal volume parameters (10 comparisons), and other choroidal parameters (4 comparisons)

“active” scleroderma patterns, while the presence of severe lowered density combined with abnormal shape is typical for the “late” scleroderma pattern [28]. A “late” SSc pattern represents the clearest aspect of advanced SSc microvascular damage, regardless of the presence of a limited or diffuse subtype [13]. Carnevali et al. performed a qualitative assessment of retinal microcirculation abnormalities, i.e., the presence of megacapillaries in the deep capillary plexus of the macular region, and 75% of SSc eyes presented with abnormalities [37]. Currently, there are no data available on the direct assessment of the choriocapillary layer for the presence of megacapillaries, although the increased CVIs in our study could have been partly caused by an increase in the diameter of the vascular component in the choroid or their tortuosity.

Nevertheless, no significant differences in choroidal thickness or volume and other choroidal parameters were found between eyes stratified according to SSc pattern (“early,” “active,” or “late”) through NFC in our study.

We are well aware of the potential limitations of this study. The study group consisted of a relatively small number of patients, owing to the rarity of the disease. Moreover, the study was conducted during the COVID-19 pandemic, and the study period had to be shortened because scheduled hospital admissions were reduced. A longitudinal study could help to evaluate the potential usefulness of choroidal assessment for monitoring and prognosticating patients with SSc. Additionally, simultaneous assessment of the choroid using both SD-OCT and OCT-A, not only SD-OCT, would give a wider perspective.

Table 6 Regression analysis testing factors associated with choroidal parameters in SSc group

	CVI						Choroidal thickness central macular						Choroidal volume central macular						
	β	SE	B	p	R ²	PseudoR ²	β	SE	B	p	R ²	PseudoR ²	β	SE	B	p	R ²	PseudoR ²	
Age, years	-0.046	0.039	-0.220	0.241	0.049	0.015	-1.301	1.064	-0.236	0.232	0.052	0.017	-0.001	0.001	-0.378	0.053	0.132	0.099	
Sex, male	0.756	1.127	-	0.508	0.016	-0.019	3.679	28.572	-	0.899	0.001	-0.036	0.008	0.019	-	0.695	0.006	-0.031	
Nicotine	0.922	1.917	-	0.634	0.008	-0.027	23.140	41.710	-	0.584	0.011	-0.025	0.026	0.029	-	0.378	0.029	0.026	
AL	-0.548	0.586	-0.172	0.358	0.030	-0.004	-25.090	17.930	-0.302	0.173	0.068	0.033	-0.009	0.013	-0.155	0.483	0.018	-0.018	
MAP	0.019	0.054	0.068	0.729	0.005	-0.032	-1.067	1.439	-0.146	0.465	0.022	-0.017	0.000	0.001	0.033	0.874	0.001	-0.039	
CVI	-	-	-	-	-	-	-3.260	4.634	-0.125	0.488	0.019	-0.019	-0.002	0.003	-0.081	0.645	0.009	-0.031	
TCA	0.000	0.000	-0.140	0.460	0.019	-0.015	0.001	0.000	0.807	<0.001	0.767	0.758	0.000	0.000	0.806	<0.001	0.698	0.686	
LA	0.000	0.000	0.045	0.813	0.002	-0.034	0.001	0.000	0.782	<0.001	0.728	0.717	0.000	0.000	0.775	<0.001	0.666	0.652	
SA	0.000	0.000	-0.456	0.011	0.208	0.179	0.002	0.000	0.770	<0.001	0.692	0.679	0.000	0.000	0.757	<0.001	0.605	0.589	
Choroidal thickness central macular	-0.006	0.009	-0.156	0.488	0.019	-0.019	-	-	-	-	-	-	0.001	0.000	1.120	<0.001	0.992	0.992	
Choroidal volume total	-0.204	0.357	-0.123	0.574	0.012	-0.026	39.102	3.226	0.905	<0.001	0.845	0.839	0.029	0.002	0.955	<0.001	0.873	0.868	
dSSc/SSc, ISSc	-0.811	1.007	-	0.427	0.023	-0.012	-8.526	26.825	-	0.753	0.004	-0.033	-0.021	0.019	-	0.261	0.047	0.011	
NFC pattern, active=baseline																			
Early	0.537	1.165	-	0.649	0.014	-0.059	-0.240	31.344	-	0.994	0.009	-0.066	0.011	0.021	-	0.613	0.036	-0.038	
Late	0.652	1.218	-	0.597	-	-	14.635	31.344	-	0.644	-	-	0.021	0.021	-	0.337	-	-	
Duration of the disease	-0.083	0.068	-0.237	0.235	0.050	0.016	2.449	1.799	0.268	0.185	0.064	0.029	0.001	0.001	0.092	0.683	0.006	-0.031	
Anti-Scl70 positive	0.598	1.048	-	0.574	0.013	-0.027	51.380	34.840	-	0.153	0.080	0.043	0.022	0.020	-	0.288	0.045	0.007	
Anti-centromere positive	0.207	1.202	-	0.865	0.001	-0.039	-57.640	42.110	-	0.183	0.069	0.033	-0.033	0.024	-	0.186	0.069	0.032	
Joint involvement	-1.091	0.940	-	0.256	0.046	0.012	16.880	25.360	-	0.511	0.016	-0.020	0.004	0.018	-	0.846	0.001	-0.036	
Pulmonary involvement	0.983	0.979	-	0.324	0.035	0.000	-14.830	26.720	-	0.584	0.011	-0.025	-0.016	0.018	-	0.383	0.028	-0.008	
Cardiac involvement	-1.751	0.994	-	0.089	0.099	0.068	-8.832	26.821	-	0.744	0.004	-0.033	-0.019	0.019	-	0.299	0.039	0.004	
Digital ulcers	0.484	1.044	-	0.646	0.008	-0.028	25.970	26.410	-	0.334	0.035	-0.001	0.028	0.018	-	0.121	0.087	0.053	
PDE inhibitors	0.274	0.961	-	0.778	0.003	-0.033	0.995	25.562	-	0.969	0.000	-0.037	0.012	0.018	-	0.510	0.016	-0.020	
Ca-blocker	2.109	1.010	-	0.046	0.135	0.104	-16.640	27.420	-	0.549	0.013	-0.023	-0.004	0.019	-	0.847	0.001	-0.036	
Hydroxychloroquine	0.105	1.135	-	0.927	0.000	-0.035	-7.364	29.818	-	0.807	0.002	-0.035	-0.028	0.021	-	0.201	0.059	0.025	
Steroids	1.759	0.910	-	0.064	0.118	0.086	-4.966	25.668	-	0.848	0.001	-0.036	-0.016	0.018	-	0.370	0.029	-0.006	
Diuretic	0.009	1.048	-	0.993	0.000	-0.036	7.653	26.834	-	0.778	0.003	-0.034	-0.009	0.019	-	0.657	0.007	-0.029	

Abbreviations: AL axial length, CVI choroidal vascularity index, dSSc diffuse SSc, ISSc limited SSc, LA luminal area, MAP mean arterial pressure, NFC nailfold capillaroscopy, PDE phosphodiesterase, SA stromal area, SSc systemic sclerosis, TCA total choroidal area, β beta coefficient, B standardized beta

Only one eye per patient included into the analysis, $p < 0.05$ highlighted with bold

Table 7 Regression analysis testing factors associated with choroidal parameters in control group

	CVI					Choroidal thickness central macular					Choroidal volume central macular							
	β	SE	B	p	R ²	PseudoR ²	β	SE	B	p	R ²	PseudoR ²	β	SE	B	p	R ²	PseudoR ²
Age, years	0.005	0.047	0.019	0.912	0.000	-0.027	-1.782	1.292	-0.220	0.176	0.049	0.023	-0.001	0.001	-0.226	0.164	0.052	0.026
Sex, male	-0.667	0.974	-	0.498	0.013	0.015	8.024	27.821	-	0.775	0.002	-0.025	0.009	0.022	-	0.671	0.005	-0.022
Nicotine	-1.643	1.299	-	0.214	0.043	0.016	48.640	37.440	-	0.202	0.044	0.018	0.036	0.029	-	0.226	0.039	0.013
AL	-0.549	0.504	-0.181	0.284	0.032	0.005	-11.510	14.690	-0.131	0.438	0.016	-0.010	-0.008	0.012	-0.121	0.474	0.014	-0.013
MAP	-0.022	0.044	-0.093	0.620	0.009	-0.026	-0.568	1.756	-0.066	0.749	0.004	-0.032	0.000	0.001	-0.043	0.833	0.002	-0.034
CVI	-	-	-	-	-	-	-8.265	4.605	-0.286	0.081	0.082	0.057	-0.007	0.004	-0.292	0.075	0.085	0.059
TCA	0.000	0.000	-0.235	0.155	0.055	0.029	0.001	0.000	0.821	<0.001	0.678	0.669	0.000	0.000	0.822	<0.001	0.674	0.665
LA	0.000	0.000	-0.061	0.716	0.004	-0.024	0.001	0.000	0.794	<0.001	0.634	0.623	0.000	0.000	0.792	<0.001	0.627	0.616
SA	0.000	0.000	0.505	0.001	0.255	0.234	0.002	0.000	0.808	<0.001	0.656	0.647	0.000	0.000	0.811	<0.001	0.657	0.647
Choroidal thickness central macular	-0.010	0.006	-0.287	0.081	0.082	0.057	-	-	-	-	-	-	0.001	0.000	0.998	<0.001	0.995	0.995
Choroidal volume total	-0.539	0.301	-0.293	0.082	0.084	0.058	47.090	3.556	0.887	<0.001	0.829	0.825	0.037	0.003	0.877	<0.001	0.814	0.809

Abbreviations: AL axial length, CVI choroidal vascularity index, LA luminal area, MAP mean arterial pressure, SA stromal area, TCA total choroidal area, β beta coefficient, B standardized beta Only one eye per patient included into the analysis, $p < 0.05$ highlighted with bold

In future studies, improvements in CVI assessment and a fully automated CVI algorithm integrated into an OCT device may facilitate the standardization of this informative parameter, as pointed out by Agrawal et al. [38]. We were able to demonstrate altered choroidal parameters in patients with SSc, but the regression analyses did not identify clinical factors definitely associated with the CVI or central macular thickness and volume. This issue requires further study.

In conclusion, we were able to show thinning of the choroid in SSc patients. Our results shed new light on SSc pathogenesis in the eyes. Stromal involvement seemed to predominate in the vascular component. Consequently, fibrosis might outweigh microangiopathy. The CVI could serve as a diagnostic tool to determine the involvement of both choroidal components. These observations may direct future research.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00417-023-06342-4>.

Author contribution BP and DAD conceived the study; BP, EG-S, IZ, MB, and JD worked on data acquisition from the patients; BP, MP, AZ, and DAD analyzed the images; DAD, EG-S, JK, and OK-B supervised the study; BP, DAD, IZ, MB, JD, MP, and AZ worked on the main text; BP worked on figures and tables; EG-S, JK, OK-B reviewed whole article. All authors approved the submitted version of this manuscript, are accountable for the accuracy of the contents, and will ensure that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated, resolved, and the resolution documented in the literature.

Funding This study was funded by the Medical University of Białystok, Poland (grant no. SUB/1/DN/22/001/1157).

Data availability All materials and information are available upon an e-mail request to the corresponding authors. Names and exact data of the participants of the study may not be available because of privacy policies.

Declarations

Conflict of Interest The authors declare no competing interests.

Ethical approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the Bioethics Committee of the Medical University of Białystok and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The study was approved by the Bioethics Committee of the Medical University of Białystok (decision no APK.002.109.2021).

Informed consent Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not

permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- Cutolo M, Soldano S, Smith V (2019) Pathophysiology of systemic sclerosis: current understanding and new insights. *Expert Rev Clin Immunol* 15:753–764. <https://doi.org/10.1080/1744666x.2019.1614915>
- Denton CP, Khanna D (2017) Systemic sclerosis. *Lancet* 390:1685–1699. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)30933-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(17)30933-9)
- Pearson DR, Werth VP, Pappas-Taffer L (2018) Systemic sclerosis: current concepts of skin and systemic manifestations. *Clin Dermatol* 36:459–474. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2018.04.004>
- Kreps EO, Carton C, Cutolo M, Cutolo CA, Vanhaecke A, Leroy BP, Smith V (2019) Ocular involvement in systemic sclerosis: a systematic literature review, it's not all scleroderma that meets the eye. *Semin Arthritis Rheum* 49:119–125. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2018.12.007>
- Kozikowska M, Luboń W, Kucharz EJ, Mrukwa-Kominek E (2020) Ocular manifestations in patients with systemic sclerosis. *Reumatologia* 58:401–406. <https://doi.org/10.5114/reum.2020.102004>
- Szucs G, Szekanez Z, Aszalos Z, Gesztelyi R, Zsuga J, Szodoray P, Kemeny-Beke A (2021) A wide spectrum of ocular manifestations signify patients with systemic sclerosis. *Ocul Immunol Inflamm* 29:81–89. <https://doi.org/10.1080/09273948.2019.1657467>
- Kılınc Hekimsoy H, Şekeroğlu MA, Koçer AM, Akdoğan A (2020) Analysis of retinal and choroidal microvasculature in systemic sclerosis: an optical coherence tomography angiography study. *Eye (Lond)* 34:763–770. <https://doi.org/10.1038/s41433-019-0591-z>
- Rommel F, Prangel D, Prasuhn M, Grisanti S, Ranjbar M (2021) Correlation of retinal and choroidal microvascular impairment in systemic sclerosis. *Orphanet J Rare Dis* 16:27. <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01649-5>
- Kök M, Ayan A, Fatih Küçük M, Erol MK, Yaprak L (2021) Evaluation of the direct effects on retinal and choroidal microvasculature of systemic scleroderma. *Microvasc Res* 136:104166. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2021.104166>
- Ranjbar M, Rothe M, Klapa S, Lange T, Prasuhn M, Grisanti S, Riemekasten G, Humrich JY (2020) Evaluation of choroidal substructure perfusion in patients affected by systemic sclerosis: an optical coherence tomography angiography study. *Scand J Rheumatol* 49:141–145. <https://doi.org/10.1080/03009742.2019.1641616>
- Delaey C, Van De Voorde J (2000) Regulatory mechanisms in the retinal and choroidal circulation. *Ophthalmic Res* 32:249–256. <https://doi.org/10.1159/000055622>
- Hayreh SS (1990) In vivo choroidal circulation and its watershed zones. *Eye (Lond)* 4(Pt 2):273–289. <https://doi.org/10.1038/eye.1990.39>
- Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S (2000) Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 27:155–160
- Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC (2008) Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 146:496–500. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2008.05.032>
- Obuchowska I, Konopińska J (2022) Importance of optical coherence tomography and optical coherence tomography angiography in the imaging and differentiation of choroidal melanoma: a review. *Cancers (Basel)* 14(14):3354. <https://doi.org/10.3390/cancers14143354>
- Steiner M, Esteban-Ortega MDM, Muñoz-Fernández S (2019) Choroidal and retinal thickness in systemic autoimmune and inflammatory diseases: a review. *Surv Ophthalmol* 64:757–769. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2019.04.007>
- Ingegnoli F, Gualtierotti R, Pierro L, Del Turco C, Miserocchi E, Schioppo T, Meroni PL (2015) Choroidal impairment and macular thinning in patients with systemic sclerosis: the acute study. *Microvasc Res* 97:31–36. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2014.08.008>
- Coşkun E, Zengin O, Kenan S, Kimyon G, Erdogan Er K, Okumus S, Mesut Onat A, Erbagcı I, Kısacık B (2016) Evaluation of choroidal thickness in patients with scleroderma. *Eye (Lond)* 30:588–592. <https://doi.org/10.1038/eye.2015.287>
- Esen E, Tas DA, Sizmaz S, Turk I, Unal I, Demircan N (2017) Evaluating choroidal characteristics in systemic sclerosis using enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Ocul Immunol Inflamm* 25:356–362. <https://doi.org/10.3109/09273948.2015.1129424>
- Kaymaz S, Halil Y, Kaya H, Karasu U, Cobankara V (2021) The relationship of ocular parameters with clinical parameters and disease-related quality of life in patients with systemic sclerosis: a cross-sectional study. *Int J Rheum Dis* 24:1308–1316. <https://doi.org/10.1111/1756-185x.14216>
- Caramoy A, Heindl LM (2017) Variability of choroidal and retinal thicknesses in healthy eyes using swept-source optical coherence tomography - implications for designing clinical trials. *Clin Ophthalmol* 11:1835–1839. <https://doi.org/10.2147/ophth.S145932>
- Iovino C, Pellegrini M, Bernabei F, Borrelli E, Sacconi R, Govetto A, Vagge A, Di Zazzo A, Forlini M, Finocchio L, Carnevali A, Triolo G, Giannaccare G (2020) Choroidal vascularity index: an in-depth analysis of this novel optical coherence tomography parameter. *J Clin Med* 9(2):595. <https://doi.org/10.3390/jcm9020595>
- Sidorczuk P, Pieklarz B, Konopinska J, Saeed E, Mariak Z, Dmurchowska D (2021) Foveal Avascular zone does not correspond to choroidal characteristics in patients with diabetic retinopathy: a single-center cross-sectional analysis. *Diabetes Metab Syndr Obes* 14:2893–2903. <https://doi.org/10.2147/dms0.S318860>
- Dmurchowska DA, Sidorczuk P, Pieklarz B, Konopińska J, Mariak Z, Obuchowska I (2021) Quantitative assessment of choroidal parameters in patients with various types of diabetic macular oedema: a single-centre cross-sectional analysis. *Biology (Basel)* 10(8):725. <https://doi.org/10.3390/biology10080725>
- Agrawal R, Ding J, Sen P, Rousselot A, Chan A, Nivison-Smith L, Wei X, Mahajan S, Kim R, Mishra C, Agarwal M, Suh MH, Luthra S, Munk MR, Cheung CY, Gupta V (2020) Exploring choroidal angioarchitecture in health and disease using choroidal vascularity index. *Prog Retin Eye Res* 77:100829. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2020.100829>
- Singh SR, Vupparaboina KK, Goud A, Dansingani KK, Chhablani J (2019) Choroidal imaging biomarkers. *Surv Ophthalmol* 64:312–333. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2018.11.002>
- van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, Matucci-Cerinic M, Naden RP, Medsger TA Jr, Carreira PE, Riemekasten G, Clements PJ, Denton CP, Distler O, Allanore Y, Furst DE, Gabrielli A, Mayes MD, van Laar JM, Seibold JR, Czirjak L, Steen VD, Inanc M, Kowal-Bielecka O, Müller-Ladner U, Valentini G, Veale DJ, Vonk MC, Walker UA, Chung L, Collier DH, Ellen Csuka M, Fessler BJ, Guiducci S, Herrick A, Hsu VM, Jimenez S, Kahaleh B, Merkel PA, Sierakowski S, Silver RM, Simms RW, Varga J, Pope JE (2013) 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 72:1747–1755. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204424>

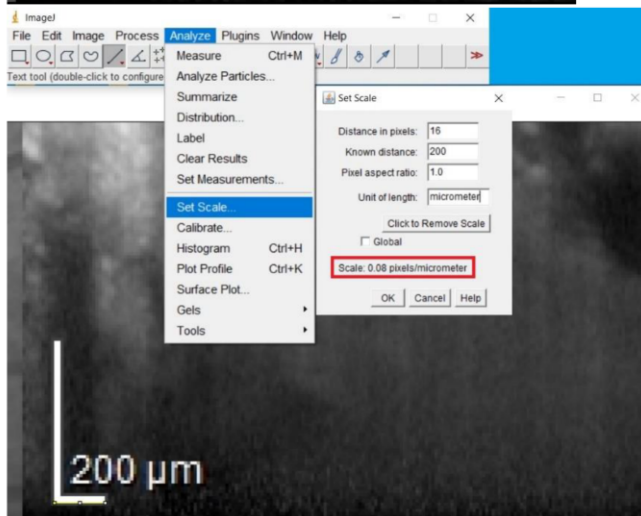
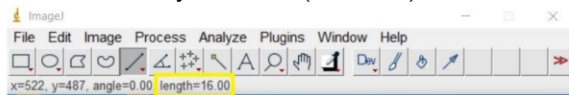
28. Smith V, Herrick AL, Ingegnoli F, Damjanov N, De Angelis R, Denton CP, Distler O, Espejo K, Foeldvari I, Frech T, Garro B, Gutierrez M, Gyger G, Hachulla E, Hesselstrand R, Iagnocco A, Kayser C, Melsens K, Müller-Ladner U, Paolino S, Pizzorni C, Radic M, Ricciari V, Snow M, Stevens W, Sulli A, van Laar JM, Vonk MC, Vanhaecke A, Cutolo M (2020) Standardisation of nail-fold capillaroscopy for the assessment of patients with Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Autoimmun Rev* 19:102458. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102458>
29. Bb R, Mohan S, Chhablani J (2023) Pachychoroid spectrum disorders: an updated review. *J Ophthalmic Vis Res* 18:212–229. <https://doi.org/10.18502/jovr.v18i2.13188>
30. (1991) Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs--an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 98(5):786–806
31. Sonoda S, Sakamoto T, Yamashita T, Shirasawa M, Uchino E, Terasaki H, Tomita M (2014) Choroidal structure in normal eyes and after photodynamic therapy determined by binarization of optical coherence tomographic images. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 55:3893–3899. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-14447>
32. Agrawal R, Salman M, Tan KA, Karampelas M, Sim DA, Keane PA, Pavesio C (2016) Choroidal vascularity index (CVI)—a novel optical coherence tomography parameter for monitoring patients with panuveitis? *PLoS ONE* 11:e0146344. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146344>
33. Sigal IA, Schuman JS, Ishikawa H, Kagemann L, Wollstein G (2016) A problem of proportions in OCT-based morphometry and a proposed solution. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 57:484–485. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-18570>
34. Damian I, Roman G, Nicoară SD (2021) Analysis of the choroid and its relationship with the outer retina in patients with diabetes mellitus using binarization techniques based on spectral-domain optical coherence tomography. *J Clin Med* 10(2):210. <https://doi.org/10.3390/jcm10020210>
35. Hirata M, Tsujikawa A, Matsumoto A, Hangai M, Ooto S, Yamashiro K, Akiba M, Yoshimura N (2011) Macular choroidal thickness and volume in normal subjects measured by swept-source optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52:4971–4978. <https://doi.org/10.1167/iovs.11-7729>
36. Farkas TG, Sylvester V, Archer D (1972) The choroidopathy of progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Am J Ophthalmol* 74:875–886. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(72\)91208-1](https://doi.org/10.1016/0002-9394(72)91208-1)
37. Carnevali A, Giannaccare G, Gatti V, Battaglia C, Randazzo G, Yu AC, Pellegrini M, Ferragina F, Toro MD, Bruno C, Scordia V, Ursini F (2021) Retinal microcirculation abnormalities in patients with systemic sclerosis: an explorative optical coherence tomography angiography study. *Rheumatology (Oxford)* 60:5827–5832. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keab258>
38. Agrawal R, Seen S, Vaishnavi S, Vupparaboina KK, Goud A, Rasheed MA, Chhablani J (2019) Choroidal vascularity index using swept-source and spectral-domain optical coherence tomography: a comparative study. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 50:e26–e32. <https://doi.org/10.3928/23258160-20190129-15>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

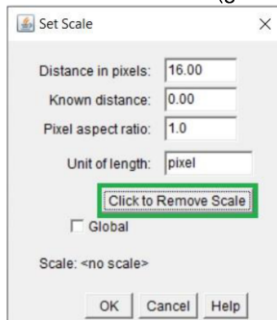
6.1.1 Materiały uzupełniające

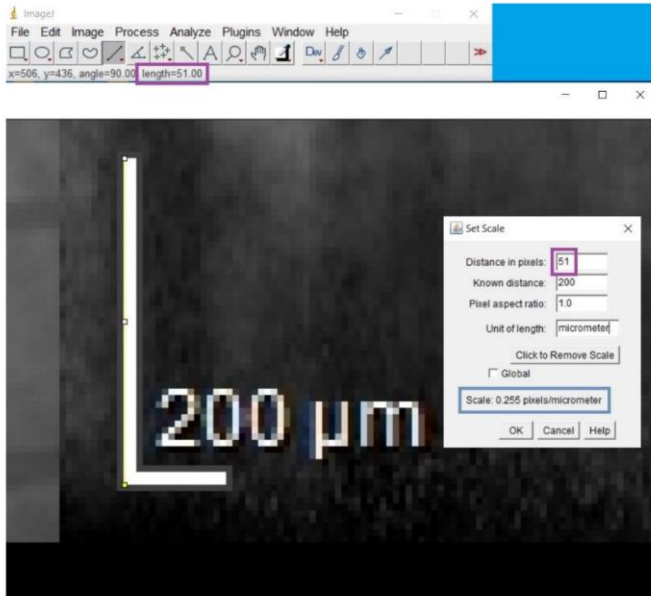
STEP-BY-STEP binarization of images and choroidal vascularity index (CVI) calculations

1. The 1×1 pixel image of the OCT single horizontal line scan of the macular region (30°) centered on the fovea (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) was opened in ImageJ software (<https://imagej.nih.gov/ij>, version 1.53k, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).
2. The scale was set as follows; the image was enlarged and the line tool was used to measure a pixel length of $200 \mu\text{m}$, as given in the horizontal scale at the bottom of the OCT scan. The known horizontal distance (yellow frame) was entered into the scale-set window. The horizontal scale was automatically calculated (red frame).

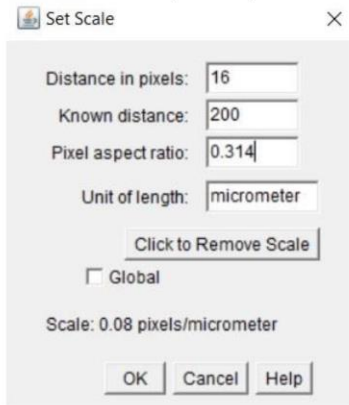


The scale was reset (green frame) and the vertical scale was calculated similarly.

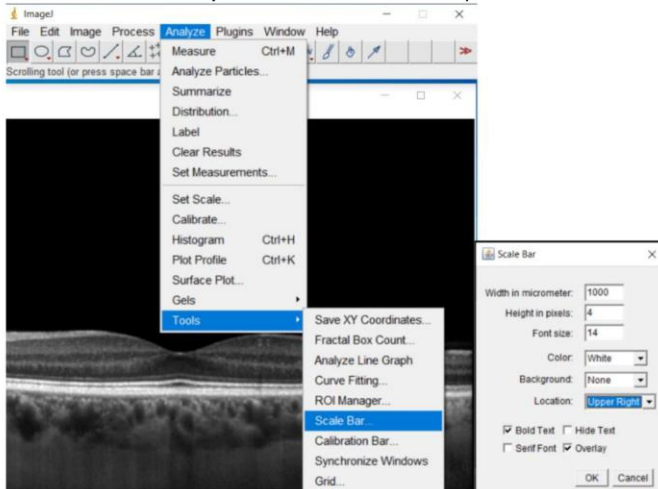




The pixel aspect ratio was calculated by dividing the horizontal pixel values by the vertical pixel values ($16/51=0.31372549$). Once again, the horizontal scale was entered and the rounded result of the pixel aspect ratio (0.314) was entered into the pixel aspect ratio window. The unit of length was micrometers.



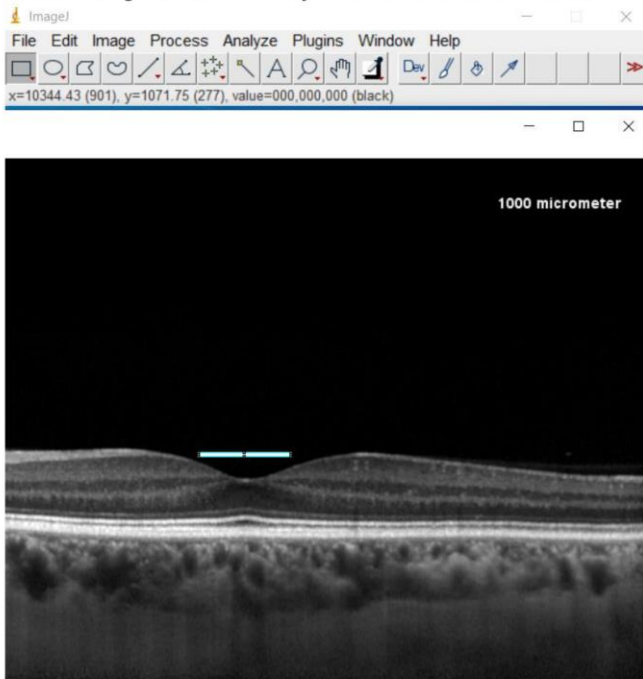
3. A scale bar of 1000 μm was entered into the picture.



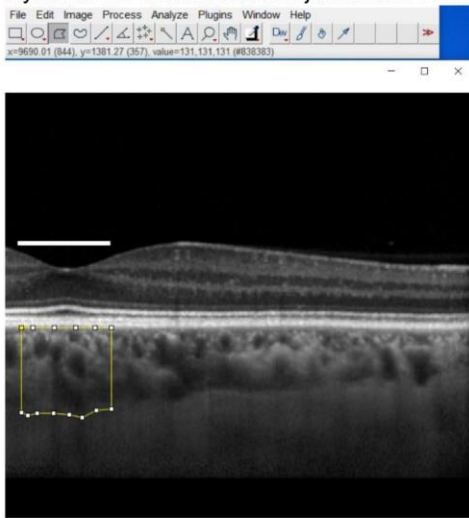
4. A line with a length of 1000 μm was marked with rectangular tool.



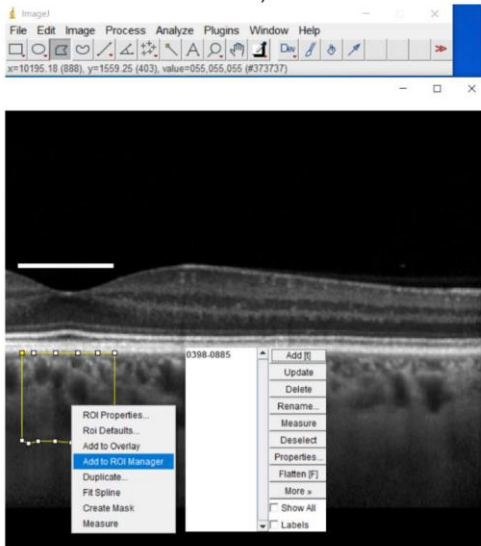
5. The line was moved above the center of the fovea by double-clicking the right mouse button on the line and then holding it down to easily delimit the area of interest.



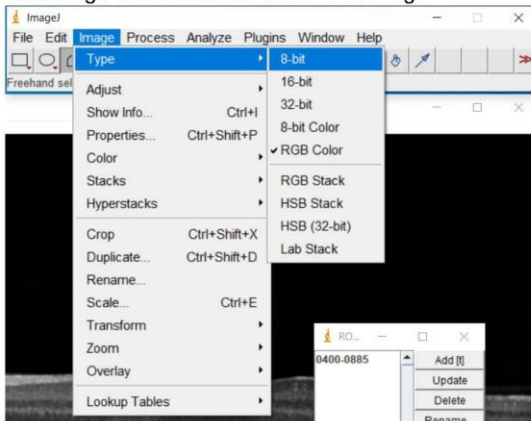
- The polygon tool was used to select the area between the outer boundary of the RPE-Bruch's membrane layer and the choroidal-scleral junction with a length of 1000 μm .



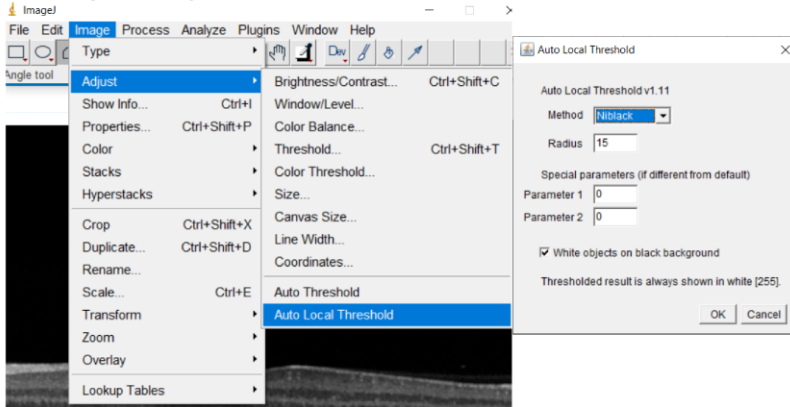
- The polygon area representing the region of interest (ROI) was added to the ROI manager (by clicking the left mouse button on this area).



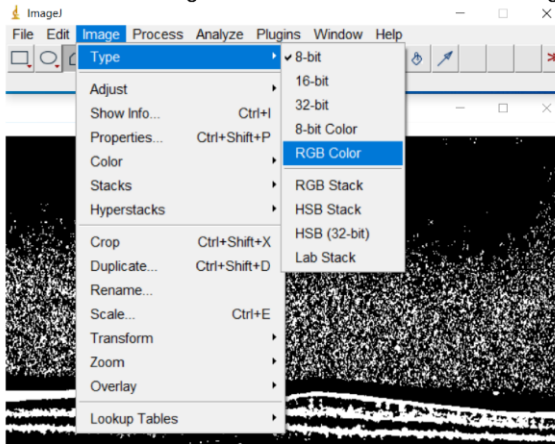
- The image was converted to an 8-bit image.



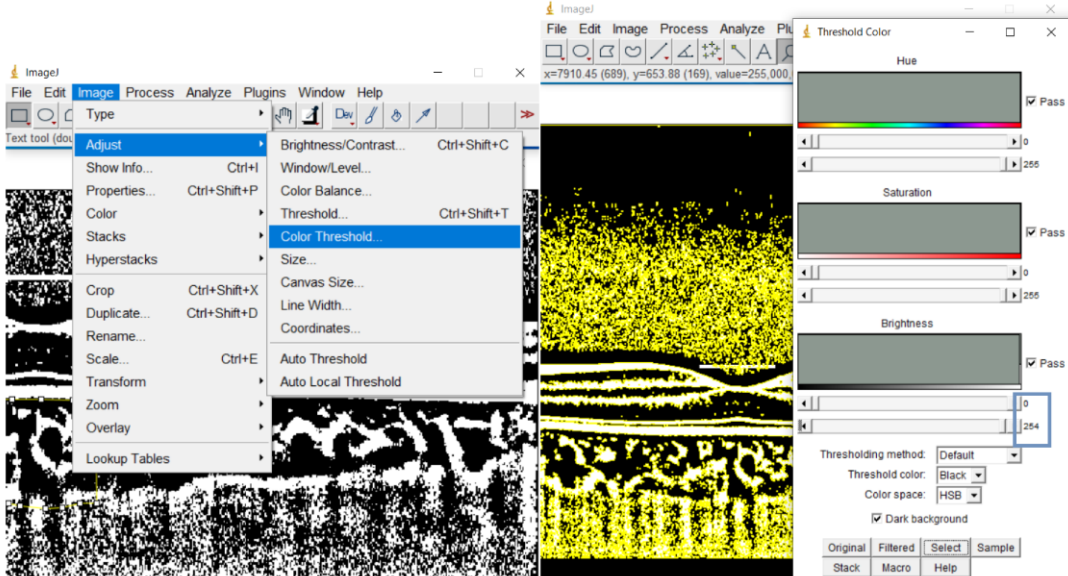
9. The image was adjusted to Niblack with the Auto Local Treshold Tool.



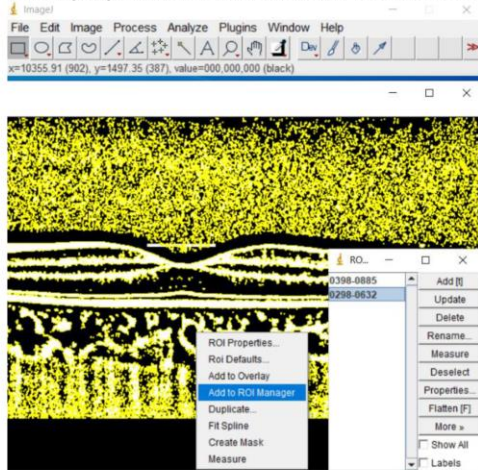
10. The binarized image was re-converted to an RGB image.



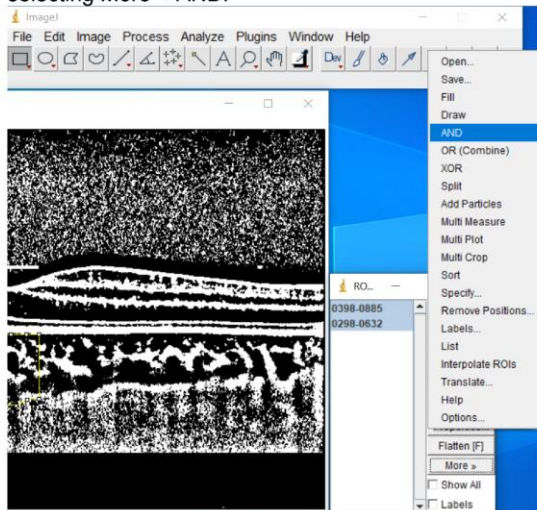
11. The area of vascularity was highlighted by selecting Color Threshold tool: the first bar under brightness was adjusted to 0, the second to 254 (blue frame) and confirmed by clicking SELECT.



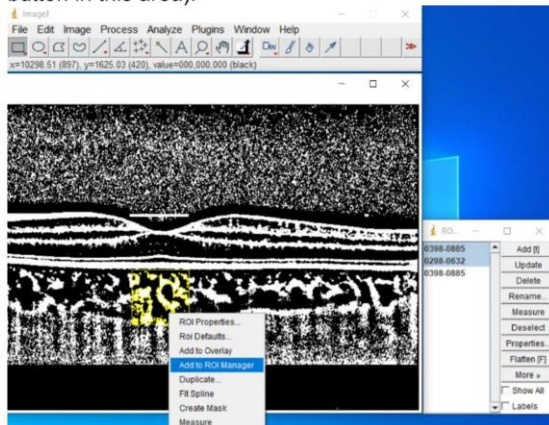
12. The highlighted area was added to the ROI manager (by clicking the left mouse button on this area).



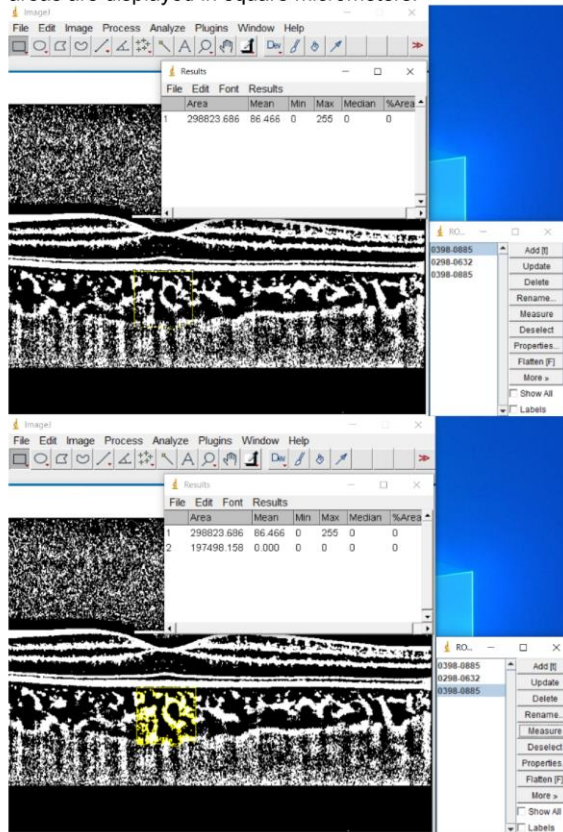
13. Both areas in the ROI manager were selected by holding the CTRL button on the keyboard and merging by selecting More < AND.



14. The highlighted area within the selected polygon was added to the ROI manager (by clicking the left mouse button in this area).



15. Lastly, the first area that corresponds to the total choroidal area (TCA) and the third area, which represents the luminal area (LA), were measured in the ROI manager by clicking the button MEASURE. The measured areas are displayed in square micrometers.



16. The stromal area (SA) was obtained after subtraction of the LA from the TCA: $298824 - 197498 = 101326 \mu\text{m}^2$

17. The choroidal vascularity index (CVI) was calculated: $(197498/298824) \times 100\% = 66.09\%$

6.2 Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis



OPEN ACCESS

EDITED BY
Xinyu Liu,
Singapore Eye Research Institute (SERI),
Singapore

REVIEWED BY
Masoud Aghsaei Fard,
Farabi Eye Hospital, Iran
Haichao Chen,
Tsinghua University, China

*CORRESPONDENCE
Barbara Pieklarz
✉ barbara.pieklarz@gmail.com
Diana Anna Dmuchowska
✉ diana.dmuchowska@umb.edu.pl

RECEIVED 06 August 2023
ACCEPTED 29 September 2023
PUBLISHED 16 October 2023

CITATION
Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E,
Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J,
Sidorczuk P, Kowal-Bielecka O,
Konopińska J and Dmuchowska DA (2023)
Peripapillary choroidal vascularity index and
thickness in patients with systemic sclerosis.
Front. Med. 10:1273438.
doi: 10.3389/fmed.2023.1273438

COPYRIGHT
© 2023 Pieklarz, Gińdzieńska-Sieškiewicz,
Zawadzka, Bagrowska, Daniluk, Sidorczuk,
Kowal-Bielecka, Konopińska and Dmuchowska.
This is an open-access article distributed under
the terms of the [Creative Commons Attribution
License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or
reproduction in other forums is permitted,
provided the original author(s) and the
copyright owner(s) are credited and that the
original publication in this journal is cited, in
accordance with accepted academic practice.
No use, distribution or reproduction is
permitted which does not comply with these
terms.

Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis

Barbara Pieklarz^{1*}, Ewa Gińdzieńska-Sieškiewicz²,
Izabela Zawadzka¹, Magdalena Bagrowska², Joanna Daniluk²,
Patryk Sidorczuk¹, Otylia Kowal-Bielecka², Joanna Konopińska¹
and Diana Anna Dmuchowska^{1*}

¹Ophthalmology Department, Medical University of Białystok, Białystok, Poland, ²Department of Rheumatology and Internal Diseases, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

Introduction: Patients with systemic sclerosis (SSc) present an increased risk of developing glaucomatous optic neuropathy (GON). We investigated peripapillary choroidal parameters and peripapillary retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness using spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) to determine the relationships of these factors with clinical variables.

Methods: A total of 33 patients with SSc were enrolled and compared to 40 controls. After obtaining circular scans around the optic disc, the global and quadrant peripapillary choroidal thickness (pCT) and RNFL thickness were measured. Additionally, the peripapillary choroidal vascularity index (pCVI), which allows for a quantitative analysis of the choroidal vasculature, was determined.

Results: No significant differences were found in pCT and RNFL thickness between patients with SSc and controls, or within SSc subtypes (diffuse cutaneous systemic sclerosis (dcSSc) compared to limited cutaneous systemic sclerosis (lcSSc)) ($p > 0.05$). The pCVI was significantly lower in patients with SSc than in control subjects (64.25 ± 1.94 vs. 65.73 ± 2.12 , $p < 0.001$).

Conclusion: Our results suggest that the statistically significant decrease in pCVI in patients with SSc compared to the control group is probably due to a decrease in the vascular layer, which would partially explain an increased risk of GON in patients with SSc.

KEYWORDS

systemic sclerosis, peripapillary choroidal thickness, glaucomatous optic neuropathy, choroidal vascularity index, retinal nerve fiber layer

1. Introduction

Systemic sclerosis (SSc) is an autoimmune connective tissue disease characterized by chronic progressive tissue and organ fibrosis. Its pathophysiology is complex; however, the process initially involves microvascular damage, followed by an autoimmune response, inflammation, and diffuse fibrosis (1). SSc remains a major medical challenge. Multiple organ-based manifestations are important for its diagnosis and classification. The most common consequences of SSc are digital vasculopathy, gastrointestinal complications, lung fibrosis, pulmonary hypertension, cardiac fibrosis, and renal scleroderma crisis (2).

SSc can be classified into two major disease subsets based on the extent of skin involvement. Cases with proximal skin involvement are classified as diffuse cutaneous systemic sclerosis SSc (dcSSc), whereas cases with skin involvement affecting the limbs distal to the elbows and knees, with or without neck and face involvement, are classified as limited cutaneous systemic sclerosis SSc (lcSSc) (1). Both dcSSc and lcSSc may be associated with internal organ involvement (3).

Many ocular manifestations involving the anterior and posterior segments have also been reported in SSc patients (4–6), and some reports suggest that SSc is a high-risk factor for the development of glaucomatous optic neuropathy (GON), especially normal-tension glaucoma (NTG) (7–11).

The choroid has the highest blood flow in the human body and a high vascular content. The end-arterial nature of the choroidal vasculature and the existence of watershed zones render this layer susceptible to inflammation and ischemia in multisystemic diseases (12). Endothelial cell injury, basement membrane thickening, and pericyte loss in choroidal vessels have been reported in histological studies of SSc patients (13). Macular choroidal thickness has been discussed as a promising inflammatory biomarker in systemic autoimmune diseases, especially those with vascular components (14).

Retinal and choroidal microvascular impairments in SSc patients have been confirmed using fluorescence angiography (FA) (15), optical coherence tomography (OCT) (16–20), and OCT-angiography (OCT-A) (21–25). Most studies on choroidal macular thickness have found that patients with SSc have a significantly thinner macular choroid than healthy subjects, probably due to chronic vascular damage (16–18, 20, 24–26). There are two studies in the literature evaluating CVI in SSc; however, they refer to the macular area and, the results are inconsistent (21, 27). In the peripapillary region, only the vascular density parameters and optic nerve head (ONH) parameters obtained using OCT-A were examined in patients with SSc (17, 19, 23), which is associated mostly with retinal and not choroidal circulation due to the functional and structural heterogeneity of these circulatory systems (24). In recent years, interest in peripapillary choroid thickness has increased. However, the characteristics of the choroid in this area are much poorer than those of the macular area. Studies have revealed thinner peripapillary choroidal thickness not only among patients with NTG and primary open-angle glaucoma (POAG), (23–26), but also in other diseases, such as multiple sclerosis (27), chronic obstructive pulmonary disease (28), high myopia (29), or in patients with vitamin D deficiency (30). In contrary, other studies have shown a thicker peripapillary choroid in some diseases, such as nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy (31), Parkinson's disease (32) and retinal vein occlusions at diagnosis, followed by a decrease at an early follow-up stage (33).

The aim of this study was to investigate peripapillary choroidal parameters and peripapillary retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness, and to determine their relationships with clinical variables to gain insight into one of the pathophysiological aspects of SSc. To the best of our knowledge, the present study is the first to analyze peripapillary choroidal thickness together with the peripapillary choroidal vascularity index in patients with SSc, and there are no previous reports on peripapillary choroidal characteristics. With our study we aimed at filling this gap. It is worth noting that choroidal thickness is a rough estimate rather than an accurate marker of choroidal status; hence, we not only determined choroidal thickness, but also calculated the peripapillary choroidal vascularity index

(pCVI), a novel OCT-based choroidal quantitative parameter that provides more detailed information about the vascular component of the choroid. We hypothesized that patients with SSc would demonstrate alterations in peripapillary choroidal parameters, which would explain their increased risk of GON.

2. Materials and methods

This was a prospective single-center, cross-sectional study conducted between March 2021 and March 2022 at the Ophthalmology Department, Medical University of Białystok. The protocol of the study was approved by the local Bioethics Committee at the Medical University of Białystok (decision no APK.002.109.2021) and the study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from each subject before enrolment in the study.

A total of 66 eyes from 33 patients with SSc, diagnosed according to the 2013 ACR/EULAR SSc criteria (28), were enrolled in the study, and the patients were followed up by the Department of Rheumatology and Internal Diseases, Medical University of Białystok. The control group comprised 80 eyes from 40 ophthalmologically and systemically healthy (self-reported) subjects undergoing routine ophthalmological assessments. The groups did not differ with regard to age, sex, or axial length (AL). All participants underwent ophthalmological examination, including refraction, best corrected visual acuity (BCVA) in Snellen converted into log MAR, slit lamp biomicroscopy, AL measurement (Tomey OA-2000 biometer, Nagoya, Japan), fundus examination, and peripapillary structural spectral domain OCT (SD-OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). IOP was measured using a Pascal dynamic contour tonometer (DCT, Zeimer Ophthalmic Systems AG, Port, Switzerland). Blood pressure was measured immediately prior to obtaining the OCT images, after 5 min of rest in a sitting position.

In three eyes, RNFL thinning in the superior, inferior, and inferotemporal quadrants was found with no corresponding scotoma in visual field examination and was associated with a glaucomatous disc appearance (preperimetric glaucoma) (29). The exclusion criteria included: ametropia ≥ 3 diopters, the presence of fundus pathology, phacoemulsification less than 12 months prior to the examination, history of posterior segment surgery, diabetes, and insufficient quality of OCT images.

Data regarding age, sex, SSc subtype (diffuse and limited), disease duration, autoantibody profile, current smoking status, and systemic treatment were recorded. A history of digital ulcers (present or past), the presence of interstitial lung disease (ILD) confirmed via high-resolution computed tomography (HRCT) of the lungs, and cardiac [elevated N-terminal pro b-type natriuretic peptide (NT-proBNP) or heart fibrosis upon magnetic resonance imaging (MRI)] and joint involvement (arthralgia or joint swelling) were also included in the analysis.

Structural microvascular abnormalities related to the pathophysiological process of SSc were visualized noninvasively using nailfold capillaroscopy (NFC). This safe method is relevant for predicting disease progression and monitoring the effects of treatment (30). NFC was performed using a CapillaryScope 200 Dino-Lite Digital microscope (MEDL4N Pro) and stratified based on the characteristic SSc pattern (capillary density, capillary dimension, abnormal capillary morphology, and presence or absence of hemorrhages), categorized by Cutolo et al. as “early,” “active” and “late”

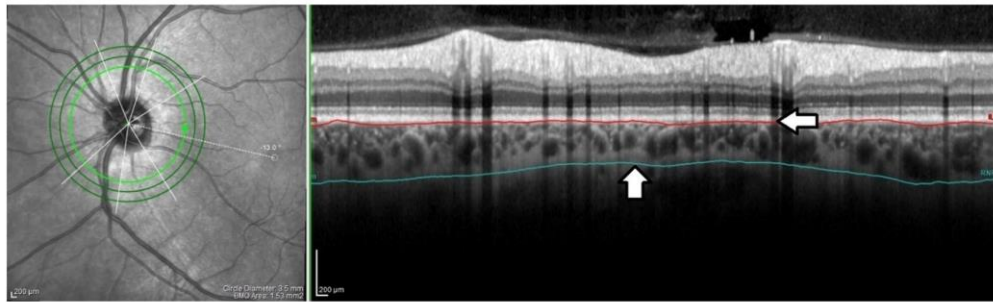


FIGURE 1
The peripapillary choroidal thickness. The internal limiting membrane (ILM) was manually shifted to Bruch's membrane (BM) (horizontal arrow) and the RNFL border to the choroidal–scleral junction (CSJ) (vertical arrow). The offset was performed on each scan by the same grader (PS). Peripapillary choroidal thickness was defined as the distance between the BM and the CSJ.

scleroderma patterns (30). Blood parameters including CRP, ESR (after 2 h), and NT-proBNP were measured.

2.1. OCT image acquisition and analysis

OCT images were taken in mydriasis within the same time interval (12 p.m.–3 p.m.) to avoid diurnal variation in choroidal thickness. Peripapillary OCT images were obtained using a 3.5 mm diameter, 360 degree circle scan centered on the optic nerve head carried out with glaucoma software SD-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). This scan pattern was used to determine the choroidal parameters: peripapillary choroidal thickness (pCT), peripapillary total choroidal area (pTCA), peripapillary luminal area (pLA), peripapillary stromal area (pSA), and retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness. RNFL thickness was automatically measured by software and the distribution of the RNFL was displayed as an RNFL thickness map (superior, inferior, nasal, temporal quadrants, and global value). As there is no automatic tool for pCT measurement, pCT was obtained by manually shifting the internal limiting membrane (ILM) to Bruch's membrane (BM) and the RNFL border to the choroidal–scleral junction (CSJ) (Figure 1). The results were presented as global and quadrant values (superior, inferior, nasal, and temporal) in a thickness map.

Binarization of the peripapillary choroidal area (Figure 2) was performed by two authors (BP and PS). Images were analyzed using the public domain software ImageJ,¹ using the protocol previously described by Sonoda and Agrawal (31, 33) with a few modifications. The most important modification concerns the setting of the scale, which considered the stretching of the image (OCT sampling density is higher in the axial direction versus the transverse), to avoid erroneous quantification of the measured area (32). An image presented with a 1:1 pixel aspect ratio is stretched axially, but the detailed visualization of the structure is improved compared to a 1 × 1 μm image. Therefore, the scale was set considering the horizontal and vertical scale relationships between the distance and pitch of pixels (μm/pixel) to reflect the actual size of the measured area. A

detailed step-by-step image analysis algorithm is provided in the [Supplementary material](#). In the next step, using the Polygon Selection tool, the pTCA was selected from the outer boundary of the RPE–Bruch's membrane layer to the choroidal–scleral border. The image was converted to an 8-bit image to allow the application of the Niblack Auto Local Threshold tool. The binarized image was reconverted to an RGB image. The vascularized area was highlighted using the Color Threshold tool and pLA and pTCA were measured. pSA was calculated by subtracting pLA from pTCA. The peripapillary choroidal vascularity index (pCVI) was determined as the pLA to pTCA ratio (%). The interobserver reproducibility of the measurements was assessed by measuring the intraclass correlation coefficient (ICC) and absolute agreement. The ICC values for the pCVI, pTCA, and pLA measurements were > 0.85 (95% CI, 0.723–0.986).

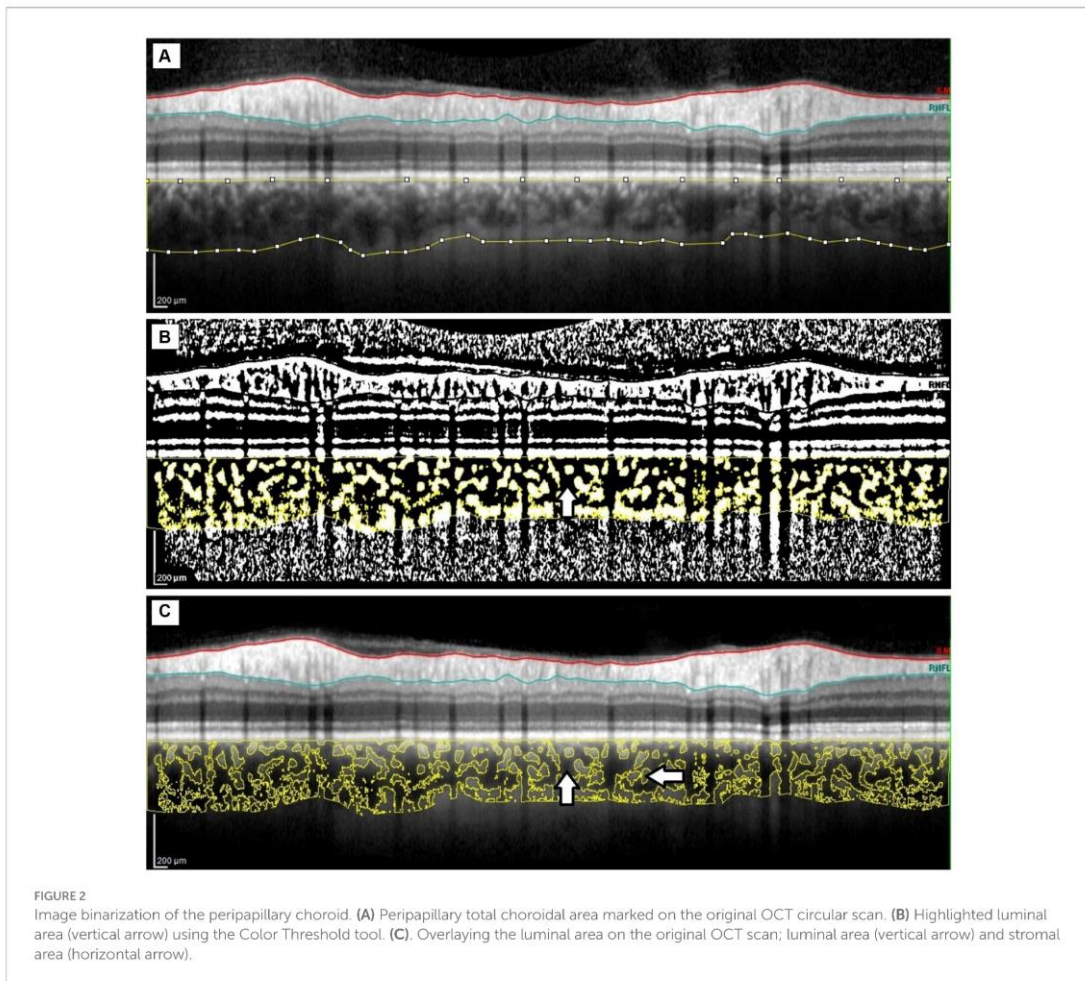
2.2. Statistical analysis

Analyses were performed using R 4.0.5. statistical software [R Core Team (2021). R: Language and environment for statistical computing by R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria]. Data are presented as *n* (%) for nominal variables and as mean ± SD or median (Q1; Q3) for continuous variables, depending on the normality of distribution (validated with the Shapiro–Wilk test and based on skewness and kurtosis values). Comparison of groups was made using the chi-square test or the Fisher exact test for nominal data and with the *t* test, Mann–Whitney U test, ANOVA, or Kruskal–Wallis test for continuous variables, as appropriate. *Post hoc* comparisons were based on the Tukey or Dunn test with Bonferroni correction for multiple comparisons. The relationships between continuous variables were assessed using Pearson's or Spearman's correlation coefficients, as appropriate. Additionally, linear regression analysis was performed to verify the association between pCVI and demographic, clinical, and ocular features. All calculations were based on $\alpha = 0.05$.

3. Results

Sixty-six eyes of 33 SSc patients and 80 eyes of 40 healthy control subjects were enrolled in this study. The groups did not differ with

¹ <https://imagej.nih.gov/ij/>



regard to age, sex, axial length, smoking status, or BCVA; however, differences in mean arterial pressure (MAP) and IOP were found. A total of 22 (66.67%) patients presented with dcSSc and 11 (33.33%) had lcSSc. Similarly, there were no significant differences between the two subtypes in terms of age, sex, AL, smoking status, or BCVA, but significant differences existed in MAP and IOP. Detailed demographic and clinical data are reported in [Table 1](#) (SSc group vs. control group) and [Table 2](#) (control group vs. dcSSc vs. lcSSc).

[Table 3](#) shows the choroidal parameters in detail for the SSc and control eyes. No significant differences were found in the peripapillary choroidal thickness (pCT), RNFL thickness (global and quadrants), peripapillary total choroidal area (pTCA), peripapillary luminal area (pLA), or peripapillary stromal area (pSA) parameters, nor were significant differences found in the aforementioned parameters within the SSc subtype groups ($p > 0.05$ for all). The pCVI was significantly lower in patients with SSc than in healthy control subjects (64.25 ± 1.94 vs. 65.73 ± 2.12 , $p < 0.001$), while no significant difference in the pCVI was found between the SSc subgroups, as shown in [Table 4](#).

No correlation between pRNFL G and pCVI or pRNFL G and pCT G was found between the SSc, dcSSc, or lcSSc groups and the controls, as shown in [Supplementary Table S1](#). The univariate regression analyses of the association between pCVI and demographic, clinical, and ocular features are presented in [Table 5](#) (control group) and [Table 6](#) (SSc group). The univariate regression analysis revealed that in patients with SSc, pCVI was significantly associated with age, pTCA, pLA, global pCT, cardiac involvement, and diuretic use ($p < 0.05$ for all), which was not the case in the control group, for whom only pLA was significantly related to pCVI ($p = 0.035$).

Additional analysis of choroidal parameters was performed in SSc patients stratified according to SSc pattern using nailfold capillaroscopy. The pTCA, pLA, and pSA values were significantly higher in patients with “late” SSc patterns than those with “active” SSc patterns upon NFC ($p < 0.05$ for all), and the pCT was significantly thicker ([Table 7](#)). The temporal quadrant of pRNFL was significantly thicker in patients with “early” SSc patterns than those with “active” SSc patterns ($p = 0.009$). The groups (“early,” “active,” and “late” SSc patterns on NFC) did not differ with regard to age, sex, AL, MAP, IOP

TABLE 1 Demographic and clinical characteristics of SSc patients and control group.

Variable	Control group	SSc group	<i>p</i>
Number of patients	40	33	
Number of eyes	80	66	
Age, years, mean ± SD	50.43 ± 10.52	50.97 ± 12.27	0.841 ²
Sex, F, <i>n</i> (%)	22 (55.0)	24 (72.7)	0.188
Sex, M, <i>n</i> (%)	18 (45.0)	9 (27.3)	
MAP, mean ± SD	97.21 ± 12.43	86.47 ± 9.24	<0.001²
Nicotine, <i>n</i> (%)	6 (15.0)	3 (9.1)	0.484 ¹
logMAR, median (Q1;Q3)	0.00 (0.00;0.00)	0.00 (0.00;0.00)	0.686 ³
IOP [mmHg], mean ± SD	15.37 ± 2.13	13.94 ± 3.22	0.007²
AL, [mm], mean ± SD	23.39 ± 0.97	23.15 ± 0.82	0.104 ²
Duration of the disease [years], median (Q1;Q3)		4.00 (2.00;10.00)	
Pulmonary Involvement, <i>n</i> (%)		22 (66.7)	
Cardiac involvement, <i>n</i> (%)		11 (33.3)	
Joint involvement, <i>n</i> (%)		16 (48.5)	
Digital ulcers (present/history), <i>n</i> %		11 (33.3)	
CRP [mg/L], median		1.45 (1.00;3.43)	
ESR [mm/2h], median		27.00 (18.00;39.00)	
Anti-Scl70 positive, <i>n</i> (%)		16 (53.3)	
Anti-centromere positive, <i>n</i> (%)		7 (23.3)	
Other Abs positive, <i>n</i> (%)		13 (43.3)	
NFC (active/early/late; number of eyes)		30/18/18	

SSc, systemic sclerosis; F, female; M, male; MAP, mean arterial pressure; IOP, intraocular pressure; AL, axial length; CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; h, hours; Abs, antibodies; NFC, nailfold capillaroscopy. Significant differences were tested using chi-square test or Fisher exact test¹ for nominal variables and with *t*-test² or Mann-Whitney U test³ for continuous variables, *p* < 0.05 was considered statistically significant (highlighted with bold).

(*p* = 0.589, *p* = 0.484, *p* = 0.509, *p* = 0.07, *p* = 0.648, respectively), or organ involvement (joint, pulmonary, and cardiac involvement; *p* = 0.895, *p* = 0.669, *p* = 0.585, respectively); however, a difference in the presence of digital ulcers (history or present) was found between the “active” SSc pattern group and the “late” SSc pattern group (*p* = 0.003).

4. Discussion

With mounting clinical evidence indicating the involvement of the peripapillary choroid in glaucoma (34–38), it has become increasingly important to detect changes in the choroid in patients with a high risk of developing of glaucomatous changes. As we mentioned above, there are no previous reports on peripapillary choroidal thickness in patients with SSc. Several pathophysiological pathways that might be involved in normal-tension GON have been discussed (39). As the blood supply of the prelaminar region partly derives from branches within the peripapillary choroid, the choroid has been implicated in the pathogenesis of GON and many studies have investigated this relationship (40–43). We not only investigated peripapillary choroidal thickness, but also determined the peripapillary choroidal vascularity index (pCVI) to characterize the choroid in detail in SSc patients. This index reflects the vascular content of the choroid. The CVI provides more detailed information about the vascular component of the choroid across all layers,

including the choriocapillaris, Sattler's layer, and Haller's layer. The current literature suggests that the CVI has less variability and is influenced by fewer physiological factors than choroidal thickness; therefore, it can be considered a relatively stable parameter for evaluating changes in choroidal vasculature in several chorioretinal and optic disc diseases, including glaucoma (44). The CVI has been proposed as a potential biomarker for establishing early diagnosis, monitoring disease progression, and prognosticating for these patients (45–47). As other authors have emphasized, CVI should be viewed not as an isolated marker, but as an addition to existing parameters such as CT. Specific data on the choroidal stromal and vascular area should also be analyzed (44). In our study, the pCVI was significantly lower in patients with SSc than in healthy control subjects, and no significant difference in pCVI was found between the SSc subtypes. Interestingly, no significant difference was found in pTCA, pLA, and pSA parameters between the SSc and control groups, nor between the SSc subtypes. However, the mean pTCA and pLA values were lower in the SSc group than in the control group, as were the global and quadrant pCT, but the differences were not statistically significant. No correlations were found between pCT, pCVI, and pRNFL within the two groups. The pSA values were comparable between the SSc and control groups. These differences were less pronounced in the SSc subtype groups. Increases or decreases in CVI may be due to various mechanisms; for example, an increase in CVI could be caused by an increase in the number or diameter of the vascular channels in the choroid. In turn, a decrease in CVI could be the result of attenuation

TABLE 2 Demographic and clinical characteristics of control group and SSc subtypes.

Variable	Control group	dcSSc	lcSSc	p	Post-hoc		
					Control group vs. dcSSc	Control group vs. lcSSc	dcSSc vs. lcSSc
Number of patients	40	22	11				
Number of eyes	80	44	22				
Age, years, mean \pm SD	50.43 \pm 10.52	51.41 \pm 13.92	50.09 \pm 8.55	0.933 ²			
Sex, F, n (%)	22 (55.0)	14 (63.6)	10 (90.9)	0.091 ¹			
Sex, M, n (%)	18 (45.0)	8 (36.4)	1 (9.1)				
MAP, mean \pm SD	97.21 \pm 12.43	87.63 \pm 10.44	84.13 \pm 6.01	0.001 ²	0.009	0.005	0.694
Nicotine, n (%)	6 (15.0)	2 (9.1)	1 (9.1)	0.885 ¹			
logMAR, median	0.00	0.00	0.00	0.919 ³			
IOP [mmHg], mean \pm SD	15.37 \pm 2.13	13.58 \pm 3.38	14.76 \pm 2.75	0.005 ²	0.003	0.682	0.294
AL [mm], mean \pm SD	23.39 \pm 0.97	23.23 \pm 0.76	23.00 \pm 0.94	0.179 ³			
Duration of the disease [years], median (Q1;Q3)	–	4.00 (2.00;10.00)	5.00 (2.00;10.00)	0.817 ³			
Pulmonary involvement, n (%)	–	18 (81.8)	4 (36.4)	0.018 ¹			
Cardiac involvement, n (%)	–	8 (36.4)	3 (27.3)	0.709 ¹			
Joint involvement, n (%)	–	8 (36.4)	8 (72.7)	0.071			
Digital ulcers (present/history), n (%)	–	9 (40.9)	2 (18.2)	0.259 ¹			
Anti-Scl70 positive, n (%)	–	16 (80.0)	0 (0.0)	<0.001 ¹			
Anti-centromere positive, n (%)	–	2 (10.0)	5 (50.0)	0.026 ¹			
Other Abs positive, n (%)	–	8 (40.0)	5 (50.0)	0.091 ¹			

SSc, systemic sclerosis; dcSSc, diffuse SSc; lcSSc, limited SSc; F, female; M, male; BP, blood pressure; IOP, intraocular pressure; AL, axial length; CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; h, hours; Abs, antibodies. Groups compared with chi-square test or Fisher exact test¹ for nominal variables and with ANOVA² or Kruskal-Wallis test³ for continuous variables. Post hoc tests used: Tukey test for ANOVA, Dunn test for Kruskal-Wallis test; $p < 0.05$ was considered statistically significant (highlighted with bold).

of the choriocapillaris, reduction in choroidal vessel size, or loss of large choroidal vessels (45). Our results suggest that the statistically significant decrease in pCVI in patients with SSc compared to the control group is probably due to a decrease in the vascular layer within the peripapillary area. A thinner choroid (global and quadrant) may support this hypothesis, although the differences were not statistically significant. Choroidal thickness is mainly determined by the thickness of Sattler's and Haller's layers (25). However, it is possible that changes in the vascular components of the peripapillary choroid in SSc patients may mainly result from damage to the choriocapillary layer, where the vessel lumen is smallest. There are two studies evaluating CVI in SSc, and the results are inconsistent; some authors found no significant differences (21), while others showed reduced CVI values, especially in the dSSc group, compared to the control group (27). However, they refer to the macular area. These results should not be directly compared with ours because they analysed a different area. The anatomy (the end-arterial nature of the choroidal vasculature with strictly segmental blood flow and the existence of watershed zones) and function of the choroid are very complex (12).

There is a discrepancy in the literature regarding the association between age and CVI. Agrawal et al. compared the factors affecting SFCT and CVI in healthy subjects and concluded that only SFCT was affected by age (48). In contrast, Kocak et al. demonstrated decreased LA, TCA, and CVI in healthy eyes with increasing age, with no significant differences in SA. The differences were more significant in the group 0–10 years old (49). The above studies refer to the different

studied widths of the choroid in the macula. Guduru et al. stated that in healthy subjects, peripapillary CVI significantly increases after the age of 45 years, which introduces even greater ambiguities in the assessment and interpretation of the relationship between CVI and age, especially in the peripapillary area (50). In our study, the regression analysis revealed that in patients with SSc, pCVI was significantly associated with age, but this was not the case in the controls. Through regression analyses of the control group, we were able to identify pLA as a factor related to pCVI. Interestingly, in the SSc group, some variables, such as age, MAP, cardiac involvement, and diuretic use, were related to pCVI values. Consequently, CVI seemed to be more dependent on various factors in patients with SSc than in the controls.

No significant difference was found in pCT (global and quadrants) between the SSc and control groups, nor within the SSc subtypes. This is in contrast to previous reports that found thinner macular choroids in patients with SSc (16–18, 20, 24–26).

Significant differences were found between controls and patients with SSc in terms of MAP and IOP; however, the choroid shows some autoregulatory capacity during changes in ocular perfusion pressure, which depends on diastolic and systolic blood pressure and IOP (51). In another study, no associations were found between pCT and either MAP or IOP in healthy subjects (52) which is consistent with our analysis (Supplementary Table S2). The control group was comprised of ophthalmologically and systemically healthy patients; therefore, these factors seemed to have no impact on the final results.

TABLE 3 Peripapillary choroidal parameters and RNFL thickness comparison between eyes of SSc patients and control group.

Variable	SSc group	Control group	MD	95% CI	p
	Mean ± SD	Mean ± SD			
pTCA (μm^2)	2,403	2,548	−145438.73	−367085.20; 76207.75	0.197
	261.14 ± 689	699.87 ± 631			
	870.89	981.03			
pLA (μm^2)	1,549	1,678	−128974.56	−278905.43; 20956.31	0.091
	602.62 ± 464	577.18 ± 430			
	458.83	596.33			
pSA (μm^2)	853	870	−16464.16	−90569.55; 57641.23	0.661
	658.52 ± 231	122.69 ± 210			
	250.78	444.28			
pCVI (%)	64.25 ± 1.94	65.73 ± 2.12	−1.48	−2.15; −0.80	<0.001
pCT G (μm)	191.41 ± 59.49	203.05 ± 54.10	−11.64	−30.43; 7.14	0.223
pCT S (μm)	201.26 ± 61.08	218.24 ± 58.52	−16.98	−36.69; 2.73	0.091
pCT I (μm)	174.00 ± 61.13	177.43 ± 55.03	−3.43	−22.65; 15.80	0.725
pCT T (μm)	199.61 ± 70.71	213.36 ± 56.49	−13.76	−35.04; 7.53	0.203
pCT N (μm)	190.91 ± 56.56	203.44 ± 59.21	−12.53	−31.52; 6.46	0.194
pRNFL G (μm)	103.29 ± 10.69	101.33 ± 6.68	1.96	−1.04; 4.96	0.198
pRNFL S (μm)	126.95 ± 16.84	122.29 ± 10.92	4.67	−0.10; 9.43	0.055
pRNFL I (μm)	129.45 ± 18.85	131.25 ± 13.36	−1.8	−7.26; 3.67	0.517
pRNFL T (μm), median (Q1;Q3)	71.00 (65.00;78.00)	69.50 (63.75;75.25)	1.5	−1.00; 5.00	0.255 ¹
pRNFL N (μm)	85.38 ± 16.65	82.10 ± 12.59	3.28	−1.64; 8.20	0.19

SSc, systemic sclerosis; pTCA, peripapillary total choroidal area; pLA, peripapillary luminal area; pSA, peripapillary stromal area; pCVI, peripapillary choroidal vascularity index; pCT, peripapillary choroidal thickness; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; G, global; S, superior quadrant; I, inferior quadrant; T, temporal quadrant; N, nasal quadrant; MD, mean difference and CI, confidence interval. Data presented as mean ± SD, unless otherwise indicated. Groups compared with *t*-test or Mann–Whitney U test¹. *p* < 0.05 was considered statistically significant (highlighted with bold).

The SSc and control groups differed significantly with regard to IOP, and further analyses showed that the dcSSc group differed in IOP compared to the control group. IOP was similar within the SSc subtypes and between eyes stratified according to SSc pattern using nailfold capillaroscopy. It seems that this difference did not affect the thickness of the peripapillary choroid. In a study by Huang et al., the average pCT in healthy controls decreased linearly with age, but other factors, such as IOP or MAP, were significantly related to average pCT (52). On the other hand, as patients with dcSSc presented with lower IOP values, one may speculate that this could have a protective effect, compensating for thinner choroids in the context of GON pathogenesis.

The thinning of RNFL as a result of progressive loss of ganglion cell axons is a cardinal feature of GON (53). Few studies have evaluated the structural glaucomatous abnormalities detected by OCT in patients with SSc; those that exist show conflicting results, but indicate that the detected abnormalities suggest SSc to be a major risk factor for the development of glaucomatous changes. Based on swept-source OCT (SS-OCT), Agapito Tito et al. observed a significant decrease in RNFL temporal quadrant thickness in patients with SSc compared to controls, but no differences were found in RNFL thickness and the macular ganglion cell complex (GCC) between the SSc subtypes. There was also an inverse correlation between disease duration and RNFL thickness and GCC. No significant correlations were found between NFC and OCT parameters. However, patients with osteoarthritis were included in the control group (7). In another study, the authors observed a thinner RNFL in the lower quadrant (SD-OCT) only in patients with an excavation/vertical disc ratio of 0.5 when compared with the control group (8). Hekimsoy et al. investigated OCT-A parameters of ONH and

RNFL thickness using SD-OCT in patients with lcSSc. No significant differences were found in peripapillary vessel density and RNFL thickness in lcSSc patients compared with controls (54). This finding is consistent with our results, although dcSSc patients were not enrolled in the above-mentioned study. Our study group was divided into SSc subtypes; no significant difference was found in RNFL thickness between the lcSSc and dcSSc groups and the control group. However, when groups were categorized according to NFC, the temporal quadrant of pRNFL was significantly thicker in patients with an “early” SSc pattern than in those with an “active” pattern. Gomes et al. evaluated the association between capillaroscopy patterns and the presence of glaucoma in patients with SSc, but found no significant differences, although the SSc patterns in that study were classified as mild or severe (11). However, the basis of the glaucoma diagnosis was not specified and the NFC classification differed from our study design. The mechanisms underlying the reduction in temporal RNFL thickness in SSc have not been entirely elucidated, but could be associated with greater susceptibility to vasoconstriction, endothelial damage, or ischemia in this region (7). Due to inconclusive data, further investigations focusing on the relationship between GON and SSc are required to address this issue.

The presence of giant capillaries is characteristic of “early” and “active” scleroderma patterns, while the presence of severely lowered density combined with abnormal shape is typical of “late” scleroderma patterns (30). The loss of capillaries, vascular architectural disorganization, and the presence of ramified/bushy capillaries (“late” SSc pattern) represents the clearest aspect of advanced SSc microvascular damage, regardless of the presence of a limited or diffuse subtype (55).

TABLE 4 Peripapillary choroidal parameters and RNFL thickness comparison between eyes of control group and SSc group stratified according to subtypes.

Variable	dcSSc group	lcSSc group	Control group	p	Post-hoc		
	Mean \pm SD	Mean \pm SD			Control group vs. dcSSc	Control group vs. lcSSc	dcSSc vs. lcSSc
pTCA (μm^2)	2,425 826.32 \pm 726 132.28	2,358 130.79 \pm 625 499.99	2,548 699.87 \pm 631 981.03	0.397			
pLA (μm^2)	1,562 003.21 \pm 488 305.14	1,524 801.43 \pm 423 040.79	1,678 577.18 \pm 430 596.33	0.224			
pSA (μm^2)	863 823.11 \pm 244 324.83	833 329.36 \pm 206 769.39	870 122.69 \pm 210 444.28	0.793			
pCVI (%)	64.13 \pm 2.07	64.49 \pm 1.67	65.73 \pm 2.12	<0.001	<0.001	0.038	0.796
pCT G (μm)	195.89 \pm 62.81	182.45 \pm 52.45	203.05 \pm 54.10	0.311			
pCT S (μm)	206.80 \pm 63.57	190.18 \pm 55.50	218.24 \pm 58.52	0.135			
pCT I (μm)	177.50 \pm 67.61	167.00 \pm 46.12	177.43 \pm 55.03	0.739			
pCT T (μm)	207.77 \pm 72.92	183.27 \pm 64.56	213.36 \pm 56.49	0.143			
pCT N (μm)	191.82 \pm 57.18	189.09 \pm 56.59	203.44 \pm 59.21	0.428			
pRNFL G (μm)	103.73 \pm 10.46	102.41 \pm 11.35	101.33 \pm 6.68	0.343			
pRNFL S (μm)	127.45 \pm 19.35	125.95 \pm 10.46	122.29 \pm 10.92	0.125			
pRNFL I (μm)	127.61 \pm 20.72	133.14 \pm 14.13	131.25 \pm 13.36	0.337			
pRNFL T (μm), median (Q1;Q3)	72.50 (65.75;82.25)	70.00 (64.25;72.75)	70.00 (64.25;77.00)	0.128 ¹			
pRNFL N (μm)	85.39 \pm 16.15	85.36 \pm 18.02	82.10 \pm 12.59	0.405			

SSc, systemic sclerosis; systemic sclerosis; dcSSc, diffuse SSc; lcSSc, limited SSc; pTCA, peripapillary total choroidal area; pLA, peripapillary luminal area; pSA, peripapillary stromal area; pCVI, peripapillary choroidal vascularity index; pCT, peripapillary choroidal thickness; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; G, global; S, superior quadrant; I, inferior quadrant; T, temporal quadrant; N, nasal quadrant. Data presented as mean \pm SD, unless otherwise indicated. Groups compared with ANOVA or Kruskal-Wallis test¹. Post hoc tests used: Tukey test for ANOVA, Dunn test for Kruskal-Wallis test. $p < 0.05$ was considered statistically significant (highlighted with bold).

TABLE 5 Regression analysis testing factors associated with pCVI in the control group.

	β	SE	B	p	R^2	Pseudo R^2
Age, years	0.013	0.025	0.080	0.624	0.007	-0.020
Sex, male	-0.376	0.533	-	0.486	0.013	-0.013
MAP	-0.010	0.024	-0.079	0.658	0.007	-0.027
Nicotine	0.248	0.741	-	0.740	0.003	-0.024
AL [mm]	-0.034	0.277	-0.020	0.903	0.000	-0.027
pTCA	0.000	0.000	0.246	0.126	0.062	0.037
pLA	0.000	0.000	0.335	0.035	0.115	0.091
pSA	0.000	0.000	0.061	0.709	0.004	-0.023
pCVI	-	-	-	-	-	-
pCT Global	0.006	0.005	0.204	0.206	0.043	0.017
pRNFL Global	-0.030	0.041	-0.127	0.436	0.016	-0.010

MAP, mean arterial pressure; AL, axial length; pTCA, peripapillary total choroidal area; pLA, peripapillary luminal area; pSA, peripapillary stromal area; pCVI, peripapillary choroidal vascularity index; pCT, peripapillary choroidal thickness; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; G, global; β , beta coefficient; SE, standard error; B , standardised beta. Only one eye per patient included into the analysis (eyes with better quality of OCT images selected). $p < 0.05$ highlighted with bold.

Sub-analysis of scleroderma patients stratified according to NFC pattern showed interesting results. Statistically significant differences in pTCA, pLA, pSA, and pCT were observed. The higher values for

TCA, LA, and SA, and a thicker peripapillary choroid (except for the nasal quadrant) in patients with a "late" capillaroscopy SSc pattern compared to those with an "active" SSc pattern were surprising. No

TABLE 6 Regression analysis testing factors associated with pCVI in SSc group.

	β	SE	B	p	R ²	Pseudo R ²
Age, years	-0.053	0.024	-0.367	0.026	0.134	0.106
Sex, male	0.291	0.705	-	0.683	0.005	-0.027
Nicotine	-0.743	1.087	-	0.500	0.015	-0.017
AL [mm]	-0.573	0.380	-0.261	0.142	0.068	0.038
MAP	-0.092	0.033	-0.477	0.011	0.208	0.179
pTCA	0.000	0.000	0.395	0.023	0.156	0.129
pLA	0.000	0.000	0.464	0.006	0.216	0.190
pSA	0.000	0.000	0.252	0.158	0.063	0.033
pCVI	-	-	-	-	-	-
pCT Global	0.012	0.005	0.412	0.017	0.169	0.143
pRNFL Global	0.012	0.031	0.072	0.700	0.005	-0.028
dcSSc/lcSSc. lcSSc	0.469	0.663	-	0.484	0.016	-0.016
NFC active = baseline						
Early	-0.384	0.766	-	0.620	0.023	-0.042
Late	-0.629	0.766	-	0.418		
Duration of the disease [years]	0.008	0.043	0.033	0.854	0.001	-0.031
ESR [mm/2 h]	0.008	0.025	0.058	0.759	0.004	-0.033
CRP [mg/L]	0.042	0.155	0.050	0.786	0.003	-0.034
Anti-Scl70 positive	-0.099	0.683	-	0.886	0.001	-0.035
Ant-centromere positive	-0.206	0.805	-	0.800	0.002	-0.033
Other Abs positive	0.515	0.681	-	0.456	0.020	-0.015
Joint involvement	0.337	0.627	-	0.596	0.009	-0.023
Pulmonary involvement	-0.209	0.667	-	0.757	0.003	-0.029
Cardiac involvement	-1.448	0.615	-	0.025	0.152	0.124
Digital ulcers (present/history)	0.093	0.668	-	0.890	0.001	-0.032
PDE inhibitors	-0.089	0.629	-	0.888	0.001	-0.032
Ca-blocker	0.767	0.694	-	0.284	0.037	0.006
Hydroxychloroquine	0.093	0.769	-	0.905	0.000	-0.032
Steroids	0.715	0.624	-	0.261	0.041	0.009
Diuretic	-1.320	0.643	-	0.048	0.120	0.092

MAP, mean arterial pressure; AL, axial length, pTCA, peripapillary total choroidal area; pLA, peripapillary luminal area; pSA, peripapillary stromal area; pCVI, peripapillary choroidal vascular index; pCT, peripapillary choroidal thickness; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; G, global; SSc, systemic sclerosis; dcSSc, diffuse SSc; lcSSc, limited SSc, CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; h, hours; Abs, antibodies; PDE, phosphodiesterase; β , coefficient from the regression model; SE, standard error. $p < 0.05$ highlighted with bold. Only one eye per patient included into the analysis (eyes with better quality of OCT images selected).

significant difference in pCVI was found between “early,” “active,” and “late” SSc pattern groups. Due to the small number of patients in each group, this issue requires further investigation. Shenavandeh et al. assessed retinal vascular changes in SSc patients, but found no evidence of a relationship between retinal vascular changes seen on fundus photography and SSc patterns upon NFC (56). However, this cannot be related to our study due to the functional and structural heterogeneity of retinal and choroidal circulation (57, 58).

There is a discrepancy between peripapillary choroidal thickness found in our study and studies by Fard et al. (59) and Huang et al. (52). Choroidal thickness measurements can vary significantly using three different definitions of the choroidal-scleral junction as posterior boundaries (60). In our study, choroidal thickness measurements were based on the identification of the outer border of the choroid stroma (Figure 1) which was also clearly seen after binarization of the images

(Figure 2). Vuong et al. showed that this measurement method was more reproducible than the other methods (60).

The limitations of the present study, which must be taken into account when interpreting the results, are the relatively small number of patients due to the rarity of the disease. A technical limitation is the possibility of erroneously high CVI measurements due to shadowing of the large superficial retinal vessels on circle peripapillary OCT scans, but this would apply to all studied subjects. The study was conducted during the COVID-19 pandemic, causing the study period to be shortened, as scheduled hospital admissions were reduced. Additionally, except for three patients with SSc and preperimetric glaucoma, no patients with both SSc and more advanced glaucoma were included in the study. Such a group could potentially present more severe damage of the choroid. Although our study provides insight into the pathophysiology of the choroid in patients with systemic sclerosis,

TABLE 7 Comparison of peripapillary choroidal parameters and RNFL thickness between eyes stratified according to SSc pattern on nailfold capillaroscopy.

Variable	"Early" SSc pattern	"Active" SSc pattern	"Late" SSc pattern	p	Post hoc		
					Active vs. Early	Active vs. Late	Early vs. Late
pTCA (μm^2)	2,316 186.00 ± 707 103.21	2,238 800.32 ± 542 810.82	2,766 335.00 ± 787 284.69	0.034	0.921	0.032	0.119
pLA (μm^2)	1,491 862.06 ± 486 531.23	1,445 338.93 ± 371 376.74	1,782 468.12 ± 520 849.43	0.048	0.937	0.046	0.143
pSA (μm^2)	824 323.94 ± 226 247.40	793 461.39 ± 177 865.52	983 866.88 ± 272 261.92	0.020	0.888	0.018	0.090
pCVI (%)	63.99 ± 2.17	64.38 ± 1.94	64.31 ± 1.78	0.796			
pCT G (μm)	181.72 ± 62.76	176.47 ± 44.21	226.00 ± 67.07	0.012	0.948	0.012	0.055
pCT S (μm)	185.00 ± 64.67	190.27 ± 44.22	235.83 ± 70.64	0.016	0.950	0.028	0.029
pCT I (μm)	171.44 ± 61.40	154.10 ± 44.78	209.72 ± 70.98	0.007	0.572	0.005	0.121
pCT T (μm)	189.78 ± 76.03	180.93 ± 53.74	240.56 ± 76.91	0.012	0.898	0.011	0.669
pCT N (μm)	180.94 ± 59.74	180.43 ± 48.94	218.33 ± 59.02	0.052			
pRNFL G (μm)	105.50 ± 9.80	102.03 ± 12.04	103.17 ± 9.28	0.560			
pRNFL S (μm)	128.83 ± 12.94	125.43 ± 21.12	127.61 ± 12.13	0.785			
pRNFL I (μm)	131.61 ± 13.37	129.63 ± 20.04	127.00 ± 21.98	0.768			
pRNFL T (μm), median (Q1;Q3)	74.50 (70.25;79.50)	69.00 (61.25;72.00)	71.50 (68.25;79.00)	0.046 [†]	0.009	0.058	0.237
pRNFL N (μm)	85.89 ± 18.26	85.17 ± 17.57	85.22 ± 14.14	0.989			

SSc, systemic sclerosis; pTCA, peripapillary total choroidal area; pLA, peripapillary luminal area; pSA, peripapillary stromal area; pCVI, peripapillary choroidal vascularity index; pCT, peripapillary choroidal thickness; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; G, global; S, superior quadrant; I, inferior quadrant; T, temporal quadrant; N, nasal quadrant. Data presented as mean ± SD, unless otherwise indicated Groups compared with ANOVA or Kruskal-Wallis test[†]. Post hoc tests used: Tukey test for ANOVA, Dunn test for Kruskal-Wallis test. $p < 0.05$ was considered statistically significant (highlighted with bold).

longitudinal observation would facilitate future studies by documenting pRNFL changes over time and the possible development of GON in patients with SSc. Inclusion of not only RNFL, but also ganglion cell complexes [as a more sensitive parameter for risk/occurrence of glaucoma (61)] in the analysis could also be informative.

In conclusion, our cohort of patients with SSc presented alterations of choroidal characteristics. The differences were variable depending on the approach to patient stratification. A decrease in pCVI in patients with SSc compared to the control group reflects a decrease in the vascular layer within the peripapillary area, which would support the vascular hypothesis for an increased risk of GON in patients with SSc.

Data availability statement

The original contributions presented in the study are included in the article/Supplementary material, further inquiries can be directed to the corresponding authors.

Ethics statement

The studies involving humans were approved by Medical University of Bialystok. The studies were conducted in accordance with the local

legislation and institutional requirements. The participants provided their written informed consent to participate in this study.

Author contributions

BP: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Visualization, Writing – original draft. EG-S: Data curation, Investigation, Supervision, Writing – review & editing. IZ: Investigation, Writing – original draft. MB: Investigation, Writing – original draft. JD: Investigation, Writing – original draft. PS: Investigation, Methodology, Writing – original draft. OK-B: Project administration, Supervision, Writing – review & editing. JK: Project administration, Supervision, Writing – review & editing. DD: Conceptualization, Formal analysis, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Project administration, Supervision, Writing – review & editing.

Funding

The author(s) declare financial support was received for the research, authorship, and/or publication of this article. This work was supported by the Medical University of Bialystok, Poland (grant no. SUB/1/DN/22/001/1157).

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated

organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Supplementary material

The Supplementary material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2023.1273438/full#supplementary-material>

References

- Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet*. (2017) 390:1685–99. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30933-9
- Cutolo M, Soldano S, Smith V. Pathophysiology of systemic sclerosis: current understanding and new insights. *Expert Rev Clin Immunol*. (2019) 15:753–64. doi: 10.1080/1744666X.2019.1614915
- Pearson DR, Werth VP, Pappas-Taffer L. Systemic sclerosis: current concepts of skin and systemic manifestations. *Clin Dermatol*. (2018) 36:459–74. doi: 10.1016/j.clindermatol.2018.04.004
- Krepis EO, Carton C, Cutolo M, Cutolo CA, Vanhaecke A, Leroy BP, et al. Ocular involvement in systemic sclerosis: a systematic literature review, it's not all scleroderma that meets the eye. *Semin Arthritis Rheum*. (2019) 49:119–25. doi: 10.1016/j.semarthrit.2018.12.007
- Kozikowska M, Luboń W, Kucharz EJ, Mrukwa-Kominek E. Ocular manifestations in patients with systemic sclerosis. *Reumatologia*. (2020) 58:401–6. doi: 10.5114/reum.2020.102004
- Szucs G, Szekanez Z, Aszalos Z, Gesztelyi R, Zsuga J, Szodoray P, et al. A wide spectrum of ocular manifestations signify patients with systemic sclerosis. *Ocul Immunol Inflamm*. (2021) 29:81–9. doi: 10.1080/09273948.2019.1657467
- Agapito Tito CV, Silvatti J, de Almeida JNF, Taniguchi EV, Prata TS, Paranhos A Jr, et al. Structural abnormalities associated with glaucoma using swept-source optical coherence tomography in patients with systemic sclerosis. *Int Ophthalmol*. (2022) 42:1369–80. doi: 10.1007/s10792-021-02124-1
- Sahin-Atik S, Koc F, Akin-Sari S, Ozmen M. Retinal nerve fiber and optic disc morphology using spectral-domain optical coherence tomography in scleroderma patients. *Eur J Ophthalmol*. (2017) 27:281–4. doi: 10.5301/ejo.5000827
- Allanore Y, Parc C, Monnet D, Brézin AP, Kahan A. Increased prevalence of ocular glaucomatous abnormalities in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. (2004) 63:1276–8. doi: 10.1136/ard.2003.013540
- Kitsos G, Tsifetaki N, Gorezis S, Drosos AA. Glaucomatous type abnormalities in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. (2007) 25:341.
- Gomes BF, Souza R, Valadao T, Kara-Junior N, Moraes HV, Santhiago MR. Is there an association between glaucoma and capillaroscopy in patients with systemic sclerosis? *Int Ophthalmol*. (2018) 38:251–6. doi: 10.1007/s10792-017-0454-1
- Hayreh SS. In vivo choroidal circulation and its watershed zones. *Eye (Lond)*. (1990) 4:273–89. doi: 10.1038/eye.1990.39
- Farkas TG, Sylvester V, Archer D. The choroidopathy of progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Am J Ophthalmol*. (1972) 74:875–86. doi: 10.1016/0002-9394(72)91208-1
- Steiner M, Esteban-Ortega MDM, Muñoz-Fernández S. Choroidal and retinal thickness in systemic autoimmune and inflammatory diseases: a review. *Surv Ophthalmol*. (2019) 64:757–69. doi: 10.1016/j.survophthal.2019.04.007
- Serup L, Serup J, Hagdrup H. Fundus fluorescein angiography in generalized scleroderma. *Ophthalmic Res*. (1987) 19:303–8. doi: 10.1159/000265512
- Ingegnoli F, Gualtierotti R, Pierro L, Del Turco C, Miserocchi E, Schioppo T, et al. Choroidal impairment and macular thinning in patients with systemic sclerosis: the acute study. *Microvasc Res*. (2015) 97:31–6. doi: 10.1016/j.mvr.2014.08.008
- Coşkun E, Zengin O, Kenan S, Kimyon G, Erdogan Er K, Okumus S, et al. Evaluation of choroidal thickness in patients with scleroderma. *Eye (Lond)*. (2016) 30:588–92. doi: 10.1038/eye.2015.287
- Esen E, Tas DA, Sizmaz S, Turk I, Unal I, Demircan N. Evaluating choroidal characteristics in systemic sclerosis using enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Ocul Immunol Inflamm*. (2017) 25:356–62. doi: 10.3109/09273948.2015.1129424
- Aydin E, Atik S, Koc F, Balikoglu-Yilmaz M, Akin Sari S, Ozmen M, et al. Choroidal and central foveal thickness in patients with scleroderma and its systemic associations. *Clin Exp Optom*. (2017) 100:656–62. doi: 10.1111/cxo.12498
- Kaymaz S, Halil Y, Kaya H, Karasu U, Cobankara V. The relationship of ocular parameters with clinical parameters and disease-related quality of life in patients with systemic sclerosis: a cross-sectional study. *Int J Rheum Dis*. (2021) 24:1308–16. doi: 10.1111/1756-185X.14216
- Carnevali A, Giannaccare G, Gatti V, Battaglia C, Randazzo G, Yu AC, et al. Retinal microcirculation abnormalities in patients with systemic sclerosis: an explorative optical coherence tomography angiography study. *Rheumatology (Oxford)*. (2021) 60:5827–32. doi: 10.1093/rheumatology/keab258
- Ranjbar M, Rothe M, Klapa S, Lange T, Prasuhn M, Grisanti S, et al. Evaluation of choroidal substructure perfusion in patients affected by systemic sclerosis: an optical coherence tomography angiography study. *Scand J Rheumatol*. (2020) 49:141–5. doi: 10.1080/03009742.2019.1641616
- Küçük MF, Yaprak L, Erol MK, Ayan A, Kök M. Evaluations of the radial peripapillary, macular and choriocapillaris microvasculature using optical coherence tomography angiography in patients with systemic sclerosis. *J Fr Ophthalmol*. (2022) 45:81–92. doi: 10.1016/j.jfo.2021.06.009
- Kılınc Hekimsöy H, Şekeroğlu MA, Koçer AM, Akdoğan A. Analysis of retinal and choroidal microvasculature in systemic sclerosis: an optical coherence tomography angiography study. *Eye (Lond)*. (2020) 34:763–70. doi: 10.1038/s41433-019-0591-z
- Rommel F, Prangel D, Prasuhn M, Grisanti S, Ranjbar M. Correlation of retinal and choroidal microvascular impairment in systemic sclerosis. *Orphanet J Rare Dis*. (2021) 16:27. doi: 10.1186/s13023-020-01649-5
- Kök M, Ayan A, Fatih Küçük M, Erol MK, Yaprak L. Evaluation of the direct effects on retinal and choroidal microvasculature of systemic scleroderma. *Microvasc Res*. (2021) 136:104166. doi: 10.1016/j.mvr.2021.104166
- Ataş F, Kaya M, Ayhan Z, Ozkan O, Birlık M. Evaluation of choroidal vascularity index in systemic sclerosis patients. *Photodiagn Photodyn Ther*. (2023) 41:103297. doi: 10.1016/j.pdpdt.2023.103297
- van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. (2013) 72:1747–55. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204424
- Deshpande G, Gupta R, Bawankule P, Raje D, Chakarborty M. Structural evaluation of preperimetric and perimetric glaucoma. *Indian J Ophthalmol*. (2019) 67:1843–9. doi: 10.4103/ijo.IJO_1955_18
- Smith V, Herrick AL, Ingegnoli F, Damjanov N, De Angelis R, Denton CP, et al. Standardisation of nailfold capillaroscopy for the assessment of patients with Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Autoimmun Rev*. (2020) 19:102458. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102458
- Sonoda S, Sakamoto T, Yamashita T, Shirasawa M, Uchino E, Terasaki H, et al. Choroidal structure in normal eyes and after photodynamic therapy determined by binarization of optical coherence tomographic images. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. (2014) 55:3893–9. doi: 10.1167/iovs.14-14447
- Sigal JA, Schuman JS, Ishikawa H, Kagemann L, Wollstein G. A problem of proportions in OCT-based morphometry and a proposed solution. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. (2016) 57:484–5. doi: 10.1167/iovs.15-18570
- Agrawal R, Salman M, Tan KA, Karampelas M, Sim DA, Keane PA, et al. Choroidal Vascularity Index (CVI) – a novel optical coherence tomography parameter for monitoring patients with panuveitis? *PLoS One*. (2016) 11:e0146344. doi: 10.1371/journal.pone.0146344
- Zhang Z, Yu M, Wang F, Dai Y, Wu Z. Choroidal thickness and open-angle glaucoma: a meta-analysis and systematic review. *J Glaucoma*. (2016) 25:e446–54. doi: 10.1097/IJG.0000000000000275
- Hirooka K, Tenkumo K, Fujiwara A, Baba T, Sato S, Shiraga F. Evaluation of peripapillary choroidal thickness in patients with normal-tension glaucoma. *BMC Ophthalmol*. (2012) 12:29. doi: 10.1186/1471-2415-12-29

36. Park JH, Yoo C, Kim YY. Peripapillary choroidal thickness in untreated normal-tension glaucoma eyes with a single-hemifield retinal nerve fiber layer defect. *Medicine (Baltimore)*. (2018) 97:e11001. doi: 10.1097/MD.00000000000011001
37. Lin Z, Huang S, Huang P, Guo L, Shen X, Zhong Y. The diagnostic use of choroidal thickness analysis and its correlation with visual field indices in glaucoma using spectral domain optical coherence tomography. *PLoS One*. (2017) 12:e0189376. doi: 10.1371/journal.pone.0189376
38. Pablo LE, Cameo B, Bambo MP, Polo V, Larrosa JM, Fuertes MI, et al. Peripapillary choroidal thickness analysis using swept-source optical coherence tomography in glaucoma patients: a broader approach. *Ophthalmic Res*. (2018) 59:7–13. doi: 10.1159/000479877
39. Killer HE, Pircher A. Normal tension glaucoma: review of current understanding and mechanisms of the pathogenesis. *Eye (Lond)*. (2018) 32:924–30. doi: 10.1038/s41433-018-0042-2
40. Wang W, Zhang X. Choroidal thickness and primary open-angle glaucoma: a cross-sectional study and meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. (2014) 55:6007–14. doi: 10.1167/iovs.14-14996
41. Song YJ, Kim YK, Jeoung JW, Park KH. Assessment of open-angle glaucoma peripapillary and macular choroidal thickness using swept-source optical coherence tomography (SS-OCT). *PLoS One*. (2016) 11:e0157333. doi: 10.1371/journal.pone.0157333
42. Song YJ, Kim YK, Jeoung JW, Park KH. Assessment of peripapillary choroidal thickness in primary open-angle glaucoma patients with choroidal vascular prominence. *Jpn J Ophthalmol*. (2017) 61:448–56. doi: 10.1007/s10384-017-0535-8
43. Hayreh SS. Blood flow in the optic nerve head and factors that may influence it. *Prog Retin Eye Res*. (2001) 20:595–624. doi: 10.1016/S1350-9462(01)00005-2
44. Iovino C, Pellegrini M, Bernabei F, Borrelli E, Sacconi R, Govetto A, et al. Choroidal vascularity index: an in-depth analysis of this novel optical coherence tomography parameter. *J Clin Med*. (2020) 9:595. doi: 10.3390/jcm9020595
45. Agrawal R, Ding J, Sen P, Rousselot A, Chan A, Nivison-Smith L, et al. Exploring choroidal angioarchitecture in health and disease using choroidal vascularity index. *Prog Retin Eye Res*. (2020) 77:100829. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100829
46. Dmuchowska DA, Sidorczuk P, Pieklarz B, Konopińska J, Mariak Z, Obuchowska I. Quantitative assessment of choroidal parameters in patients with various types of diabetic macular oedema: a single-centre cross-sectional analysis. *Biology (Basel)*. (2021) 10:725. doi: 10.3390/biology10080725
47. Sidorczuk P, Pieklarz B, Konopińska J, Saeed E, Mariak Z, Dmuchowska D. Foveal avascular zone does not correspond to choroidal characteristics in patients with diabetic retinopathy: a single-center cross-sectional analysis. *Diabetes Metab Syndr Obes*. (2021) 14:2893–903. doi: 10.2147/DMSO.S318860
48. Agrawal R, Gupta P, Tan KA, Cheung CM, Wong TY, Cheng CY. Choroidal vascularity index as a measure of vascular status of the choroid: measurements in healthy eyes from a population-based study. *Sci Rep*. (2016) 6:21090. doi: 10.1038/srep21090
49. Koçak N, Subaşı M, Yeter V. Effects of age and binarising area on choroidal vascularity index in healthy eyes: an optical coherence tomography study. *Int Ophthalmol*. (2021) 41:825–34. doi: 10.1007/s10792-020-01636-6
50. Guduru A, Rasheed MA, Goud A, Vupparaboina KK, Agrawal R, Lupidi M. Peripapillary choroidal vascularity quantification and characterization in healthy individuals. *Nepal J Ophthalmol*. (2020) 12:48–55. doi: 10.3126/nepjoph.v12i1.25188
51. Polska E, Simader C, Weigert G, Doelemeyer A, Kolodjaschna J, Scharmann O, et al. Regulation of choroidal blood flow during combined changes in intraocular pressure and arterial blood pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. (2007) 48:3768–74. doi: 10.1167/iovs.07-0307
52. Huang W, Wang W, Zhou M, Chen S, Gao X, Fan Q, et al. Peripapillary choroidal thickness in healthy Chinese subjects. *BMC Ophthalmol*. (2013) 13:23. doi: 10.1186/1471-2415-13-23
53. Lin PW, Chang HW, Lin JP, Lai IC. Analysis of peripapillary retinal nerve fiber layer and inner macular layers by spectral-domain optical coherence tomography for detection of early glaucoma. *Int J Ophthalmol*. (2018) 11:1163–72. doi: 10.18240/ijo.2018.07.15
54. Kılınc Hekimsoy H, Şekeröglü AM, Koçer AM, Hekimsoy V, Akdoğan A. Evaluation of the optic nerve head vessel density in patients with limited scleroderma. *Ther Adv Ophthalmol*. (2021) 13:251584142199538. doi: 10.1177/2515841421995387
55. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. (2000) 27:155–60.
56. Shenavandeh S, Afarid M, Hasanaghaei T, Nazarinia MA. Prevalence of retinal changes in patients with systemic sclerosis: the association between retinal vascular changes and nailfold capillaroscopic findings. *Reumatologia*. (2021) 59:27–34. doi: 10.5114/reum.2021.103436
57. Yu DY, Yu PK, Cringle SJ, Kang MH, Su EN. Functional and morphological characteristics of the retinal and choroidal vasculature. *Prog Retin Eye Res*. (2014) 40:53–93. doi: 10.1016/j.preteyeres.2014.02.001
58. Delaey C, Van De Voorde J. Regulatory mechanisms in the retinal and choroidal circulation. *Ophthalmic Res*. (2000) 32:249–56. doi: 10.1159/000055622
59. Fard MA, Abdi P, Kasaei A, Soltani Mogaddam R, Afzali M, Moghimi S. Peripapillary choroidal thickness in nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. (2015) 56:3027–33. doi: 10.1167/iovs.14-15661
60. Vuong VS, Moisseiev E, Cunefare D, Farsiu S, Moshiri A, Yiu G. Repeatability of choroidal thickness measurements on enhanced depth imaging optical coherence tomography using different posterior boundaries. *Am J Ophthalmol*. (2016) 169:104–12. doi: 10.1016/j.ajo.2016.06.023
61. Vidas S, Popović-Suić S, Novak Lauš K, Jandroković S, Tomić M, Jukić T, et al. Analysis of ganglion cell complex and retinal nerve fiber layer thickness in glaucoma diagnosis. *Acta Clin Croat*. (2017) 56:382–90. doi: 10.20471/acc.2017.56.03.04

6.2.1 Materiały uzupełniające



Supplementary Tables

Table S1. Correlations between peripapillary RNFL thickness with both peripapillary choroidal vascular index and peripapillary choroidal thickness values in controls and patients with SSc

Characteristic			Control group		SSc		dcSSc		lcSSc	
			rho	p	rho	p	rho	p	rho	p
pRNFL G	vs.	pCVI	-0.14	0.373	0.09	0.608	0.25	0.265	-0.52	0.107
pRNFL G	vs.	pCT G	0.09	0.563	-0.09	0.629	0.04	0.866	-0.42	0.203

Abbreviations: SSc, systemic sclerosis; dcSSc, diffuse SSc; lcSSc, limited SSc; pRNFL G, peripapillary retinal nerve fiber layer global; pCVI, peripapillary choroidal vascularity index; pCT G, peripapillary choroidal thickness global.

rho - Pearson's or Spearman's correlation coefficient; Only one eye per patient included into the analysis (eyes with better quality of OCT images selected).

Table S2. Correlations between intraocular pressure and mean arterial pressure with peripapillary choroidal thickness in controls and SSc patients.

Characteristic			Control group		SSc group	
			rho	p	rho	p
IOP	vs.	pCT G	0,02	0,894	0,04	0,836
IOP	vs.	pCT S	-0,06	0,733	0,01	0,961
IOP	vs.	pCT I	0,08	0,634	0,12	0,568
IOP	vs.	pCT T	-0,02	0,924	-0,01	0,976
IOP	vs.	pCT N	0,13	0,442	0,04	0,836
MAP	vs.	pCT G	-0,24	0,300	-0,17	0,556
MAP	vs.	pCT S	-0,21	0,366	-0,30	0,292
MAP	vs.	pCT I	-0,43	0,061	-0,02	0,940
MAP	vs.	pCT T	0,11	0,636	-0,19	0,518
MAP	vs.	pCT N	-0,31	0,188	-0,12	0,684

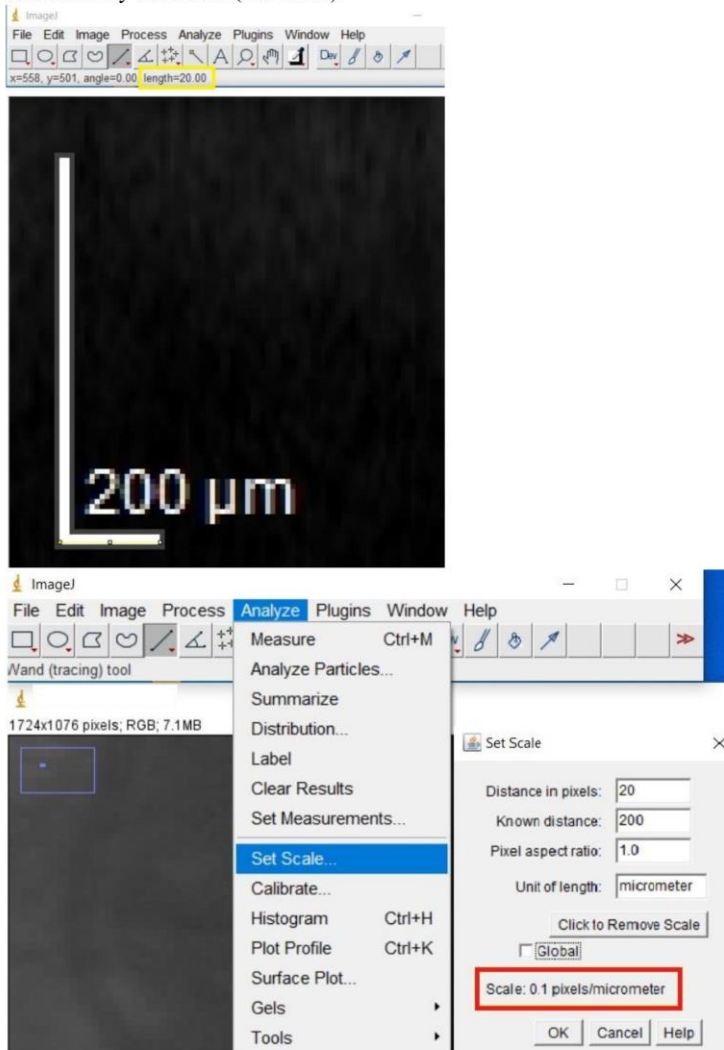
Abbreviations: SSc, systemic sclerosis; IOP, intraocular pressure; MAP, mean arterial pressure; pCT, peripapillary choroidal thickness, G, global; S, superior quadrant; I, inferior quadrant; T, temporal quadrant; N, nasal quadrant.

rho - Pearson's or Spearman's correlation coefficient; Only one eye per patient included into the analysis (eyes with better quality of OCT images selected).

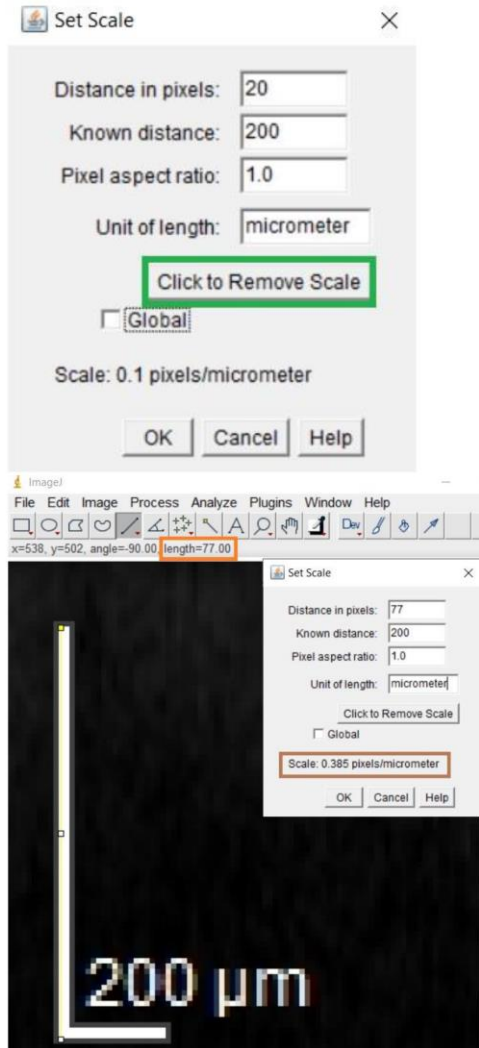
Supplementary Material

STEP-BY-STEP binarization of images and choroidal vascularity index (CVI) calculations

1. The 1 x 1 pixel image of the peripapillary OCT scan (3.5 mm diameter, 360 degree circle scan centered on the optic nerve) (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) was opened in ImageJ software (<https://imagej.nih.gov/ij>, version 1.53k, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).
2. The scale was set as follows; the image was enlarged and the line tool was used to measure a pixel length of 200 μm , as given in the horizontal scale at the bottom of the OCT scan.
The known horizontal distance (yellow frame) was entered into the scale-set window. The horizontal scale was automatically calculated (red frame).

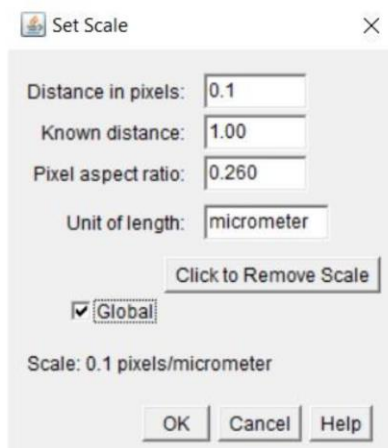


The scale was reset (green frame) and the vertical scale was calculated similarly.

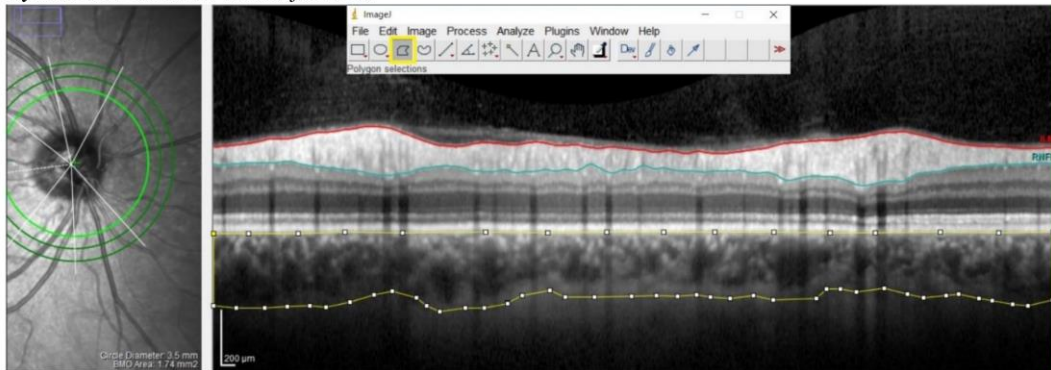


The pixel aspect ratio was calculated by dividing the horizontal pixel values by the vertical pixel values ($20/77=0.25974026$).

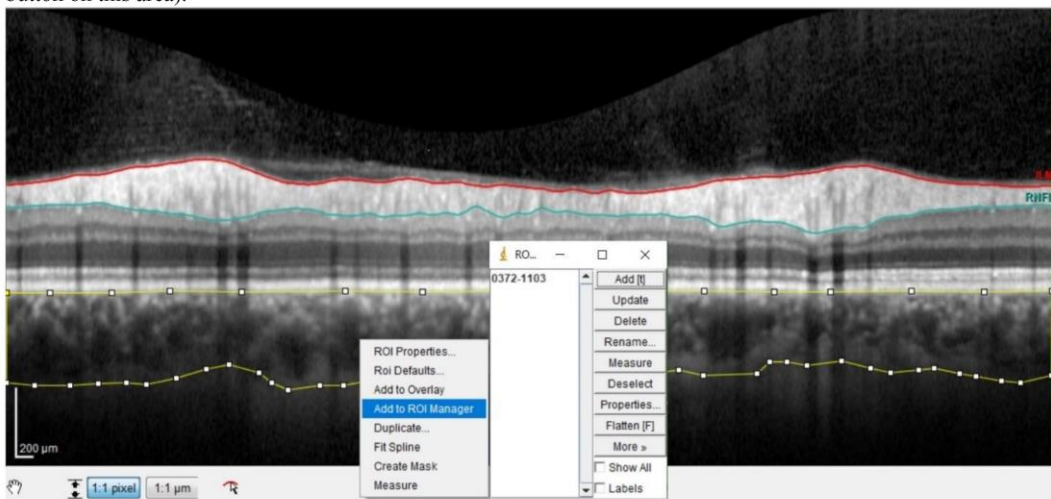
Once again, the horizontal scale was entered and the rounded result of the pixel aspect ratio (0.26) was entered into the pixel aspect ratio window. The unit of length was micrometers. For further image analyses, the “global” option was checked.



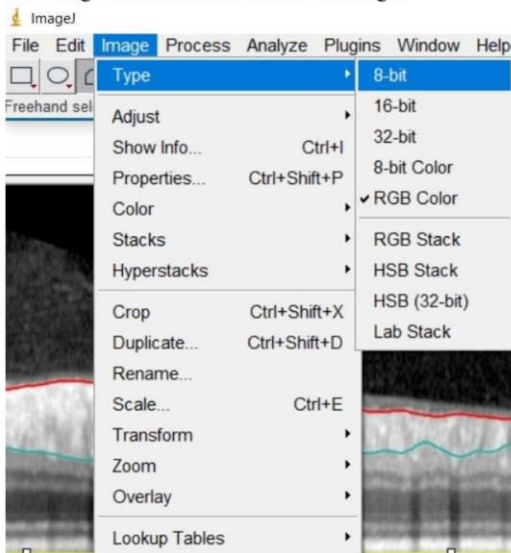
- The Polygon tool (yellow frame) was used to select the area between the outer boundary of the RPE–Bruch’s membrane layer and the choroidal–scleral junction.



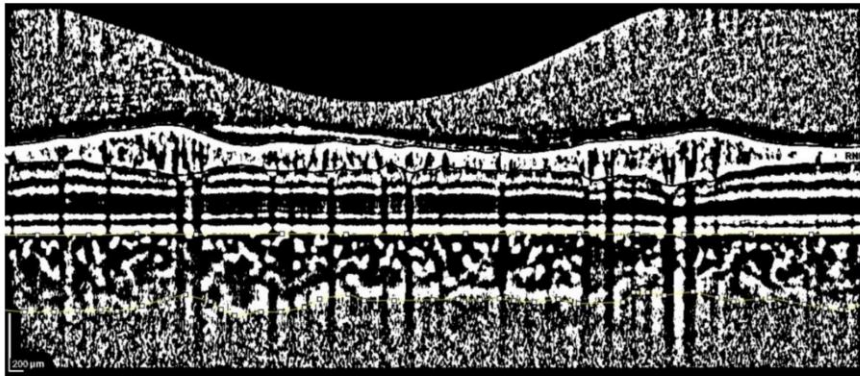
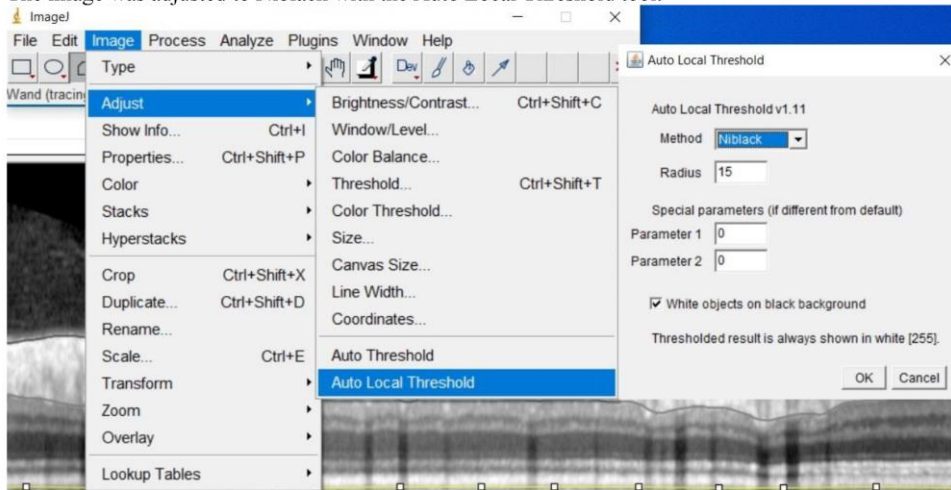
- The polygon area representing the region of interest (ROI) was added to the ROI manager (by clicking the left mouse button on this area).



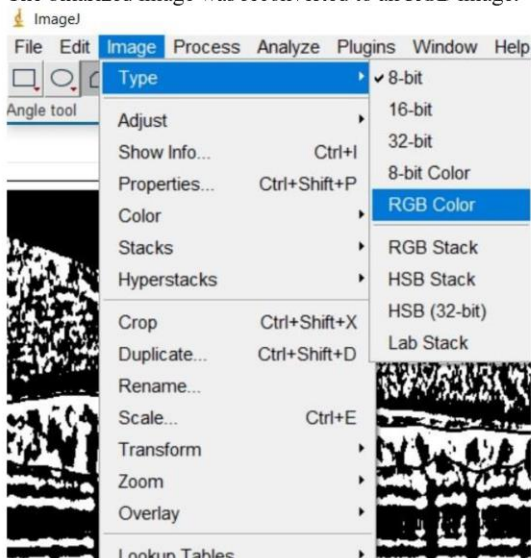
- The image was converted to an 8-bit image.



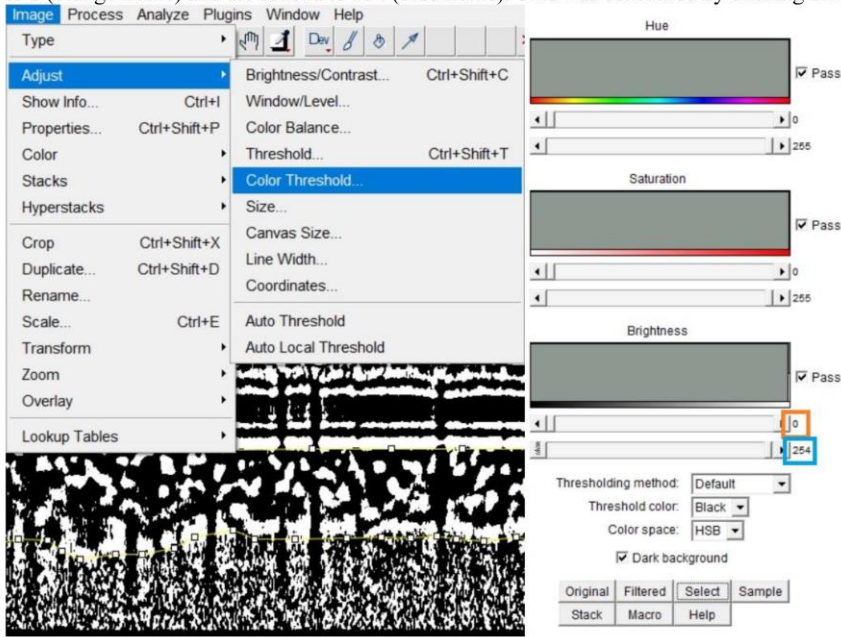
6. The image was adjusted to Niblack with the Auto Local Threshold tool.



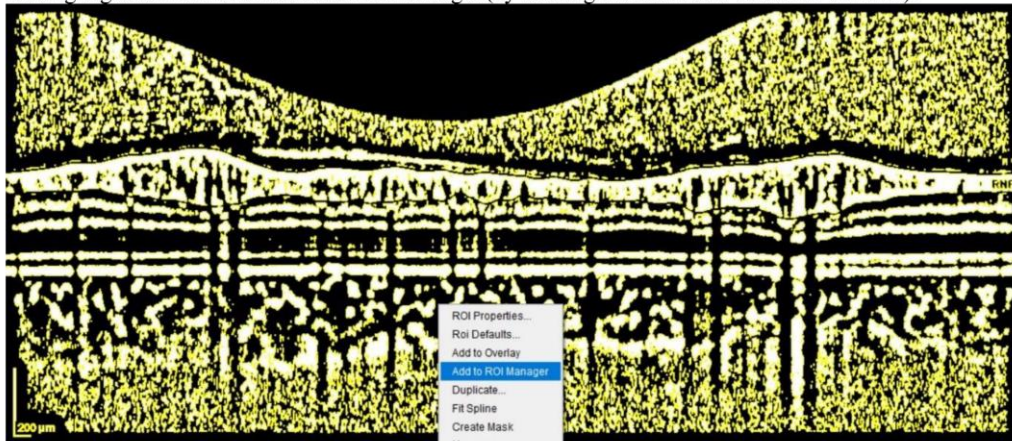
7. The binarized image was reconverted to an RGB image.



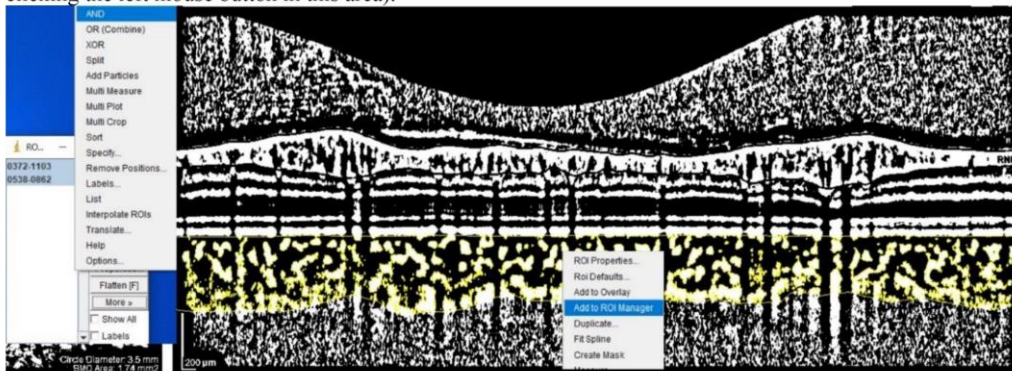
- The area of vascularity was highlighted by selecting the Color Threshold tool. The first bar under brightness was adjusted to 0 (orange frame) and the second to 254 (blue frame). This was confirmed by clicking SELECT.



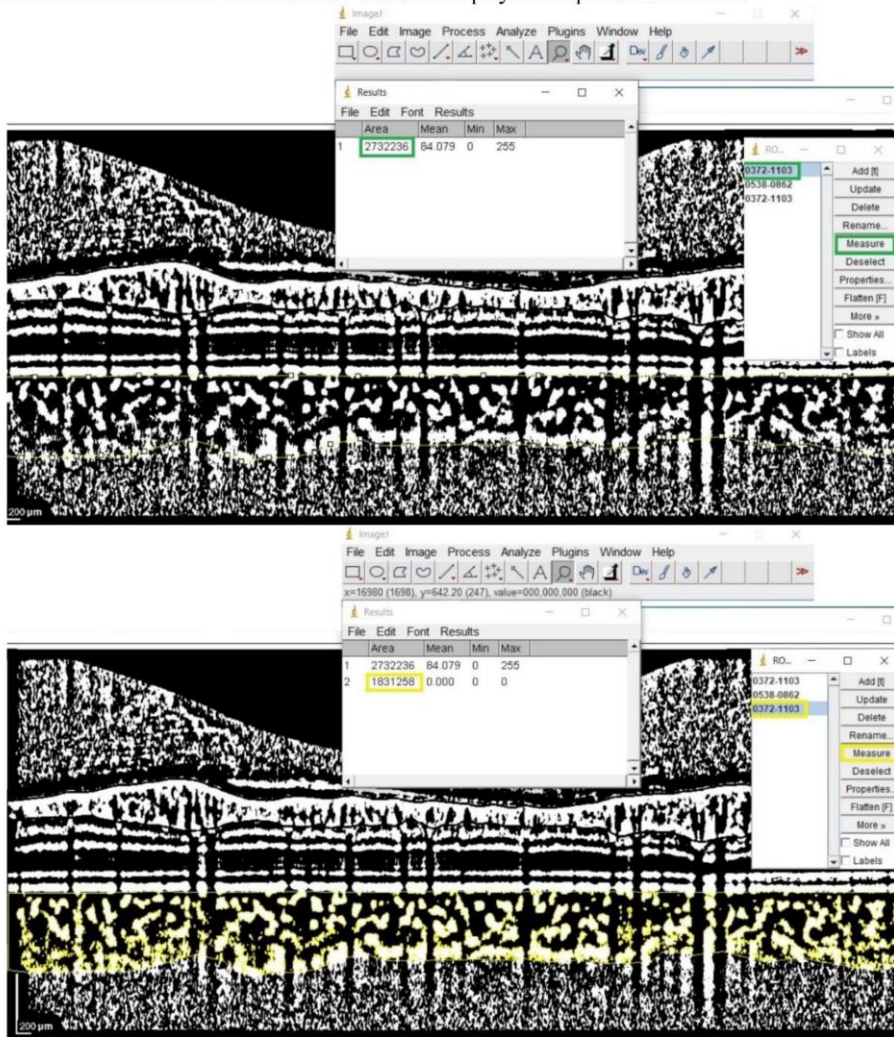
- The highlighted area was added to the ROI manager (by clicking the left mouse button on this area).



- Both areas in the ROI manager were selected by holding the CTRL button on the keyboard and merged by selecting More < AND. In the next step, the highlighted area within the selected polygon was added to the ROI manager (by clicking the left mouse button in this area).



11. Lastly, the first area (green frame), corresponding to the peripapillary total choroidal area (pTCA), and the third area (yellow frame), which represents the peripapillary luminal area (pLA), were measured in the ROI manager by clicking the button MEASURE. The measured areas are displayed in square micrometers.



12. The peripapillary stromal area (pSA) was obtained after subtraction of the pLA from the pTCA ($2732236 - 1831258 = 900978 \mu\text{m}^2$).
13. The peripapillary choroidal vascularity index (pCVI) was calculated as $(\text{pLA}/\text{pTCA}) \times 100\%$: $(1831258/2732236) \times 100\% = 67.02\%$.

7 Streszczenie

Twardzina układowa SSc (*systemic sclerosis*) to choroba autoimmunologiczna, charakteryzująca się zaburzeniami w obrębie mikrokrążenia, złożoną reakcją zapalną i rozlanym włóknieniem skóry i narządów wewnętrznych. Zmiany w przebiegu twardziny układowej mogą dotyczyć narządu wzroku, obejmując przydatki, przedni oraz tylny odcinek oka, w tym naczyniówkę. Naczyniówka składa się z gęstej sieci naczyń krwionośnych oraz zrębu zbudowanego z tkanki łącznej. Wraz z rozwojem technologii optycznej koherentnej tomografii (*OCT*) oraz wprowadzeniem skanowania metodą EDI-OCT (*enhanced depth imaging-OCT*) stała się ona przedmiotem wielu badań. Przyczyniło się to do poszerzenia wiedzy na temat patomechanizmów zmian morfologicznych naczyniówki w przebiegu wielu chorób siatkówki, naczyniówki, a także chorób ogólnoustrojowych.

Celem naszych badań było poznanie patogenezы zmian w obrębie naczyniówki oraz ocena ich związku z parametrami klinicznymi pacjentów z twardziną układową. Stwierdzenie takiej zależności i identyfikacja biomarkerów mogłyby znaleźć praktyczne zastosowanie w ocenie aktywności, zaawansowania oraz progresji choroby. Analizie poddano dwa istotne obszary w obrębie naczyniówki, obszar plamkowy oraz okołotarczowy. W plamce oznaczono grubości oraz objętości naczyniówki na obszarze o średnicy 6 mm, w 9 polach ETDRS (*Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study*). Natomiast w obszarze okołotarczowym, oprócz grubości RNFL (*retinal nerve fiber layer*), oznaczono grubość naczyniówki okołotarczowej. Badanie uzupełniono o nowy, ilościowy wskaźnik, odzwierciedlający ocenę poszczególnych składowych naczyniówki – naczyniówkowy wskaźnik naczyniowy CVI (*choroidal vascularity index*). Tak szeroka ocena parametrów naczyniówki wypełnia lukę w piśmiennictwie w tym zakresie oraz poszerza wiedzę na temat patogenezы zmian w obrębie naczyniówki w przebiegu twardziny układowej.

Prospektywne, przekrojowe badanie na ten temat przeprowadzono w Klinice Okulistyki Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego (USK) w Białymstoku. Włączono do niego 33 pacjentów (66 oczu), hospitalizowanych w Klinice Reumatologii oraz Chorób Wewnętrznych USK w Białymstoku, z rozpoznaniem twardziny układowej: postaci uogólnionej dSSc (*diffuse systemic sclerosis*) lub ograniczonej lSSc (*limited systemic sclerosis*), zgodnie z kryteriami 2013 ACR/EULAR (*American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism*). Grupę odniesienia stanowiło

40 zdrowych osób (80 oczu). Grupy nie różniły się istotnie pod względem wieku, płci, długości gałki ocznej.

Pacjentów poddano szczegółowemu badaniu okulistycznemu oraz wykonano u nich badanie OCT siatkówki oraz naczyńiówki (SD-OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Niemcy). Zebrano dane kliniczne: płeć, wiek, czas trwania choroby, palenie tytoniu, stosowane leki, obecność innych objawów ogólnych (owrzodzenie paliczków, choroba śródmiąższowa płuc, wskaźniki stanu zapalnego, uszkodzenie mięśnia sercowego, zajęcie stawów). Wykonano badanie kapilaroskopowe, kwalifikując chorych do 3 grup, w oparciu o kryteria zaproponowane przez Cutolo: wczesna, aktywna oraz późna postać choroby.

Wykazano istotnie mniejszą grubość naczyńiówki w plamce u pacjentów z twardziną układową. Podołkowa grubość naczyńiówki SFCT (*subfoveal choroidal thickness*) również okazała się istotnie mniejsza, niż w grupie porównawczej ($p < 0.05$). Wykazano istotnie niższe wartości objętości naczyńiówki ($p < 0.05$). Wartość CVI okazała się istotnie wyższa u pacjentów z twardziną układową, z kolei wartości TCA (*total choroidal area*), LA (*luminal area*) oraz SA (*stromal area*) były istotnie niższe w grupie badanej, niż w grupie porównawczej ($p < 0.05$), ale różnica wartości SA była najsilniej wyrażona. Nie wykazano istotnych różnic w parametrach naczyńiówki między grupami dSSc oraz ISSc. Parametry te nie różniły się również w oczach pacjentów, sklasyfikowanych jako wczesna, aktywna lub późna postać choroby. Grubość naczyńiówki okołotarczowej oraz grubość RNFL nie różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami. Wykazano znamienne niższą wartość pCVI (*peripapillary CVI*) w grupie z twardziną układową niż w grupie porównawczej ($p < 0.001$). Wartość pCVI nie różniła się pomiędzy grupami dSSc i ISSc ($p > 0.05$). Nie stwierdzono istotnego związku pomiędzy zmianami parametrów naczyńiówki plamkowej oraz okołotarczowej a parametrami klinicznymi, które mogłyby odzwierciedlać stopień zaawansowania oraz aktywność choroby u pacjentów z twardziną układową.

Podsumowując, wykazane zmiany w parametrach morfologicznych naczyńiówki potwierdzają objęcie jej procesem chorobowym w przebiegu twardziny układowej. Wyższa wartość CVI w obszarze plamkowym wskazuje na przewagę patologii w obrębie zrębu naczyńiówki nad zmianami naczyniowymi na tym obszarze.

Jest to nowe spojrzenie na patomechanizm, prowadzący do ścieńczenia naczyńki. Natomiast niższa wartość pCVI w obszarze okołotarczowym może być wynikiem uszkodzenia mikrokrazenia naczyńki, co częściowo wyjaśnia częstsze występowanie jaskry, zwłaszcza normalnego ciśnienia, u pacjentów z twardziną układową.

8 Summary

Systemic sclerosis (*SSc*) is an autoimmune disease characterized by microvascular abnormalities, a multifactorial complex inflammatory reaction, and widespread fibrosis affecting the skin and various organs. The ocular adnexa and the anterior and posterior segments of the eye, including the choroid, can be affected by pathological alterations during the progression of *SSc*. The choroid is comprised of a tightly packed network of blood vessels and a stroma made up of connective tissue. The advent of optical coherence tomography (*OCT*) technology and the implementation of enhanced depth imaging (*EDI-OCT*) have led to a surge in research focused on the choroid. The results of these studies have greatly contributed to our understanding of the underlying mechanisms behind alterations in choroidal morphology associated with various retinal, choroidal, and systemic diseases.

This study aimed to investigate the pathogenesis of choroidal lesions and to assess their relationship with clinical parameters in patients with *SSc*. Understanding this relationship could help in evaluating the activity and stage of the disease. The analysis focused on the macular and peripapillary areas of the choroid. For the macular area, the thickness and volume of the choroid were measured within a 6 mm diameter, in each subfield of the conventional Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study grid (*ETDRS*). For the peripapillary area, measurements of the retinal nerve fiber layer (*RNFL*) and peripapillary choroidal thickness were included in the analysis. Furthermore, the study incorporated a novel quantitative parameter for assessing both components of the choroid: the choroidal vascularity index (*CVI*). This comprehensive evaluation of choroidal parameters fills a gap in the literature and advances our understanding of the underlying mechanisms of choroidal involvement in *SSc*.

This was a prospective single-center, cross-sectional study conducted in the Ophthalmology Department of the Medical University of Bialystok. The study involved 33 *SSc* patients (66 eyes) admitted to the Department of Rheumatology and Internal Diseases of the Medical University of Bialystok. Based on the 2013 ACR/EULAR (*American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism*) *SSc* criteria, patients were diagnosed with diffuse *SSc* (*dSSc*) or limited *SSc* (*lSSc*). The control group was composed of 40 patients (80 eyes). The groups did not differ with regard to age, sex, and axial length. All participants underwent ophthalmological examination and OCT (*SD-OCT, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg*,

Germany) of the retina and choroid was performed. Data regarding age, sex, disease duration, smoking status, and medication were recorded. History of digital ulcers, the presence of interstitial lung disease, cardiac involvement, and joint involvement were also included in the analysis. Nailfold capillaroscopy was performed, and patients were stratified according to capillaroscopic pattern features as early, active, or late SSc, as proposed by Cutolo et al.

Significantly lower choroidal thicknesses were found in the macula of patients with SSc. Subfoveal choroidal thicknesses (*SFCTs*) were also significantly lower than those of the control group ($p < 0.05$). Consequently, significantly lower choroidal volume values were observed ($p < 0.05$). CVI value was significantly higher in patients with SSc, while total choroidal area (*TCA*), luminal area (*LA*), and stromal area (*SA*) values were lower in the study group than in the control group ($p < 0.05$). It is worth noting that differences in SA value were particularly pronounced. There were no significant differences in choroidal parameters between the dSSc and lSSc groups. These parameters also did not differ in the eyes of patients stratified according to early, active, or late capillaroscopic patterns. While a significantly lower pCVI (*peripapillary CVI*) value was found in patients with SSc ($p < 0.001$), no significant differences were observed in peripapillary choroidal thickness and RNFL thickness between the study groups. No significant differences in pCVI were found between the dSSc and lSSc groups ($p > 0.05$). In addition, no clinically significant relationship was found between changes in the choroidal morphology in the macula and peripapillary region and clinical parameters that could reflect disease stage and activity in patients with SSc.

To summarize, the observed alterations in the morphological parameters of the choroid confirmed choroidal impairment in patient with SSc. A higher CVI value in the macular area may indicate that stromal involvement predominates over the vascular component. This finding provides novel insights into the thinning of the choroid in patients with SSc. In contrast, a statistically significant decrease in peripapillary CVI is likely due to a decrease in the vascular layer, which could partially explain the increased susceptibility to glaucoma, particularly normal-tension glaucoma, in SSc patients.

9 Piśmiennictwo

1. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet*. 2017;390(10103):1685-99.
2. Cutolo M, Soldano S, Smith V. Pathophysiology of systemic sclerosis: current understanding and new insights. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019;15(7):753-64.
3. van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(11):1747-55.
4. Gomes Bde A, Santhiago MR, Magalhães P, Kara-Junior N, Azevedo MN, Moraes HV, Jr. Ocular findings in patients with systemic sclerosis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(3):379-85.
5. Kozikowska M, Luboń W, Kucharz EJ, Mrukwa-Kominek E. Ocular manifestations in patients with systemic sclerosis. *Reumatologia*. 2020;58(6):401-6.
6. Szucs G, Szekanecz Z, Aszalos Z, Gesztelyi R, Zsuga J, Szodoray P, et al. A Wide Spectrum of Ocular Manifestations Signify Patients with Systemic Sclerosis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2021;29(1):81-9.
7. Kitsos G, Tsifetaki N, Gorezis S, Drosos AA. Glaucomatous type abnormalities in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2007;25(2):341.
8. Gabrielli A, Avvedimento EV, Krieg T. Scleroderma. *N Engl J Med*. 2009;360(19):1989-2003.
9. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2000;27(1):155-60.
10. Hayreh SS. In vivo choroidal circulation and its watershed zones. *Eye (Lond)*. 1990;4 (Pt 2):273-89.
11. Agrawal R, Ding J, Sen P, Rousselot A, Chan A, Nivison-Smith L, et al. Exploring choroidal angioarchitecture in health and disease using choroidal vascularity index. *Prog Retin Eye Res*. 2020;77:100829.

12. Coşkun E, Zengin O, Kenan S, Kimyon G, Erdogan Er K, Okumus S, et al. Evaluation of choroidal thickness in patients with scleroderma. *Eye (Lond)*. 2016;30(4):588-92.
13. Kılınç Hekimsoy H, Şekeroğlu MA, Koçer AM, Akdoğan A. Analysis of retinal and choroidal microvasculature in systemic sclerosis: an optical coherence tomography angiography study. *Eye (Lond)*. 2020;34(4):763-70.
14. Kaymaz S, Halil Y, Kaya H, Karasu U, Cobankara V. The relationship of ocular parameters with clinical parameters and disease-related quality of life in patients with systemic sclerosis: A cross-sectional study. *Int J Rheum Dis*. 2021;24(10):1308-16.
15. Esen E, Tas DA, Sizmaz S, Turk I, Unal I, Demircan N. Evaluating Choroidal Characteristics in Systemic Sclerosis Using Enhanced Depth Imaging Optical Coherence Tomography. *Ocul Immunol Inflamm*. 2017;25(3):356-62.
16. Ingegnoli F, Gualtierotti R, Pierro L, Del Turco C, Miserochi E, Schioppo T, et al. Choroidal impairment and macular thinning in patients with systemic sclerosis: the acute study. *Microvasc Res*. 2015;97:31-6.
17. Kök M, Ayan A, Fatih Küçük M, Erol MK, Yaprak L. Evaluation of the direct effects on retinal and choroidal microvasculature of systemic scleroderma. *Microvasc Res*. 2021;136:104166.
18. Ranjbar M, Rothe M, Klapa S, Lange T, Prasuhn M, Grisanti S, et al. Evaluation of choroidal substructure perfusion in patients affected by systemic sclerosis: an optical coherence tomography angiography study. *Scand J Rheumatol*. 2020;49(2):141-5.
19. Rommel F, Prangel D, Prasuhn M, Grisanti S, Ranjbar M. Correlation of retinal and choroidal microvascular impairment in systemic sclerosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16(1):27.
20. Steiner M, Esteban-Ortega MDM, Muñoz-Fernández S. Choroidal and retinal thickness in systemic autoimmune and inflammatory diseases: A review. *Surv Ophthalmol*. 2019;64(6):757-69.
21. Lundberg K, Vergmann AS, Vestergaard AH, Jacobsen N, Goldschmidt E, Peto T, et al. A comparison of two methods to measure choroidal thickness by enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Acta Ophthalmol*. 2019;97(1):118-20.

22. Gupta P, Cheung CY, Saw SM, Bhargava M, Tan CS, Tan M, et al. Peripapillary choroidal thickness in young Asians with high myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(3):1475-81.
23. Zhang Z, Yu M, Wang F, Dai Y, Wu Z. Choroidal Thickness and Open-Angle Glaucoma: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Glaucoma*. 2016;25(5):e446-54.
24. Özdal P, Tugal-Tutkun I. Choroidal involvement in systemic vasculitis: a systematic review. *J Ophthalmic Inflamm Infect*. 2022;12(1):14.
25. Garcia-Martin E, Pablo LE, Bambo MP, Alarcia R, Polo V, Larrosa JM, et al. Comparison of peripapillary choroidal thickness between healthy subjects and patients with Parkinson's disease. *PLoS One*. 2017;12(5):e0177163.
26. Sonoda S, Sakamoto T, Yamashita T, Shirasawa M, Uchino E, Terasaki H, et al. Choroidal structure in normal eyes and after photodynamic therapy determined by binarization of optical coherence tomographic images. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(6):3893-9.
27. Agrawal R, Salman M, Tan KA, Karampelas M, Sim DA, Keane PA, et al. Choroidal Vascularity Index (CVI)--A Novel Optical Coherence Tomography Parameter for Monitoring Patients with Panuveitis? *PLoS One*. 2016;11(1):e0146344.
28. Iovino C, Pellegrini M, Bernabei F, Borrelli E, Sacconi R, Govetto A, et al. Choroidal Vascularity Index: An In-Depth Analysis of This Novel Optical Coherence Tomography Parameter. *J Clin Med*. 2020;9(2).
29. Yang J, Wang X, Wang Y, Li Z, Xia H, Hou Q, et al. CVIS: Automated OCT-scan-based software application for the measurements of choroidal vascularity index and choroidal thickness. *Acta Ophthalmol*. 2022;100(8):e1553-e60.
30. Shi G, Zhang Z, Li Q. New Biomarkers in Autoimmune Disease. *J Immunol Res*. 2017;2017:8702425.
31. Singh SR, Vupparaboina KK, Goud A, Dansingani KK, Chhablani J. Choroidal imaging biomarkers. *Surv Ophthalmol*. 2019;64(3):312-33.
32. Lin Z, Huang S, Xie B, Zhong Y. Peripapillary Choroidal Thickness and Open-Angle Glaucoma: A Meta-Analysis. *J Ophthalmol*. 2016;2016:5484568.

33. Allanore Y, Parc C, Monnet D, Brézin AP, Kahan A. Increased prevalence of ocular glaucomatous abnormalities in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2004;63(10):1276-8.

10 Oświadczenia współautorów

10.1 Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacji I wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu (praca oryginalna)

Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuhowska DA. Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4. Epub ahead of print. PMID: 38133798. IF: 2.70; MEIN: 100

<i>Imię i nazwisko współautora</i>	<i>Charakter udziału</i>	<i>Procentowy wkład</i>
Doktorant – lek. Barbara Pieklarz	Koncepcja badania, współudział w zaprojektowaniu badania, wykonanie części badań, prowadzenie bazy danych, kwerenda literatury, analiza i interpretacja wyników, przygotowanie i edycja manuskryptu, autor korespondencyjny.	51%
Dr n.med. Ewa Gińdzieńska-Sieškiewicz	Przeprowadzenie części badań, współudział w zaprojektowaniu badania, recenzja i edycja manuskryptu.	2%
Lek. Izabela Zawadzka	Przeprowadzenie części badań, recenzja i edycja manuskryptu	1%
Dr n.med. Magdalena Bagrowska	Recenzja i edycja manuskryptu.	1%
Lek. Joanna Daniluk	Recenzja i edycja manuskryptu, wykonanie części badań.	1%
Lek. Marcin Palewski	Analiza wyników, recenzja i edycja manuskryptu.	1%
Lek. Agnieszka Zonenberg	Analiza wyników, recenzja i edycja manuskryptu.	1%
Prof. dr hab. n.med. Otylia Kowal-Bielecka	Współudział w zaprojektowaniu badania, recenzja i edycja manuskryptu	2%
Dr hab. n. med. Joanna Konopińska	Recenzja i edycja manuskryptu.	5%
Dr hab. n. med. Diana Anna Dmuhowska	Koncepcja badania, współudział w zaprojektowaniu badania, kwerenda literatury, analiza i interpretacja wyników, przygotowanie i edycja manuskryptu, autor korespondencyjny.	35%

Oświadczam, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie powyższej publikacji w pracy doktorskiej lek. Barbary Pieklarz.

Podpis doktoranta

Barbara Pieklarz

Białystok, dn. 12.01.2024

Dr n. med. Ewa Gińdzieńska-Sieškiewicz
Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 2% to przeprowadzenie części badań, współudział w zaprojektowaniu badania oraz recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, dn. 15.01.2024

Lek. Izabela Zawadzka
Klinika Okulistyki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchańska DA. *Macular choroïdal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 1% to przeprowadzenie części badań, recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, dn. 12.01.2024

Dr n. med. Magdalena Bagrowska
Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Piekłarz B, Gińdzieńska-Sieśkiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 1% to recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Piekłarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, dn. 24.01.2024

Lek. Joanna Daniluk
Wielospecjalistyczny Szpital Miejski im. Józefa Strusia
z Zakładem Opiekuńczo-Lecznym SP ZOZ w Poznaniu
ul. Szwajcarska 3, 61-285 Poznań

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 1% to recenzja i edycja manuskryptu, wykonanie części badań.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, dn. 15.01.2024

Lek. Marcin Palewski
Klinika Okulistyki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 1% to analiza wyników, recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

M. Palewski

Białystok, dn. 11.02.2024

Lek. Agnieszka Zonenberg
Klinika Okulistyki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 1% to analiza wyników, recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, dn. 12.01.2024

Prof. dr hab. n.med. Otylia Kowal-Bielecka
Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Piekларz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchańska DA. *Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 2% to współudział w zaprojektowaniu badania, recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Piekларz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Prof. dr hab. med.
Otylia Kowal-Bielecka
specjalista chorób wewnętrznych
lekarz reumatolog
4478358



Białystok, dn. 15.01.2024

Dr hab.n.med. J. Konopińska
Klinika Okulistyki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Piekłarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyńiówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 5% to recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Piekłarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Lekarz Kierujący Kliniką
Klinika Okulistyki

dr hab. n. med. Joanna Konopińska

Białystok, dn. 11.02.2024

Dr hab. n.med. Diana Anna Dmuchowska

Klinika Okulistyki

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

ul. J. Kilińskiego 1

15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Palewski M, Zonenberg A, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Macular choroidal thickness, volume, and vascularity index in patients with systemic sclerosis*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00417-023-06342-4, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 35 % to koncepcja badania, współudział w zaprojektowaniu badania, kwerenda literatury, analiza i interpretacja wyników, przygotowanie i edycja manuskryptu, autor korespondencyjny.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

dr hab. n. med.
Diana A. Dmuchowska
specjalista chorób oczu
2342194

10.2 Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacji II wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu (praca oryginalna)

Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorczuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchańska DA. Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438. PMID: 37915331; PMCID: PMC10617027. IF:3.90; MEIN: 100

<i>Imię i nazwisko współautora</i>	<i>Charakter udziału</i>	<i>Procentowy wkład</i>
Doktorant – lek. Barbara Pieklarz	Koncepcja badania, współudział w zaprojektowaniu badania, wykonanie części badań, prowadzenie bazy danych, kwerenda literatury, analiza i interpretacja wyników, przygotowanie i edycja manuskryptu, autor korespondencyjny.	51%
Dr n.med. Ewa Gińdzieńska-Sieškiewicz	Przeprowadzenie części badań, współudział w zaprojektowaniu badania, recenzja i edycja manuskryptu.	2%
Lek. Izabela Zawadzka	Przeprowadzenie części badań, recenzja i edycja manuskryptu.	1%
Dr n.med. Magdalena Bagrowska	Recenzja i edycja manuskryptu.	1%
Lek. Joanna Daniluk	Recenzja i edycja manuskryptu, wykonanie części badań.	1%
Lek. Patryk Sidorczuk	Analiza wyników, recenzja i edycja manuskryptu	1%
Prof. dr hab. n. med. Otylia Kowal-Bielecka	Współudział w zaprojektowaniu badania, recenzja i edycja manuskryptu	2%
Dr hab. n. med. Joanna Konopińska	Recenzja i edycja manuskryptu.	5%
Dr hab. n.med. Diana Anna Dmuchańska	Koncepcja badania, współudział w zaprojektowaniu badania, kwerenda literatury, analiza i interpretacja wyników, przygotowanie i edycja manuskryptu, autor korespondencyjny.	36%

Oświadczam, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie powyższej publikacji w pracy doktorskiej lek. Barbary Pieklarz.

Podpis doktoranta

Barbara Pieklarz

Białystok, dn. 12.01.2024

Dr n. med. Ewa Gińdzieńska-Sieškiewicz
Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Piekłarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorzuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis*. Front Med (Lausanne). 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 2% to przeprowadzenie części badań, współudział w zaprojektowaniu badania oraz recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Piekłarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, dn. 15.01.2024

Lek. Izabela Zawadzka
Klinika Okulistyki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorcuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis*. Front Med (Lausanne). 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 1% to przeprowadzenie części badań, recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Izabela Zawadzka

Białystok, dn. 15.01.2024

Dr n. med. Magdalena Bagrowska
Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorczuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis*. Front Med (Lausanne). 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 1% to recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, dn. 24.01.2024

Lek. Joanna Daniluk
Wielospecjalistyczny Szpital Miejski im. Józefa Strusia
z Zakładem Opiekuńczo-Lecznym SP ZOZ w Poznaniu
ul. Szwajcarska 3, 61-285 Poznań

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorczuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis*. Front Med (Lausanne). 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyńówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 1% to recenzja i edycja manuskryptu, wykonanie części badań.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, dn. 30.01.2024

Lek. Patryk Sidorczuk

Ośrodek Okulistyczny Tęczówka

Ul. Węglowa 6

15-121 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorczuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchańska DA. *Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis*. Front Med (Lausanne). 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 1% to analiza wyników, recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Patryk Sidorczuk

Białystok, dn. 12.01.2024

Prof. dr hab. n.med. Otylia Kowal-Bielecka
Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Piekłarz B, Gińdzińska-Sieśkiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorzuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis*. Front Med (Lausanne). 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 2% to współudział w zaprojektowaniu badania, recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Piekłarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Prof. dr hab. med.
Otylia Kowal-Bielecka
specjalista chorób wewnętrznych
lekarz reumatolog
447 8353

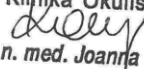
Białystok, dn. 15.01.2024

Dr hab.n.med. J. Konopińska
Klinika Okulistyki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorczyk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis*. Front Med (Lausanne). 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 5% to recenzja i edycja manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Lekarz Kierujący Kliniką
Klinika Okulistyki

dr hab. n. med. Joanna Konopińska

Białystok, dn. 11.02.2024

Dr hab. n.med. Diana Anna Dmuchowska
Klinika Okulistyki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. J. Kilińskiego 1
15-089 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: Pieklarz B, Gińdzieńska-Sieškiewicz E, Zawadzka I, Bagrowska M, Daniluk J, Sidorczuk P, Kowal-Bielecka O, Konopińska J, Dmuchowska DA. *Peripapillary choroidal vascularity index and thickness in patients with systemic sclerosis*. Front Med (Lausanne). 2023 Oct 16;10:1273438. doi: 10.3389/fmed.2023.1273438, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej: *Ocena parametrów naczyniówki z uwzględnieniem wskaźnika naczyniowego u pacjentów z twardziną układową* wynoszący 36% to koncepcja badania, współudział w zaprojektowaniu badania, kwerenda literatury, analiza i interpretacja wyników, przygotowanie i edycja manuskryptu, autor korespondencyjny.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Barbarę Pieklarz publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

dr hab. n. med.
Diana A. Dmuchowska
specjalista chorób oczu
2342194

11 Uchwała Komisji Bioetycznej

KOMISJA BIOETYCZNA
PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM W BIAŁYMSTOKU
ul. Jana Kilińskiego 1
15-089 Białystok
tel. 85 748 54 07, fax 85 748 55 08
komisjabioetyczna@umb.edu.pl

Białystok, 25.02.2021 r.

Uchwała nr: APK.002.109.2021

Na podstawie art. 29 ust. 2 i 14 ustawy dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (t.j. Dz. U z 2020, poz. 514 ze zm.), Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku, po zapoznaniu się z projektem badania zgodnie z zasadami GCP/ Guidelines for Good Clinical Practice /- **w y r a ż a z g o d ę** na prowadzenie tematu badawczego: „Kompleksowa ocena okulistyczna pacjentów z twardziłą układową, reumatoidalnym zapaleniem stawów, eozynofilowym zapaleniem powięzi oraz chorobami z grupy seronegatywnych spondyloartropatii zapalnych” przez dr n. med. Dianę A. Dmuchowską wraz z zespołem badawczym z UMB.

Planowany okres realizacji od 25.02.2021 r. do marca 2024 r.

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej przy UMB

prof. dr hab. Otylia Kowal-Bielecka

Pouczenie:

1. Odwołanie od uchwały komisji bioetycznej wyrażającej opinię może wnieść:

1) wnioskodawca

2) kierownik podmiotu, w którym eksperyment medyczny ma być przeprowadzony;

3) komisja bioetyczna właściwa dla ośrodka, który ma uczestniczyć w wieloośrodkowym eksperymencie medycznym.

2. Odwołanie, o którym mowa w ust. 1, wnosi się za pośrednictwem komisji bioetycznej, która podjęła uchwałę, do Odwoławczej Komisji Bioetycznej w terminie 14 dni od dnia doręczenia uchwały wyrażającej opinię.

Zaświadczam się, że lek. Piętkarz Barbara jest członkiem zespołu badawczego w powyższym projekcie.

8. 11. 2023r.
J. Walińska

UNIWERSYTET MEDYCZNY
w Białymstoku
KOMISJA BIOETYCZNA
15-089 Białystok, ul. Jana Kilińskiego 1