České vysoké učení technické v Praze Fakulta biomedicínského inženýrství

Katedra přírodovědných oborů

# CÉVNÍ ZMĚNY ZADNÍHO PÓLU OKA JAKO ČASNÁ ZNÁMKA GLAUKOMOVÉHO ONEMOCNĚNÍ

Disertační práce

Mgr. Jakub Král

Kladno, listopad 2024

Doktorský studijní program: Biomedicínská a klinická technika Studijní obor: Biomedicínská a klinická technika

Školitel: doc. MUDr. Ján Lešták, CSc. MBA

#### PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem práci s názvem "*Cévní změny zadního pólu oka jako časná známka glaukomového onemocnění*" vypracoval samostatně a použil k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k této práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu §60 Zákona č.121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

Na Kladně dne 25. srpna 2024

.....

Podpis

.....

Podpis vedoucího práce

**Klíčová slova:** zelený zákal, časná diagnostika, optická koherenční tomografie, vessel density, nitrooční tlak

**Keywords:** Glaucoma, vessel density, retinal nerve fiber layer, intraocular pressure, optical coherence tomography

# Obsah

Obsah	
Seznam z	kratek 6
Seznam c	brázků7
1	Úvod
2	Přehled současného stavu9
2.1	Doporučený postup vyšetření glaukomu 11
2.1.1	Neuroretinální lem 12
2.1.2	Vrstva nervových vláken sítnice 13
2.1.3	Hemoragie papily 13
2.1.4	Cévy na papile 13
2.2	Přístroje k diagnostice zeleného zákalu 14
2.2.1	Polametrie15
2.2.2	Heidelberský retinální tomograf 15
2.2.3	Optická koherenční tomografie 16
2.2.4	Ostatní přístrojová technika 18
3	Cíle práce
4	Metody
4.1 \$	Souvislost výše NOT na cévní systém oka 27
4.2	Korelace NOT a RNFL v jednotlivých peripapilárních segmentech
4.3 1	Korelace NOT a vrstvy RNFL po kompenzaci zastoupení cév ve sledovaném
objemu	. segmentu

	4.4	Efektivita diagnostiky glaukomu v souvislosti se změnou VD a korigované
	hodno	ty RNFL
5		Výsledky
	5.1	Souvislost výše NOT na cévní systém oka 29
	5.2	Korelace NOT a RNFL v jednotlivých peripapilárních segmentech 30
	5.3	Korelace NOT a vrstvy RNFL po kompenzaci zastoupení cév ve sledovaném
	objem	u segmentu
	5.4	Efektivita diagnostiky glaukomu v souvislosti se změnou VD a korigované
	hodno	ty RNFL
6		Diskuze
	6.1	Přínos pro biomedicínské inženýrství
7		Závěr
8		Literatura

# Seznam zkratek

zkratka	význam						
C/D	Cup to disk ration, poměr jamky a límce papily						
HRT	Heidelberský retinální tomograf						
IN	inferior-nasal						
IRCP	intermediární retinální kapilární plexus						
IT	inferior-temporal						
mmHg	milimetr rtuťového sloupce též nazývaný jako Torr						
NI	nasal-inferior						
NOT	nitrooční tlak						
NS	nasal-superior						
OCT	optická koherenční tomografie						
OCTA	optická koherenční tomografická angiografie						
OD	overall defect – celkový defekt						
PGUÚ	primární glaukom s uzavřeným úhlem						
РР	peripapillary – okolo papily						
RNFL	retinal nerve fiber layer – vrstva nervových vláken sítnice						
RNFLc	retinal nerve fiber layer after correction						
	<ul> <li>vrstva nervových vláken sítnice po korekci VD</li> </ul>						
SGB	sítnicové gangliové buňky						
SN	superior-nasal						
ST	superior-temporal						
TI	temporal-inferior						
TS	temporal-superior						
VD	vessel density – hustota cév						
WI	whole image – celkový obraz						
ZP	zorné pole						

# Seznam obrázků

Obrázek 2-1 Proudění nitrooční tekutiny 10
Obrázek 2-2 Papila zrakového nervu pravého oka 12
Obrázek 2-3 Alfa a Beta zóna papily zrakového nervu 14
Obrázek 2-4 Schéma principu analyzátoru nervových vláken přístroje GDx 15
Obrázek 2-5 Schéma principu konfokálního mikroskopu 16
Obrázek 2-6 Schéma principu OCT přístroje 17
Obrázek 2-7 Normální ZP pravého oka pacientky vyšetřené fast treshold programem 20
Obrázek 2-8 Normální ZP levého oka pacientky vyšetřené fast treshold programem 20
Obrázek 2-9 Vzdálená nasální část zorného pole. Vlevo pravého oka, vpravo levého oka. Oboustranná deprese v horizontále k 85 stupňům
Obrázek 2-10 OCT vyšetření sítnice pravého oka. RNFL se pohybuje v zeleném pásmu normálních hodnot (vlevo dole). OCT angiografie má nízkou hodnotu v IN segmentu (vpravo dole)
Obrázek 2-11 OCT vyšetření sítnice levého oka. RNFL se pohybuje v zeleném pásmu normálních hodnot (vlevo dole). OCT angiografie má nízkou hodnotu v IN segmentu (vpravo dole)
Obrázek 4-1 Schéma metodiky a návaznosti jednotlivých dílčích cílů
Obrázek 4-2 Rozložení a numerické označení peripapilárních segmentů: IT-1, TI-2, TS-3, ST-4, SN-5, NS-6, NI-7, IN-8 (I-inferior, T-temporal, S-superior, N-nasal). Je třeba zdůraznit, že segmenty 1 a 4 byly temporálně posunuty. Segmenty 5 a 8 pak odpovídaly hornímu polu
Obrázek 4-3 Hodnoty RNFL, VD a korigovaná hodnota RNFLc

# 1 Úvod

Glaukomy jsou po věkem podmíněné makulární degeneraci nejčastější příčinou ztráty zrakových funkcí u starších dospělých ve vyspělém světě. Přestože diagnostika a léčba glaukomů v posledních letech velmi pokročila, patří toto onemocnění mezi důležité příčiny slepoty i ve vyspělých zemích. Glaukom je zákeřné onemocnění, protože pacient nevnímá v počátečních stadiích zhoršení zrakových funkcí. Vzhledem k ireverzibilitě nese tato nemoc s sebou i vážné sociální dopady. S nárůstem myopie u mladých lidí bude i výskyt glaukomu daleko častější než u emetropů. To vyplývá ze skutečnosti prodlužování lidského věku a tím i přibývání takto nemocných lidí. S jejich nárůstem je zatěžován nejen systém sociálního pojištění, ale s přísunem nových drahých léčebných metod i systém zdravotních pojišťoven.

Glaukom je chronické neurodegenerativní onemocnění charakterizované ztrátou gangliových buněk sítnice, což má za následek nejen změny na úrovni sítnice ale i podkorových a korových ústředí v mozku. Včasná diagnóza je zásadní, aby se zabránilo trvalému strukturálnímu poškození a nevratné ztrátě zraku. Detekce glaukomu se typicky opírá o vyšetření strukturálního poškození vláken gangliových buněk na terči zrakového nervu v kombinaci s vyšetřením zrakových funkcí. Vzhledem k tomu, že klinické oftalmoskopické vyšetření nervových vláken a optického nervu je subjektivní, a tudíž náchylné k variabilitě, vyplývá i toho i snaha o objektivní metody napomáhající diagnostice glaukomu. Diagnostika glaukomu se dnes opírá o hodnoty nitroočního tlaku (NOT; intraocular pressure - IOL), vrstvy nervových vláken sítnice (RNFL) a vyšetření zorného pole (ZP).

## 2 Přehled současného stavu

Glaukom je progresivní onemocněni, u kterého hraje včasné stanovení diagnózy a tím i zahájení léčby zásadní roli pro zachování zrakových funkci.

Vzhledem k jeho asymptomatické povaze je včasné odhalení tohoto onemocnění náročné a počet diagnostikovaných pacientů s glaukomem je menší než nediagnostikovaných pacientů. [1][2]

Toto je velmi důležitý fakt, neboť v celkovém počtu může být glaukomatiků více než nemocných s věkem podmíněnou makulární degenerací. Proto je dnes dáván takový důraz na včasnou diagnostiku glaukomu.

První změny, které byly po zvýšení nitroočního tlaku (NOT) v experimentu u opic pozorovány, se týkaly strukturálních abnormalit spojených se zmenšením dendritického pole gangliových buněk. Zmenšení tloušťky axonů se objevilo později, přičemž změny velikosti somatu buněk se objevily současně nebo o něco později. Chronické zvýšení NOT vedlo k významnému snížení průměrné velikosti somatu trpasličích a parasolových buněk, ale pouze parasolové (magnocelulární) buňky vykazovaly významné snížení velikosti dendritického pole a průměru axonu. Srovnání očí s různým stupněm poškození zrakového nervu na základě poměru exkavace a disku ukázalo, že axony a dendritická pole parasolových buněk byly při nižším poměru c/d významně menší než u trpasličích buněk (parvocelulárních), což naznačuje větší poškození právě magnocelulárních buněk. [3]

To znamená, že první změny, které nastanou po zvýšení NOT, vedou ke zmenšení dendritického pole. Samotné buňky nemusí ihned podléhat apoptóze.

Cévní dysfunkce sítnice byla pozorována jako sekundární projev jak u jedinců s diagnózou glaukomu, tak u zvířecích modelů používaných ke studiu tohoto onemocnění, což naznačuje, že glaukom může sloužit také jako spouštěč cévních abnormalit sítnice. [4]

Tyto sekundární projevy zahrnují různé změny, jako je nápadné snížení průměru sítnicových cév, snížení hustoty sítnicových cév, poruchy sítnicových cévních molekul, porucha autoregulace krevního průtoku, dysfunkce sítnicových arteriol.[4][5][6][7]

Na myším modelu glaukomu vyvolaném jednostrannou kauterizací tří episklerálních žil bylo pozorováno, že zvýšený NOT vede k poruše autoregulace a vaskulární dysfunkci

retinálních arteriol. To znamená, že byla narušena schopnost sítnicových arteriol regulovat průtok krve a udržovat správnou cévní funkci.[4][8]

Ve studii případů a kontrol bylo zjištěno, že jedinci postiženi jednostranným akutním primárním glaukomem s uzavřeným úhlem (PGUÚ) vykazují významné snížení hustoty peripapilárních sítnicových cév v postižených očích ve srovnání s kontralaterálníma nepostiženýma očima. Bylo zjištěno, že nápadné snížení hustoty cév významně souvisí s výpadkem zorného pole, ztenčením vrstvy nervových vláken sítnice a komplexu gangliových buněk u očí postižených PGUÚ. Tato asociace naznačuje, že ztráta hustoty cév v sítnici úzce souvisí s přítomností a progresí glaukomu. [6]



Obrázek 2-1 Proudění nitrooční tekutiny

Řada kazuistik odhalila, že snížení NOT může vést k opětovnému zvýšení hustoty peripapilárních kapilár ve vrstvě nervových vláken sítnice u oční hypertenze a glaukomatózních očí. [6]

Snížení počtu kapilár v sítnici pozorované u glaukomových očí potkanů má podobný průběh, s výraznějším dopadem na hustotu kapilár ve vnitřních vrstvách sítnice v reakci na zvýšený NOT. [8]

Tento jev může poskytnout vysvětlení pozorovaného úbytku sítnicových gangliových buněk (SGB) a ztenčení vrstvy nervových vláken sítnice během progrese glaukomu.

Tao a spol. zkoumali, jak přechodné zvýšení NOT u myší ovlivňuje fyziologii SGB, anatomii SGB a strukturu sítnicových arteriol a kapilár. Přechodné zvýšení NOT bylo vyvoláno u 12týdenních myší C57BL6J divokého typu injekcí hyaluronátu sodného do přední komory. NOT byl měřen bezprostředně po injekci a znovu o 1 a 7 dní později. Průměrná maximální hodnota NOT po injekci byla ~50 mmHg a následně se NOT vrátila k normálu. Počty SGB a cévní struktura sítnice byly hodnoceny 14 dní po injekci pomocí imunohistochemie ke značení RGC a cév. Přechodné zvýšení NOT také vyvolalo remodelaci cév: počet kapilárních větví se snížil v povrchovém a středním cévním plexu. Počet SGB, průměr sítnicových arteriol a větvení hlubokého kapilárního plexu nebyly ovlivněny. Tato dříve nedoceněná zjištění naznačují, že přechodné zvýšení IOP může způsobit nerozpoznanou a potenciálně dlouhodobou patologii SGB a přidružených neurovaskulárních jednotek, se kterou by se mělo v klinické praxi počítat. [9]

Pitale a spol. v experimentu na myším modelu po zvýšení NOT zjistili, počet SGB byl normální, ale celková komplexita kapilár sítnice byla snížená. Tuto sníženou komplexitu lze vysvětlit abnormalitami v intermediárním retinálním kapilárním plexu (IRCP), který ušetřil ostatní plexy. Hustota kapilárních spojů, délka cév a cévní plocha byly výrazně sníženy a počet acelulárních kapilár byl dramaticky zvýšen. [10]

Ve studii provedené Shigou a spol. výsledky laserové flowspekle flowgrafie ukázaly statisticky významné snížení očního krevního průtoku u pacientů s preperimetrickým glaukomem ve srovnání s normálními subjekty. [11]

#### 2.1 Doporučený postup vyšetření glaukomu

V říjnu roku 2020 byl vydán Guidelane pro diagnostiku zeleného zákalu, pro sjednocení postupu pro diagnostiku zeleného zákalu. Tato kapitola č. 2.1 pojednává o shrnutí doporučení vydané European Glaucoma Society. [12]

Glaukom charakteristicky mění vzhled papily zrakového nervu, cév a vrstvu nervových vláken. Základním postupem je vyšetření pomocí fundus čočky a štěrbinové lampy, kde dochází k hloubkovému vjemu při rozšířené zornici. Avšak toto vyšetření zatěžuje pacienta, kterému se musí podat mydriatika, která působí cca 20 minut. [12]

Změny kontur lze nejlépe ocenit při zvětšeném stereoskopickém pohledu, nejlépe přes rozšířenou zornici. Průběžná vyšetření, zaměřená na detekci nápadných rysů, jako je krvácení disku, mohou být prováděna prostřednictvím nedilatované zornice. [12]

#### 2.1.1 Neuroretinální lem

U zdravého oka je tvar límce papily (neuroretinální lem) ovlivněn velikostí, tvarem a sklonem terče zrakového nervu. Límec je obvykle mírně svisle oválný. U středně velkých límců je neuroretinální okraj typicky alespoň tak široký v pozicích 12 a 6 hodin jako jinde a obvykle nejširší v infero-temporálním sektoru, následovaný supero-temporálním, nazálním a poté temporálním sektorem. U velkých papil je normální šířka okraje relativně úzká a může být potenciálně chybně interpretována jako glaukomatózní. [12]

Lem a jeho exkavace se značí jako cup/disk poměr (C/D). Tento poměr je však zavádějící, protože i u velkého poměru nad 0,7, který může být interpretován jako odumírání nervových vláken, může být jen anatomická anomálie a oko nemusí být postižené zeleným zákalem. Podobně jako při nízkém poměru pod 0,3, chybně interpretováno jako normální stav, ale již zelený zákal probíhá. Tento poměr je již přežitou tradicí pro diagnostiku zeleného zákalu. [12]



Obrázek 2-2 Papila zrakového nervu pravého oka

#### 2.1.2 Vrstva nervových vláken sítnice

Vrstva nervových vláken (RNFL) se obvykle pozoruje pod modrým filtrem přes štěrbinovou lampu v centrální části 60 °. Lze osvítit bezčerveným světlem s menším zvětšením nebo bílým úzkým svazkem při větším zvětšení štěrbinové lampy. Povrch nervových vláken je nejlépe vidět, pokud je ohnisko upraveno těsně před hlavní cévy sítnice. Svazky vláken jsou vidět jako radiální stříbrné pruhy kolem disku, štěrbinovité, drážkované [12]

V normálním fundu mohou být patrné zjevné defekty podobné nebo vřetenovité, užší než cévy sítnice. RNFL může být s věkem méně viditelná a je hůře viditelná, pokud není dostatek pigmentu v sítnici. [12]

Lokální (klínové a štěrbinové) defekty jsou vidět jako tmavé pruhy, širší než cévy sítnice, které se rozšíří k okraji disku. Tyto lokální defekty jsou snadněji vidět než generalizované ztenčení RNFL, které se projevuje ztrátou jasu a hustoty rýh. Když je RNFL ztenčen, stěny krevních cév se zdají ostré na matném a skvrnitém pozadí. Počáteční abnormalitou u glaukomu může být buď difúzní ztenčení nebo lokalizované defekty. [12]

#### 2.1.3 Hemoragie papily

Velká část pacientů s glaukomem trpí hemoragiemi v papile zrakového nervu. Při klinických vyšetřeních jsou velmi často přehlíženy a snáze se najdou na statických fotografiích například z fundus kamery. Mnoho studií ukázalo, že krvácení na terči zrakového nervu je spojeno s vyšším rizikem progrese glaukomu. [12]

#### 2.1.4 Cévy na papile

Zúžení neuroretinální tkáně změní polohu cév na terči zrakového nervu ohybem, bajonetem nebo obnažením cirkumlineárních cév. Tyto změny polohy je zvláště důležité pozorovat při hledání progrese a lze je detekovat pomocí sekvenčních fotografií. [12]

#### 2.1.4.1 Parapapilární atrofie

Parapapilární atrofii lze rozlišit na alfa zónu, která je přítomna ve většině očí, a na beta zónu, která je přítomna u některých normálních očí a u vysokého procenta očí s glaukomem. Beta parapapilární atrofie je běžná u krátkozrakých a starších očí. V klinické praxi lze velkou beta zónu považovat za vodítko, nikoli za jednoznačný příznak glaukomu. [12]



Obrázek 2-3 Alfa a Beta zóna papily zrakového nervu

Veškeré dosud známé vyšetřovací techniky pracují se změnami ve vrstvě nervových vláken. Tudíž se sleduje jejich poškození s následnými funkčními změnami.

I recentní práce významných odborníků v oblasti glaukomu jsou v souladu s doporučením Evropské glaukomové společnosti. Následující kapitola je jen jako doplnění ve vyšetření zorného pole.

#### 2.2 Přístroje k diagnostice zeleného zákalu

Vývoj diagnostiky zeleného zákalu se v posledních letech postupně mění. Dlouho se nemoc diagnostikovala objektivně zjištěním poměru jamky vůči průměru optického disku tzv. cup to disk (C/D) papily zrakového nervu. Toto však bylo zavádějící, protože i nenormálové hodnoty lze zachytit u lidí, kteří netrpěli glaukomem. Za tyto abnormality může věk, refrakční vada, genetické vlivy a další. Lze zachytit pouze již pokročilá stádia zeleného zákalu. [13]

Rutinním a nejekonomičtějším přístupem pro zachycení osob se zeleným zákalem jsou faktory zvyšující riziko zeleného zákalu, jako je vysoký krevní tlak, cukrovka, genetická predispozice, myopie. Kombinace těchto onemocnění nebo vad může inklinovat k vyšší citlivosti buněk na poškození a nebezpečný je tzv. normotenzní glaukom, kde dochází k poškození i při normálním nitroočním tlaku. Tyto faktory mohou být ovlivněny i vnitřní stavbou oka, kde nejdůležitější je anatomická stavba rohovko-duhovkového úhlu, hloubky přední komory potažmo zadní komory, dynamika nitrooční tekutiny a celková stavba cévního zásobení. [14][15]

#### 2.2.1 Polametrie

Dalším pokrokem v diagnostice byla polarimetrie. Nervová vlákna gangliových buněk sítnice vykazují při dvojlomu retardaci polarizace. Přístroj analyzátor nervových vláken GDx je schopný zachytit velikost změny retardace a dle míry polarizace zpětně vypočítat tloušťku vrstvy nervových vláken. To má výhodu v tom, že jiné přístroje měřily vlákna jen povrchově a hluboká ložiska změn ve struktuře nervových vláken nedokázaly zachytit. Bohužel cévy se vyklenují směrem k periferii a jsou zde poklesy míry retardace, a proto je obezřetné postupovat při diagnostice glaukomu s rozvahou. Při kombinaci s konfokálním mikroskopem lze retardační mapu přesně určit, avšak systém není schopen detekovat malé lokalizované defekty ve vrstvě nervových vláken. [16]



Obrázek 2-4 Schéma principu analyzátoru nervových vláken přístroje GDx

#### 2.2.2 Heidelberský retinální tomograf

Heidelberský retinální tomograf (HRT), fungující na principu konfokální mikroskopie, využívá laserového paprsku, který skenuje povrch zrakového nervu a vytváří trojrozměrný obraz. Díky konfokální technologii dokáže zaostřit na specifickou hloubku a ignorovat odrazy z ostatních vrstev, což zvyšuje kvalitu získaného obrazu. HRT může být obohacen o databázi čítající přes 1000 normálních očních papil, kde pak na základě porovnání může zobrazit sektory sítnice s patologickými změnami zrakového nervu. Nelze však na těchto výsledcích stavět diagnostiku zeleného zákalu a je nutné provést další vyšetření na perimetru.[17]



Obrázek 2-5 Schéma principu konfokálního mikroskopu

#### 2.2.3 Optická koherenční tomografie

Vyšetření HRT se dnes již nepoužívá a bylo nahrazeno optickou koherenční tomografií (OCT). Jedná se o neinvazivní zobrazovací techniku používanou v oftalmologii a optometrii k detailnímu zobrazení nejen vrstev sítnice oka, ale i předního segmentu. OCT využívá nízko koherenčního světelného vlnění k získání dvou nebo trojrozměrných obrazů struktur oka. Světelný paprsek je směrován do oka, kde se odráží od různých vrstev sítnice a dalších očních struktur. Odražené světlo je pak analyzováno dle zpoždění, což umožňuje vytvoření obrazu struktury sítnice a struktur papily zrakového nervu. Horní a spodní kvadrant terče zrakového nervu vykazuje větší tloušťku nervových vláken než nasální a temporální kvadrant. Většina komerčních zobrazovacích zařízení má software pro kvantifikaci progrese glaukomu, včetně rychlosti progrese. Tyto výsledky mohou sloužit jako další nástroje pro hodnocení progrese glaukomu, ale vyžadují pečlivou interpretaci ve spojení s dalšími testy a stavem pacienta. Vysoce kvalitní základní fotografie jsou důležité. Před zahrnutím výstupu softwaru do hodnocení pacienta by měl uživatel zhodnotit testovací sérii z hlediska kvality snímků – a softwarové analýzy. Shoda mezi strukturální progresí a funkčním zhoršením během relativně krátké doby trvání hlášených studií je pouze částečná nebo špatná kvůli variabilitě měření jak strukturálních, tak funkčních testů. Většina komerčně dostupného softwaru nekompenzuje stárnutí, proto statisticky významné sklony

nemusí nutně znamenat skutečnou progresi glaukomu. Výsledky získané různými přístroji nejsou zaměnitelné.[18]



Obrázek 2-6 Schéma principu OCT přístroje

Kombinace angiografie a OCT přináší nové možnosti. Optická koherenční tomografická angiografie (OCTA) měří kvantitu a kvalitu choroidálních, sítnicových cév a vytváří celkový obraz papilárního terče, který koleruje s degradací sítnice postižené zeleným zákalem. Vyšetření je neinvazivní a není potřeba podávat nitrožilně barviva. Metoda dokáže zobrazit velké cévy i mikrovaskulaturu sítnice, papilu zrakového nervu a některé části choriokapilaris provedením více OCT skenů stejné oblasti. Pohybující se částice, jako jsou červené krvinky v krevních cévách, mají za následek vysokou variabilitu signálu OCT mezi skeny a tato změna signálu OCT se používá k identifikaci krevních cév. Bylo vyvinuto několik algoritmů pro interpretaci odchylek v signálech OCT a pro vymezení krevních cév a tyto algoritmy byly začleněny do různých komerčně dostupných zařízení OCTA [19]

Klíčovými anatomickými oblastmi pro OCTA u glaukomu jsou oblast hlavy zrakového nervu včetně peripapilární oblasti a makulární oblast. Konkrétně vessel density (VD) povrchové peripapilární a povrchové makulární mikrovaskulatury je u pacientů s glaukomem snížena ve srovnání s nepostiženými subjekty a VD koreluje s funkčním deficitem měřeným pomocí zorného pole (ZP). Díky tomu má OCTA podobné diagnostické schopnosti jako strukturální měření tloušťky vrstvy nervových vláken sítnice (RNFL), zejména u časného glaukomu. Navíc v případech, kdy je měření tloušťky RNFL omezeno kvůli artefaktu nebo podlahovému efektu, lze technologii OCTA použít k hodnocení a sledování glaukomu, například u očí s vysokou myopií a očí s pokročilým glaukomem. [20][21][22]

#### 2.2.4 Ostatní přístrojová technika

Nejdůležitějším pilířem pro diagnostiku zeleného zákalu zůstává měření nitroočního tlaku, kde norma je 10-21mmHg. Zvýšený nitrooční tlak je rizikovým faktorem, kde je nutné pak rutinně změřit tloušťku nervových vláken a následného vyšetření zorného pole. Odumírání gangliových buněk se projeví nejvíce v periferních částech sítnice a na perimetru lze pak vyčíst zmenšující se zorné pole z periferie směrem k centru vidění. Jedna z nejnovějších metod měření tlaku je za pomoci Ocular Response Analyzer (ORA), který dokáže změřit biomechanické vlastnosti rohovky tzv. hysterezi a upravit výsledky nitroočního tlaku tak, aby se přiblížily skutečné hodnotě. U vyšetření na perimetru je důležité instruovat správně pacienta. Vyšetření v plném režimu může být až 10 minut pro jedno oko. Neinstruovaní pacienti podléhají frustraci z neznalosti přístroje a neprovádí úkon správně. Noví pacienti nemusí být správně informováni, že musí fixovat značku a pouze periferně sledovat záměrné značky. První vyšetření v drtivě většině případů je nevalidní a proto je dobré představit pacientovi krátkou testovací proceduru, abys mohl vyzkoušet na nečisto způsob vyšetření na perimetru. [23][24]

V poslední řadě se upírá zájem odborné veřejnosti k diagnostice pomocí umělé inteligence. V posledních době vývoj umělé inteligence velmi vzrostl a již se implementuje do diagnostických přístrojů za účelem rychlejší diagnostiky zeleného zákalu. Toto přináší bonus i pro screeningová měření na neoftalmologických oborech, kde může záchyt rizikových pacientů být velice účinným nástrojem. To má především tu výhodu, že u zeleného zákalu není přesná biomechanika vzniku. [25]

Veškeré vyšetřovací metody vyhodnocují zelený zákal až při určitém stupni progrese zeleného zákalu. Tato práce má za cíl najít takovou metodu a postup, kdy dojde k časnému stanovení diagnózy a tím i zahájení léčby zeleného zákalu.

Glaukom způsobuje poškození zorného pole, především v oblasti centrálních 20°. Standardní metodou měření pro diagnostiku a sledování glaukomu je standardní automatizovaná perimetrie (SAP). SAP je počítačové statické vyšetření zorného pole (perimetrie) založené na principech Goldmannovy perimetrie s bílými podněty na bílém pozadí. Statická perimetrie (podněty na předem určených testovacích místech) měřící práh je citlivější a odhalí glaukomatózní poškození zorného pole dříve než manuální kinetická perimetrie (s pohyblivými podněty - Goldmannova perimetrie), která by se proto neměla používat. Kromě toho je počítačová perimetrie méně subjektivní, výsledky jsou číselné a existují softwarové programy, které pomáhají při vyhodnocování výsledků. Např. ve Švédsku je nejběžnějším perimetrem Humphreyho perimetr, ale používá se také Octopus a další perimetry. Pokud existuje pouze malé podezření na glaukom, například při kontrole pacientů s pozitivní anamnézou glaukomu, měly by být použity screeningové testy, nadprahové testy, které používají jasné podněty, které jsou vysoko nad prahovou úrovní. Tyto testy se snadněji provádějí u pacientů bez předchozích zkušeností s počítačovou perimetrií a generují méně falešně pozitivních výsledků. V Humphreyho perimetru se jako screeningové testy volí především nadprahové testy se vzorem C-40 a dvouzónová strategie. Další metoda nazvaná Frequency Doubling Technology (FDT) má několik screeningových programů. C20-1 má nejlepší kombinaci citlivosti a specifičnosti, a proto je pro screening vhodnější. [22][26]

Tento výzkum je zaměřený na cévní změny, které předbíhají změny ve vrstvě nervových vláken sítnice, tudíž pomáhají k časnějšímu stanovení diagnózy a tím i léčby zeleného zákalu. V návaznosti i na výše citovanou práci a doporučení k vyšetření perimetru je zde uvedena kazuistika ženy (nar. 1976), která byla sledována na jiném pracovišti pro nitrooční hypertenzi od roku 1999.

V rodinné anamnéze je výskyt glaukomového onemocnění u matky a její babičky.

V: s – 0,75=1,0. NOT se pohybovalo v rozmezí od 20/21 do 21/23 mmHg. Zorné pole (fast treshold program) vyšetřené na přístroji Medmont neprokazuje patologické změny. Temporálně bylo vyšetřeno do 22 a nasálně do 50 stupňů. RNFL je rovněž v normě.



Obrázek 2-7 Normální ZP pravého oka pacientky vyšetřené fast treshold programem



Obrázek 2-8 Normální ZP levého oka pacientky vyšetřené fast treshold programem

Při vyšetření na Klinice JL byly zjištěny normální hodnoty RNFL, a to ve všech peripapilárních segmentech. C/d= 0,9! Patologické hodnoty VD jsou jen v segmentu IN (47, resp. 44). Ve vzdálené nasální části zorného pole je deprese k 85 stupňům.







# Obrázek 2-10 OCT vyšetření sítnice pravého oka. RNFL se pohybuje v zeleném pásmu normálních hodnot (vlevo dole). OCT angiografie má nízkou hodnotu v IN segmentu (vpravo dole)



Obrázek 2-11 OCT vyšetření sítnice levého oka. RNFL se pohybuje v zeleném pásmu normálních hodnot (vlevo dole). OCT angiografie má nízkou hodnotu v IN segmentu (vpravo dole)

Pokud by byly respektovány doporučené postupy jak České, tak Evropské glaukomové společnosti, tak v případě této pacientky by se čekalo na první změny v RNFL a také v zorném poli. Obojí je v předložené kasuistice v normě. Jakmile ale budou tyto hodnoty patologické, tak ani po snížení NOT antiglaukomovou léčbou není žádná jistota, že tyto změny nebudou progredovat. U nemocné byla nasazena po vyšetření antiglaukomová léčba carteolem ráno do obou očí.

# 3 Cíle práce

V důsledku strukturálních změn sítnice u glaukomového onemocnění dochází ke ztrátám subjektivního rozsahu zorného pole pacienta.

Cílem disertační práce je vyhodnocení závislosti faktorů (RNFL, NOT a VD), které mají potenciál umožnit včasnou diagnostiku glaukomového onemocnění již v ranné fázi, namísto konzervativního přístupu léčby, která nastává až v důsledku patologických projevů.

Zelený zákal poškozuje nervová vlákna gangliových buněk sítnice a prvotní myšlenka byla, zda-li NOT neovlivňuje cévní řečitě. Proto v 1. práci bylo zkoumáno, jestli NOT dříve než vrstvu nerových vláken neovlivňuje tloušťku cévního řečistě. Následně v navazující práci se jemně rozdělil terč zrakového nervu, kde se zkoumaly sektory tloušťky cévního pletence zvlášť. V následující práci se specifikovala přesněji tloušťka cév. Protože odborná veřejnost hovoří o vrstvě nervových vláken, do které se započítává i tloušťka cév, byl zaveden pojem korigovaná vrstva nervových vláken, kde od hodnoty tloušťky vrstvy nervových vláken je odečtena vrstva cév. Poslední práce, která je v recenzním řízení, dále specifikuje, zda nejvyšší korelace NOT je s některým ze sektorů zrakového nervu nebo je to cévní hustota celého obrazu (WI-VD), či peripapilární VD. Pro řešení problematiky byly stanoveny následující dílčí cíle, které hodnotí souvislost výše nitro-očního tlaku NOT s dalšími sledovanými parametry.

Dílčími cíli jsou:

- 1. Vyšetření souvislosti výše NOT s celkovou tloušťku RNFL a hustotu peripapilárního cévního systému oka,
- 2. Vyšetření souvislosti tloušťky vrstvy RNFL v dílčích peripapilárních segmentech,
- 3. Vyšetření souvislosti tloušťky vrstvy RNFL korigovanou o hustotu cév v daném objemu,
- 4. Identifikovat parametry pro hodnocení efektivity diagnostiky glaukomu v souvislosti se změnou VD a korigované hodnoty RNFL.

# 4 Metody

Disertační práce je pojata jako komentovaný soubor publikací, které se váží ke stanoveným cílům disertační práce. Každá publikace obsahuje popis použitých metod řešení.

Jednotlivé navazující kroky dílčích cílů byly realizovány vždy na pracovišti Oční kliniky JL, V Hůrkách 1296/10, Praha 13. Pacienti byli plně informováni a podepsali informovaný souhlas k vyšetření a že se data využijí ke studii. Po zapsání osobních údajů byli přivedeni k přístroji OCT Avanti RTVue XR (výrobce Visionix, Francie), kde byly hodnoceny parametry tloušťky vrstvy nervových vláken RNFL a hustota cévní pleteně (VD). Měření nitroočního tlaku (NOT) bylo provedeno pomocí přístroje Ocular Response Analyser (výrobce: Reichert, USA) se zohledněním hystereze rohovky a vždy jako průměr alespoň tří měření. Měření celkového defektu (OD) se používal záznam z perimetru Medmont M700 (výrobce Medmont, Austrálie) Ze všech přístrojů byly exportovány údaje, které byli následně statisticky zpracovány. Bližší informace jsou v následujících 4 kapitolách, kde jednotlivé výsledky navazují na další řešení následného cíle.

K posouzení závislosti mezi vybranými parametry byl použit Pearsonův korelační koeficient r. Závislost pak byla škálována následně: r = 0,00-0,19 velmi slabá, r = 0,20-0,39 slabá, r = 0,40-0,59 střední, r = 0,60-0,79 silná, r = 0,80-1,00 velmi silná.

Proces vyšetření a hodnocení byl adjustován k danému dílčímu cílu, celý proces lze prezentovat schematicky na obrázku níže.



Obrázek 4-1 Schéma metodiky a návaznosti jednotlivých dílčích cílů

Řešení dílčích cílů č.1-3 je založené na již publikovaných impaktovaných publikacích. Poslední cíl práce definovat výstupy pro efektivitu diagnostiky glaukomu v souvislosti změny VD a korigované hodnoty RNFL je také naplněn a je v procesu recenzního řízení.

Dílčí cíl č. 1: Identifikace souvislosti výše nitroočního tlaku s celkovou tloušťku RNFL a hustotu peripapilárního cévního systému oka je v publikaci *OCT angiography, RNFL and the visual field at different values of intraocular pressure*. [27]

Dílčí cíl č. 2: Vyšetření souvislosti tloušťky vrstvy RNFL v dílčích peripapilárních segmentech je zahrnuto v publikaci *The Relationship Between the Thickness of cpRNFL in Segments and Intraocular Pressure* [28]

Dílčí cíl č. 3: Vyšetření souvislosti tloušťky vrstvy RNFL korigovanou o hustotu cév v daném objemu je uvedeno v publikaci *Axons of retinal ganglion cells on the optic nerve disc following vessel density correction at different IOP values.* [29]

Dílčí cíl č. 4: Identifikace parametrů pro hodnocení efektivity diagnostiky glaukomu v souvislosti se změnou VD a korigované hodnoty RNFL prochází recenzním řízením, metodika a výsledky jsou uvedeny v textu

#### 4.1 Souvislost výše NOT na cévní systém oka

V rámci daného cíle bylo hodnoceno 122 očí (61 pacientů) bez dosavadní (ani historické) antiglaukomatické terapie. Celý soubor byl rozdělen dle výše NOT na následující 4 podskupiny:  $\leq 20 \text{ mmHg}$  (18 očí), 20-22 mmHg (39 očí), 22-24 mmHg (32 očí) a  $\geq 24 \text{ mmHg}$  (33 očí). Použitím Pearsonova korelačního koeficientu *r* byla hodnocena závislost NOT na parametrech: peripapilární hustoty cévního zásobení (VD), tloušťky vrstvy nervových vláken RNFL a celkového defektu zorného pole (OD). [27]

### 4.2 Korelace NOT a RNFL v jednotlivých peripapilárních segmentech

Uvedeným dílčím cílem disertační práce bylo zjistit, zda je vrstva nervových vláken sítnice v některých segmentech terče zrakového nervu při patologickém nitroočním tlaku.

Soubor tvořilo 69 osob (122 očí), u kterých byla při běžné ambulantní péči naměřena hodnota NOT vyšší než 21 mmHg (21-36). Tloušťka RNFL byla hodnocena v 8 anatomických peripapilárních segmentech: 1-IT, 2-TI, 3-TS, 4-ST, 5-SN, 6-NS, 7-NI, 8-IN (I-inferior, T-temporal, S-superior, N-nasal) viz Obrázek 4-2. [28]



Obrázek 4-2 Rozložení a numerické označení peripapilárních segmentů: IT-1, TI-2, TS-3, ST-4, SN-5, NS-6, NI-7, IN-8 (I-inferior, T-temporal, S-superior, N-nasal). Je třeba zdůraznit, že segmenty 1 a 4 byly temporálně posunuty. Segmenty 5 a 8 pak odpovídaly hornímu polu

# 4.3 Korelace NOT a vrstvy RNFL po kompenzaci zastoupení cév ve sledovaném objemu segmentu

Dalším záměrem bylo zjistit, jak hustota cév (VD) v jednotlivých segmentech peripapily ovlivňuje vrstvu nervových vláken sítnice (RNFL) a vyloučit její podíl na RNFL při patologickém nitroočním tlaku (IOP). U souboru 69 osob (průměrný věk 45 ± 6 let) s neléčenou oční hypertenzí (celkem 122 očí) zařazených do této studie byl během běžné ambulantní péče měřen NOT (pomocí Ocular Response Analyser) v hodnotě >21 (rozmezí 21-36) mmHg u všech očí. Byl zaveden parametr RNFLc čili korigovaná tloušťka RNFL očištěná o objem cévního zásobení sítnice (VD), viz Obrázek 4-3



κα RNFL [μm]vessel density [%]RNFLcObrázek 4-3 Hodnoty RNFL, VD a korigovaná hodnota RNFLc

# 4.4 Efektivita diagnostiky glaukomu v souvislosti se změnou VD a korigované hodnoty RNFL

Řešení problematiky tohoto dílčího cíle je aktuálně v recenznímu řízení k publikaci, a to jako článek s názvem *Vessel density and retinal nerve fibre layer association with intraocular pressure in glaucoma*, plné znění je na konci této kapitoly.

Soubor tvořilo 26 žen průměrného věku 45 (22-70) let a 26 mužů průměrného věku 43 (20-71) let. Celkem 104 očí. NOT byl u všech očí vyšší než 21 mmHg (21-36 mmHg). NOT byl měřen přístrojem Ocular Response Analyser (ORA, Reichert) a výsledná hodnota vznikla z průměru tří měření. Tloušťka RNFL a VD byla měřena pomocí Avanti RTVue XR (Optovue). V případě VD celého obrazu i peripapilárně a také peripapilárně v osmi segmentech. Inferior Temporal - IT; Temporal Inferior - TI; Temporal Superior -TS; Superior Temporal - ST; Superior Nasal - SN; Nasal Superior - NS; Nasal Inferior - NI a Inferior Nasal - IN. V případě korigované RNFL (RNFLc) byla hodnota VD odečtena od celkové hodnoty RNFL.

# 5 Výsledky

Výsledky disertační práce jsou prezentovány prostřednictvím souhrnu výstupů publikovaných prací kategorizovaných dle dílčích cílů. In extenso publikace jsou uvedeny jako jednotlivé odkazované přílohy.

## 5.1 Souvislost výše NOT na cévní systém oka

Výsledky hodnocení korelace výše NOT a cévního systému oka bylo publikováno v roce 2022 s názvem *OCT angiography, RNFL and the visual field at different values of intraocular pressure.* Celá práce je uvedena pod touto kapitolou, v textu je citována jako reference pod číslem [27]

Mezi parametry RNFL a OD byla nejvýznamněji stanovena střední pozitivní korelace pouze ve skupině >24 mmHg (r=0,48), v ostatních skupinách byla pouze slabá závislost. Nejvýznamnějším pozorovaným výsledkem byl vztah mezi VD a RNFL. Od střední až silné korelace těchto parametrů ve skupině NOT  $\leq$ 20 byl pozorován trend zvyšování koeficientu dle výše hodnot NOT. Velmi silná korelace (r =0,80–1,00) byla prokázána ve skupině s hodnotami NOT  $\geq$ 24 mmHg (r=0,85-0,87). Přínosem publikovaného článku je prokázání statisticky významného vztahu hustoty vessel density a tloušťky vrstvy retinálních nervových vláken, která se dále úměrně zvyšuje s hodnotami NOT. [27]

Přínosem publikovaného článku je prokázání statisticky významného vztahu hustoty peripapilárního cévního řečiště a tloušťky vrstvy retinálních nervových vláken, která se dále úměrně zvyšuje s hodnotami NOT. [27]

# OCT angiography, RNFL and the visual field at different values of intraocular pressure

JAKUB KRAL<sup>1</sup>, JAN LESTAK<sup>1</sup> and ELENA NUTTEROVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Biomedical Engineering Czech Technical University in Prague; <sup>2</sup>Ophthalmology Clinic JL, Kladno, 272 01 Prague, Czech Republic

Received November 22, 2021; Accepted January 20, 2022

DOI: 10.3892/br.2022.1519

Abstract. The aim of the present study was to investigate the relationship between intraocular pressure (IOP), vessel density (VD), retinal nerve fiber layer (RNFL) parameters and overall defect (OD) of the visual field in eyes where antiglaucoma treatment had not yet been initiated. A total of 61 subjects (122 eyes) who had an IOP of >20 mmHg on several occasions, in at least one eye, in routine outpatient care were included. These were subjects who had never been treated for hypertension glaucoma. The cohort was divided into four subgroups. In the first group, there were 18 eyes with an IOP value of <20 mmHg. In the second group, there were 39 eyes with IOP values of 20-22 mmHg. The third group consisted of 32 eyes with IOP values of 22-24 mmHg and the final group consisted of 33 eyes with IOP values of >24 mmHg. The IOP results were compared with VD, RNFL and OD using Pearson's correlation coefficient to assess the relationship between the selected parameters. RNFL and OD were moderately correlated only in the group of eyes with an IOP value >24 (r=0.48); in the other groups the correlation was very weak. However, changes in visual field were already observed in eyes with IOP 20-22 mmHg (r=-0.27). There was a moderate correlation in eyes with an IOP value >24 mmHg (r=-0.53). The most significant result observed was the relationship between VD and RNFL. In eyes with an IOP value  $\leq 20$ , a moderate to strong correlation between these parameters was observed. This relationship increased with increasing IOP values up to a very strong correlation in the group with an IOP value >24 mmHg. A moderate to strong dependence between VD and RNFL in eyes with an IOP value ≤20 mmHg was observed, and this dependence was very strongly correlated in the eyes with an IOP value >24 mmHg.

*Correspondence to:* Dr Jan Lestak, Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, Nám. Sítná 3105, Kladno, 272 01 Prague, Czech Republic E-mail: lestak@seznam.cz

*Key words:* intraocular pressure, Optical Coherence Tomography angiography, vessel density, retinal nerve fiber layer, overall defect of visual field

#### Introduction

In hypertensive glaucoma (HTG), the ganglion cells of the retina and subsequently the entire visual pathway, including the cortical centers in the brain, are damaged, with high intraocular pressure (IOP) playing a major role (1). Early diagnosis and treatment are important for the preservation of visual function in this disease. Current detection of HTG is based on changes in the nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell complex and visual field (VF), in addition to a high IOP. Optical Coherence Tomography (OCT) angiography has improved glaucoma diagnosis as well as research on the examination of vessel density (VD) (2).

With increased IOP, a number of biochemical and morphological processes occur in the visual pathway. Of the pathological changes, the most important change is the shrinkage of predominantly retinal ganglion cells (3-6).

Changes in RNFL are likely secondary; Naskar *et al* (5) found that ~40% of retinal ganglion cells were lost within 2.5 months of glaucoma induction. However, they did not observe the initial changes in the optic nerve target until 2 months later. In experimental glaucoma, retinal ganglion cell axons degenerate first in their retrolaminar and then in their intraocular regions (7). As not all ongoing abnormalities have been demonstrated in early glaucoma (*in vivo*), whether certain parameters would be of higher value for determining changes than others should be determined. In the present study, a focus was placed on the status of the blood vessels (based on VD), which play a major role in this disease. In the literature, a large body of research has shown the influence of the amount of IOP on VD in HTG. Conversely, work on the relationship between VD and RNFL in normal IOP is lacking in the ophthalmic literature.

The aim of this study was to investigate the relationship between IOP and VD, RNFL parameters and total visual field (VF) defects in eyes with values of IOP ranging from 17-34 mmHg.

#### **Patients and methods**

*Patients*. The cohort consisted of 61 subjects (122 eyes) who were measured to have an IOP >20 mmHg in at least one eye in routine outpatient practice. Data was collected between February and April 2021 at the Ophthalmology Clinic JL (Prague, Czech Republic). The IOP values obtained and used were based on the mean of three measurements using an Ocular

Response Analyzer (ORA, Reichert). The inclusion criteria were as follows: IOP >20 mmHg in at least one eye, visual acuity of 1.0 with possible correction of less than  $\pm 3$  diopters, approximately equal changes in visual fields in all eyes, no other ocular or neurological diseases, and no previous treatment for hypertensive glaucoma. The cohort consisted of 27 women with a mean age of 45 (22-70) years and 34 men with a mean age of 53 (20-71) years, this cohort was divided into four subgroups. The first consisted of 18 eyes with IOP ≤20 mmHg, the second consisted of 39 eyes with IOP values of 20-22 mmHg, the third consisted of 32 eyes with IOP values of 22-24 mmHg, and the last consisted of 33 eyes with IOP values of >24 mmHg. The RNFL and VD thickness in the radial peripapillary capillaries region was measured using the Avanti RTVue XR (Optovue), and the VF was examined with a rapid threshold glaucoma program, using the Medmont M 700 instrument (Medmont International Pty, Ltd.), where the overall defect (OD) parameter was evaluated.

*Statistical analysis.* To assess the relationship between each range of intraocular pressure and the values of VD, RNFL, OD and patient age, Pearson's correlation coefficient r values were used (r, 0.00-0.19 very weak; 0.20-0.39, weak, 0.40-0.59, moderate; 0.60-0.79, strong; and 0.80-1.00 very strong). All analysis was performed using STATISTICA version 13 (StatSoft GmbH) P<0.05 was considered to indicate a statistically significant difference.

#### Results

The values of the correlation coefficients of the peripapillary vessel density of all vessels (PP-VDa), peripapillary vessel density of small vessels (PP-VDs), vessel density of all vessels of the whole image (WI-VDa), vessel density of small vessels of the whole image (WI-VDs), RNFL and OD of all 122 eyes, are shown in Table I, and for each category divided by the range of IOP in Tables II-V. For the entire set, a strong correlation was found between RNFL with PP-VDa and PP-VDs, and a moderate correlation between RNFL and WI-VDa. In the groups of eyes where the IOP was between 20-22 and 22-24 mmHg, a strong positive correlation was found between VD and RNFL, and for the group with the highest pressure value (>24 mmHg), a very strong positive correlation was found.

#### Discussion

Early diagnosis and treatment is very important for preserving visual function in patients with HTG. The question remains as to which investigations, other than IOP values, are most relevant for improving diagnosis.

However, more important for clinical ophthalmology are the results of the examinations, which can provide clues about the early diagnosis as well as the pathogenesis of glaucoma. These undoubtedly include OCTA and RNFL (8-19). Relatively recently, in the study of glaucoma, special interest has been paid to VD in glaucoma. In PubMed alone, at the time of writing, there were 512 papers on this subject. Feher *et al* (20), using electron microscopy, demonstrated that increased IOP induced ultrastructural modifications of the microvessels of the optic nerve head. The number of  $\beta$ -adrenergic receptors increased markedly in the eyes of patients with raised IOP values. Further studies are required to clarify the physiological and pathological roles of these receptors (20).

A high correlation between VD and RNFL was also observed by Yu *et al* (8). Lee *et al* (9) suggested that the decrease in VD in glaucoma is a secondary consequence of RNFL loss, and Triolo *et al* (10) took a similar view.

As glaucoma progresses, VD decreases (12), whilst RNFL decreases (10-13). However, Khayrallah *et al* (14) demonstrated a lower validity of OCTA than RNFL at different stages of HTG (15), with other studies having reached similar conclusions (15,16). Thus, as HTG progresses, VD and RNFL decrease (17). Rao *et al* (18) demonstrated a faster progression of RNFL loss with reduced VD (18). In addition to the direct effect of IOP on VD, glutamate may have a secondary effect; with higher levels of glutamate at all levels of the visual pathway in HTG (21), there is also an ischemic effect on the surrounding vascular system (22). This may be one of the reasons why vascular alteration may occur before the degeneration of RNFL, even with in a patient with a normal IOP. Conversely, with RNFL atrophy, there is a subsequent change in VD.

Mansoori *et al* (19) demonstrated that peripapillary VD is responsible for RNFL nutrition. A high IOP induced a significant decrease in vessels per unit area in the laminar and retrolaminar regions of the optic nerve (23). There was also a decrease in the capillary length per unit volume. After the application of timolol and latanoprost, the diameter of the vessels of the studied area improved, but the density of the capillaries did not change (23). This is important information for understanding the development of HTG. In clinical ophthalmology, one cannot wait for other significant irreversible changes to appear, and it is hypothesized that these irreversible changes have likely already occurred after an increase in IOP on the optic nerve vessels.

The present study showed a strong correlation between VD and RNFL. At normal IOP values, there was a strong correlation between PP-VDs and RNFL, and between PP-VDa and RNFL. In eyes where IOP >24 mmHg, there was a strong correlation between RNFL and all VD values. This is an important observation, and it should be noted again that the recruited cohort consisted of patients a higher prevalence of higher IOP values. Perimetric examination of magnocellular ganglion cells, which are likely to be damaged (4,5,24) has not been performed, to the best of our knowledge.

Magnocellular ganglion cells are localized in the periphery of the retina (24), and thus does not have the same validity as RNFL examination. Existing VF examination programs in glaucoma mainly focus on the central region of the VF. Regarding the choice of the test, Heijl and Patella recommend the use of a central 30° examination in glaucoma with 54 examination points (Humphrey field analyzer from Carl Zeiss Meditec SRN) (25). This view is shared by the authors of the fourth edition of Essential Perimeters (26). The Medmont device examines the VF in glaucoma from 0-22° temporally, and 0-50° nasally, for a total of 104 points.

As ganglion cell fibers converge on the optic nerve target, their examination is also much more accessible and has a higher sensitivity than VF examination. Therefore, even changes in ganglion cells that are not detectable by VF examination will

Parameter	PP-VDa	PP-VDs	WI-VDa	WI-VDs	RNFL	IOP	OD	Age
PP-VDa	1.00	0.93ª	0.81ª	0.82ª	0.72ª	-0.41ª	0.13	-0.08
PP-VDs	0.93ª	1.00	0.68ª	$0.87^{\mathrm{a}}$	$0.70^{\mathrm{a}}$	-0.42ª	0.09	-0.08
WI-VDa	0.82ª	0.68ª	1.00	$0.70^{\mathrm{a}}$	0.58ª	-0.36ª	0.13	-0.57
WI-VDs	0.82ª	$0.87^{\mathrm{a}}$	$0.70^{\mathrm{a}}$	1.00	0.63ª	-0.46ª	0.06	-0.07
RNFL	0.72ª	$0.70^{\mathrm{a}}$	0.60ª	0.63ª	1.00	-0.39ª	0.14	-0.06
IOP	-0.41ª	-0.42ª	-0.36ª	-0.46 <sup>a</sup>	-0.39ª	1.00	-0.19 <sup>a</sup>	0.21ª
OD	0.14	0.09	0.13	0.06	0.14	-0.19ª	1.00	0.23ª
Age	-0.08	-0.08	-0.06	-0.07	-0.06	0.21ª	0.23ª	1.00

Table I. Correlation analysis between the measured parameters in the entire cohort.

<sup>a</sup>P<0.05. PP-VDa, peripapillary vessel density of all vessels; PP-VDs, peripapillary vessel density of small vessels; WI-VDa, vessel density of all vessels of the whole image; WI-VDs, vessel density of small vessels of the whole image; RNFL, retinal nerve fiber layer; OD, overall defect; IOP, intraocular pressure.

Table II. Correlation between the measured parameters in the 18 eyes with an IOP  $\leq 20$  mmHg.

Parameter	PP-VDa	PP-VDs	WI-VDa	WI-VDs	RNFL	IOP	OD	Age
PP-VDa	1.00	0.95ª	0.94ª	0.88ª	0.73ª	0.04	0.01	0.04
PP-VDs	0.95ª	1.00	0.89ª	0.92ª	0.62ª	-0.02	-0.02	0.12
WI-VDa	0.94ª	0.89ª	1.00	0.95ª	0.56ª	-0.04	0.12	-0.01
WI-VDs	0.88ª	0.92ª	0.95ª	1.00	0.43	-0.06	0.12	0.08
RNFL	0.73ª	0.62ª	0.56ª	0.43	1.00	-0.06	-0.05	0.23
IOP	0.04	-0.02	-0.04	-0.06	-0.06	1.00	0.29	-0.08
OD	0.01	-0.02	0.12	0.12	-0.05	0.29	1.00	0.47
Age	0.00	0.12	-0.01	0.8	0.23	-0.08	0.47	1.00

<sup>a</sup>P<0.05. PP-VDa, peripapillary vessel density of all vessels; PP-VDs, peripapillary vessel density of small vessels; WI-VDa, vessel density of all vessels of the whole image; WI-VDs, vessel density of small vessels of the whole image; RNFL, retinal nerve fiber layer; OD, overall defect; IOP, intraocular pressure.

Table III. Correlation between the measured parameters in the 39 eyes with an IOP of 20-22 mmHg.

Parameter	PP-VDa	PP-VDs	WI-VDa	WI-VDs	RNFL	IOP	OD	Age
PP-VDa	1.00	0.93ª	0.80ª	0.81ª	0.72ª	-0.43ª	0.15	-0.08
PP-VDs	0.93ª	1.00	$0.67^{a}$	0.86ª	0.71ª	-0.45ª	0.10	-0.10
WI-VDa	$0.80^{a}$	0.67ª	1.00	0.68ª	0.59ª	-0.34ª	0.12	-0.05
WI-VDs	0.81ª	0.86ª	$0.69^{a}$	1.00	0.66ª	-0.48ª	0.54	-0.08
RNFL	0.72ª	0.71ª	0.59ª	0.66ª	1.00	-0.42ª	0.18	-0.10
IOP	-0.43ª	-0.45ª	-0.34 <sup>a</sup>	$-0.48^{a}$	-0.42 <sup>a</sup>	1.00	-0.27ª	0.21ª
OD	0.15	0.11	0.13	0.05	0.18	-0.27ª	1.00	0.18
Age	-0.08	-0.10	-0.05	-0.08	-0.10	0.21ª	0.18	1.00

<sup>a</sup>P<0.05. PP-VDa, peripapillary vessel density of all vessels; PP-VDs, peripapillary vessel density of small vessels; WI-VDa, vessel density of all vessels of the whole image; WI-VDs, vessel density of small vessels of the whole image; RNFL, retinal nerve fiber layer; OD, overall defect; IOP, intraocular pressure.

show up in the RNFL on the optic nerve target (27). When using the Medmont device to examine the VF, the overall defect and pattern defect indices are used (28). In our previous study, the specificity of OD VF for HTG was confirmed (27). Therefore, this parameter was selected for analysis in the present study. In the present study, RNFL and OD were moderately correlated only in the group of eyes with IOP  $\geq$ 24 mmHg. In the other groups, there was a very weak correlation. However, changes

Parameter	PP-VDa	PP-VDs	WI-VDa	WI-VDs	RNFL	IOP	OD	Age
PP-VDa	1.00	0.93ª	0.80ª	0.83ª	0.79ª	-0.48ª	0.24	-0.17
PP-VDs	0.93ª	1.00	$0.67^{a}$	0.89ª	$0.80^{\mathrm{a}}$	-0.53ª	0.18	-0.20
WI-VDa	$0.80^{a}$	0.67ª	1.00	$0.67^{\mathrm{a}}$	$0.64^{a}$	-0.37ª	0.22	-0.07
WI-VDs	0.83ª	0.89ª	0.69ª	1.00	$0.78^{\mathrm{a}}$	-0.54ª	0.16	-0.18
RNFL	0.79ª	$0.80^{a}$	0.64ª	0.78ª	1.00	-0.54ª	0.19	-0.24
IOP	-0.48ª	-0.53ª	-0.37ª	-0.54ª	-0.54 <sup>a</sup>	1.00	-0.33ª	0.32ª
OD	0.24	0.16	0.22	0.16	0.19	-0.33ª	1.00	0.13
Age	-0.17	-0.20	-0.70	-0.18	-0.24	0.32ª	0.13	1.00

Table IV. Correlation between the measured parameters in the 32 eyes with an IOP of 22-24 mmHg.

<sup>a</sup>P<0.05. PP-VDa, peripapillary vessel density of all vessels; PP-VDs, peripapillary vessel density of small vessels; WI-VDa, vessel density of all vessels of the whole image; WI-VDs, vessel density of small vessels of the whole image; RNFL, retinal nerve fiber layer; OD, overall defect; IOP, intraocular pressure.

Table V. Correlation between the measured parameters in the 33 eyes with an IOP of  $\geq$ 24 mmHg.

Parameter	PP-VDa	PP-VDs	WI-VDa	WI-VDs	RNFL	IOP	OD	Age
PP-VDa	1.00	0.99ª	0.96ª	0.96ª	0.87ª	-0.56ª	0.35	-0.17
PP-VDs	0.99ª	1.00	0.95ª	0.97ª	0.85ª	-0.56ª	0.36ª	-0.17
WI-VDa	0.96ª	0.95ª	1.00	0.99ª	$0.87^{\mathrm{a}}$	-0.53ª	0.32	-0.16
WI-VDs	0.96 <sup>a</sup>	0.97 <sup>a</sup>	0.99ª	1.00	$0.87^{\mathrm{a}}$	-0.57ª	0.35ª	-0.17
RNFL	$0.87^{a}$	0.85ª	$0.87^{\mathrm{a}}$	0.87ª	1.00	-0.59ª	0.48ª	-0.17
IOP	-0.56ª	-0.56ª	-0.53ª	-0.57 <sup>a</sup>	-0.59ª	1.00	-0.53ª	0.35ª
OD	0.35	0.36 <sup>a</sup>	0.32	0.35ª	$0.48^{a}$	-0.53ª	1.00	0.19
Age	-0.17	-0.17	-0.17	-0.17	-0.17	0.35ª	0.19	1.00

<sup>a</sup>P<0.05. PP-VDa, peripapillary vessel density of all vessels; PP-VDs, peripapillary vessel density of small vessels; WI-VDa, vessel density of all vessels of the whole image; RNFL, retinal nerve fiber layer; OD, overall defect; IOP, intraocular pressure.

in OD of VF were already observed in eyes where the IOP was 20-22 mmHg. There was a moderate correlation between IOP and OD in eyes with IOP >24 mmHg. With an increase in IOP, RNFL changes and damage of the posterior pole vessels was observed in this study. The most important factor of this study was the identification of the relationship between VD and RNFL; in the eyes with an IOP value  $\leq$ 20, a moderate to strong correlation was observed between these parameters. This relationship increased as the IOP value increased, with a very strong correlation in the eyes with an IOP value >24 mmHg).

The clear and most important conclusion of this paper is the relationship between VD and RNFL. In the eyes with an IOP value  $\leq 20$ , a moderate to strong correlation between these parameters was observed, and this relationship increased with increasing IOP, up to a very strong correlation in eyes with an IOP value >24 mmHg. Optic nerve angiography should be a useful and integral part of the diagnosis of hypertensive glaucoma.

#### Acknowledgements

Not applicable.

#### Funding

No funding was received.

#### Availability of data and materials

All datasets generated and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

#### Authors' contributions

JK and JL are the authors of the main idea and designed and created the main theoretical parts of this review. EN contributed to the design and implementation of research, examination image results analysis and to writing of the manuscript. All authors have read and approved the final manuscript.

#### Ethics approval and consent participate

All patient results and images included in this review were retrospectively used with prior patient consent. The consent was in accordance with the principles stated in the Helsinki Declaration and as approved by the Internal Ethics Committee of the Eye Clinic JL Faculty of Biomedical Engineering CTU in Prague.

#### Patient consent for publication

Not applicable.

#### **Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

#### References

- Lešták J and Fůs M: Neuroprotection in glaucoma-electrophysiology. Exp Ther Med 19: 2401-2405, 2020.
- Jia Y, Wei E, Wang X, Zhang X, Morrison JC, Parikh M, Lombardi LH, Gattey DM, Armour RL, Edmunds B, *et al*: Optical coherence tomography angiography of optic disc perfusion in glaucoma. Ophthalmology 121: 1322-1332, 2014.
- Morgan JE, Uchida H and Caprioli J: Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma. Br J Ophthalmol 84: 303-310, 2000.
- 4. Morgan JE: Retinal ganglion cell shrinkage in glaucoma. J Glaucoma 11: 365-370, 2002.
- 5. Naskar R, Wissing M and Thanos S: Detection of early neuron degeneration and accompanying microglial responses in the retina of a rat model of glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 43: 2962-2968, 2002.
- Shou T, Liu J, Wang W, Zhou Y and Zhao K: Differential dendritic shrinkage of alpha and beta retinal ganglion cells in cats with chronic glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 44: 3005-3010, 2003.
- Soto I, Oglesby E, Buckingham BP, Son JL, Roberson ED, Steele MR, Inman DM, Vetter ML, Horner PJ and Marsh-Armstrong N: Retinal ganglion cells downregulate gene expression and lose their axons within the optic nerve head in a mouse glaucoma model. J Neurosci 28: 548-561, 2008.
- Yu PK, Cringle SJ and Yu DY: Correlation between the radial peripapillary capillaries and the retinal nerve fibre layer in the normal human retina. Exp Eye Res 129: 83-92, 2014.
- Lee EJ, Lee KM, Lee SH and Kim TW: OCT Angiography of the peripapillary retina in primary open-angle glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 57: 6265-6270, 2016.
- 10. Triolo G, Rabiolo A, Shemonski ND, Fard A, Di Matteo F, Sacconi R, Bettin P, Magazzeni S, Querques G, Vazquez LE, *et al*: Optical Coherence tomography angiography macular and peripapillary vessel perfusion density in healthy subjects, glaucoma suspects, and glaucoma patients. Invest Ophthalmol Vis Sci 58: 5713-5722, 2017.
- 11. Yarmohammadi A, Zangwill LM, Diniz-Filho A, Suh MH, Yousefi S, Saunders LJ, Belghith A, Manalastas PI, Medeiros FA and Weinreb RN: Relationship between optical coherence tomography angiography vessel density and severity of visual field loss in glaucoma. Ophthalmology 123: 2498-2508, 2016.
- Holló G: Progressive decrease of peripapillary angioflow vessel density during structural and visual field progression in early primary open-angle glaucoma. J Glaucoma 26: 661-664, 2017.
- 13. Ma ZW, Qiu WH, Zhou DN, Yang WH, Pan XF and Chen H: Changes in vessel density of the patients with narrow antenior chamber after an acute intraocular pressure elevation observed by OCT angiography. BMC Ophthalmol 19: 132, 2019.

- 14. Khayrallah O, Mahjoub A, Ben Abdesslam N, Mahjoub A, Ghorbel M, Mahjoub H, Knani L and Krifa F: Optical coherence tomography angiography vessel density parameters in primary open-angle glaucoma. Ann Med Surg (Lond) 69: 102671, 2021.
- Chung JK, Hwang YH, Wi JM, Kim M and Jung JJ: Glaucoma diagnostic ability of the Opticalcoherence tomography angiography vessel density parameters. Curr Eye Res 42: 1458-1467, 2017.
- Rao HL, Dasari S, Riyazuddin M, Puttaiah NK, Pradhan ZS, Weinreb RN, Mansouri K and Webers CAB: Diagnostic ability and structure-function relationship of peripapillary optical microangiography measurements in glaucoma. J Glaucoma 27: 219-226, 2018.
- 17. Richter GM, Sylvester B, Chu Z, Burkemper B, Madi I, Chang R, Reznik A, Varma R and Wang RK: Peripapillary microvasculature in the retinal nerve fiber layer in glaucoma by optical coherence tomography angiography: Focal structural and functional correlations and diagnostic performance. Clin Ophthalmol 12: 2285-2296, 2018.
- Rao HL, Dasari S, Puttaiah NK, Pradhan ZS, Moghimi S, Mansouri K, Webers CAB and Weinreb RN: Optical microangiography and progressive retinal nerve fiber layer loss in primary open angle glaucoma. Am J Ophthalmol 233: 171-179, 2021.
- Mansoori T, Sivaswamy J, Gamalapati JS and Balakrishna N: Topography and correlation of radial peripapillary capillary density network with retinal nerve fibre layer thickness. Int Ophthalmol 38: 967-974, 2018.
- 20. Feher J, Pescosolido N, Tranquilli Leali FM and Cavalloti C: Microvessels of the human optic nerve head: Ultrastructural and radioreceptorial changes in eyes with increased IOP. Can J Ophthalmol 40: 492-498, 2005.
- 21. Vorwerk CK, Gorla MS and Dreyer EB: An experimental basis for implicating excitotoxicity in glaucomatous optic neuropathy. Surv Ophthalmol 43 (Suppl 1): S142-S150, 1999.
- Tsuda Ý, Nakahara T, Ueda K, Mori A, Sakamoto K and Ishii K: Effect of nafamostat on N-methyl-D-aspartate-induced retinal neuronal and capillary degeneration in rats. Biol Pharm Bull 35: 2209-2213, 2012.
- 23. Díaz F, Villena A, Vidal L, Moreno M, García-Campos J and Pérez de Vargas I: Experimental model of ocular hypertension in the rat: Study of the optic nerve capillaries and action of hypotensive drugs. Invest Ophthalmol Vis Sci 51: 946-9951, 2010.
- Quigley HA, Sanchez RM, Dunkelberger GR, L'Hernault NL and Baginski TA: Chronic glaucoma selectively damages large optic nerve fibers. Invest Ophthalmol Vis Sci 28: 913-920, 1987.
- nerve fibers. Invest Ophthalmol Vis Sci 28: 913-920, 1987.
  25. Heijl A and Patella VM: The field analyser primer. Essential perimetry. Third edition. Carl Zeiss Meditec Inc. pp26, 2002. ISBN: 0-9721560-0-3.
- Heijl A, Patella VM and Bengtsson B: The field analyser primer. Essential perimetry. Fourth edition. Carl Zeiss Meditec Inc. pp29, 2012. ISBN: 0-9884795-0-8.
- 27. Lestak J and Fus M: Visual field assessment in hypertension glaucoma. Cesk Slov Oftalmol 77: 22-26, 2021.
- 28. https://medmont.com.au/m700-automated-perimeter/ Accessed date: 25.02.2022.
- Lestak J, Jiraskova N, Zakova M and Stredova M: Normotensive glaucoma. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub: Sep 11, 2018. (Epub ahead of print). doi: 10.5507/bp.2018.039



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) License.

# 5.2 Korelace NOT a RNFL v jednotlivých peripapilárních segmentech

Výsledky hodnocení korelace NOT a RNFL separovaných do peripapilárních segmentů byly publikovány v článku *The Relationship Between the Thickness of cpRNFL in Segments and Intraocular Pressure*, který je v následujícím textu citován pod referenčním číslem [28]Plná verze článku je uvedena za touto kapitolou.

Největší závislostí RNFL a NOT byly pozorovány v segmentech 1 (r=-0,23), 4 (r=-0,24), 5 (r=-0,3) a 8 (r=-0,28). Rozdíly mezi těmito segmenty jsou poměrně malé. Nejvyšší korelace byla pozorována u segmentu 5 a žádná korelace u segmentu 2. Závislost NOT na OD (r=-0,15, p=0,09) nebyla pozorována. OD vykazovala velmi slabou závislost pouze v segmentu 8 (r=-0,18). [28]

Přínosem publikované práce je zjištění, že mezi hodnotou NOT a RNFL je významná korelace jen v segmentech IT, ST, SN a IN. Nejvyšší ale byla v segmentech SN r=-0,31 a IN r=-0,28. To znamená v segmentech, do kterých vstupují axony magnocelulárních SGB, které jsou u glaukomu nejvíce poškozeny.

ORIGINAL RESEARCH

# The Relationship Between the Thickness of cpRNFL in Segments and Intraocular Pressure

Jan Lešták 🝺, Martin Fůs 🝺, Jakub Král

Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, Kladno, Czech Republic

Correspondence: Jan Lešták, Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, nám. Sítná 3105, Kladno, 272 01, Czech Republic, Tel +420 602 336 770, Email lestak@seznam.cz

**Purpose:** The aim of this study was to investigate whether the retinal nerve fibre layer (RNFL) in some segments of the optic nerve disc in pathological intraocular pressure is more damaged in eyes without antiglaucoma treatment.

**Patients and Methods:** The cohort consisted of 69 subjects (122 eyes), 32 males (6x one, 26x both eyes) aged 21 to 76 years and 37 females (4x one and 30x both eyes) aged 22 to 75 years, who were measured to have IOP greater than 21 mmHg (21–36) in routine ambulatory care. Measurements were performed using the Ocular Response Analyser, taking into account corneal hysteresis. RNFL thickness was measured using the Avanti RTVue XR and was assessed in 8 segments (1-IT, 2-TI, 3-TS, 4-ST, 5-SN, 6-NS, 7-NI, 8-IN). The visual field was examined with a fast threshold glaucoma program using the Medmont M700. The overall defect (OD) was evaluated. Pearson's correlation coefficient r was used to assess the dependence between the selected parameters.

**Results:** The largest peripapillary changes in RNFL were observed in segments 1, 4, 5 and 8. It should be emphasized that segments 1 and 4 have been temporarily shifted. Segments 5 and 8 then corresponded to the upper (at no. 12) and lower (at no. 6) sectors.

**Conclusion:** The most important result of this study is the finding that the greatest changes in the RNFL layer were observed in pathological IOP at segment 5 (r=-0.3) and 8 (r=-0.28), at the point where the fibres of the magnocellular retinal ganglion cells enter the retina.

Keywords: IOP, OCTA, RNFL, overall defect of visual field

#### Introduction

Intraocular pressure (IOP) is a major risk factor for the development and progression of glaucoma.<sup>1,2</sup> After an increase in IOP, the ganglion cells of the retina are altered. Studies of different animal models of glaucoma have revealed a higher sensitivity of magnocellular ganglion cells.<sup>3,4</sup>

Magnocellular ganglion cells of the retina are also referred to in the literature as alpha, M, Y or parasol. Shou et al also showed in an experiment that the loss of magnocellular cells is greater than that of parvocellular cells. Cell density of all ganglion cell types in the retina decreased with glaucoma duration, and cell loss was more significant in large ganglion cells than in beta cells (parvocellular).<sup>5</sup>

Weber et al described that the first changes after IOP increase occur in ganglion cells themselves (shrinking of the dendritic tree and the cell's body) and that their axons only subsequently narrow.<sup>6</sup> Similarly, Naskar et al showed in an experiment that changes at the level of ganglion cells occur earlier than changes in their axons.<sup>7</sup> The retinal axon interruptions were found localised in a narrow transverse line at the level of the posterior part of the lamina cribrosa and immediately behind it. Retinal axons in front of this zone were mostly intact.<sup>8</sup>

This was demonstrated in an experiment by Soto et al, who found in mouse models that retinal ganglion cell degeneration in glaucoma has two separate stages: the first involves ganglion cell atrophy and the second involves damage to the ganglion cell axons. The retrolaminar degeneration of axons takes place before the degeneration of their intraretinal parts.<sup>9</sup> The study by Quigley et al confirmed that these are predominantly magnocellular fibres. Larger diameter fibres died faster than smaller fibres, although no fibre size was completely spared at any stage of atrophy.<sup>10</sup> Although retinal magnocellular cells die before their axons

3673

in hypertensive glaucoma, their diagnosis is difficult. Obviously, in the early stages of hypertension glaucoma (HTG), when the first changes occur in the retinal ganglion cells, we cannot even theoretically detect a decrease in sensitivity in the central part of the visual field.<sup>11</sup>

Therefore, it is more appropriate and accessible to examine their axons on the optic nerve disc, where their concentration is the highest. Since RNFLs are assessed using their average values, we wondered whether their decline would be more pronounced in some segments. This would also be crucial for early diagnosis and thus early treatment. In our previous study (where the effect of IOP on RNFL and vessel density was investigated), no correlation was found between IOP and RNFL in eyes with normal IOP (r=-0.06), but a moderate correlation was found for IOP above 20 mmHg (-0.418 < r > -0.59).<sup>12</sup> For that reason, the aim of this study was also to define the dependence of RNFL in the individual segments, on the level of IOP.

#### **Materials and Methods**

The prospective cohort study consisted of 69 subjects (122 eyes), 32 males (6x one, 26x both eyes) aged 21 to 76 years and 37 females (4x one and 30x both eyes) aged 22 to 75 years, who were measured to have IOP greater than 21 mmHg (21–36) in routine ambulatory care. IOP was the result of the average of three measurements with the Ocular Response Analyser (ORA). The inclusion criteria were as follows: IOP greater than 21 mmHg, visual acuity of 1.0 with possible correction of less than  $\pm 3$  dioptres, approximately equal changes in visual fields in all eyes, no other ocular or neurological disease, and no prior treatment for hypertensive glaucoma. RNFL thickness was measured using the Avanti RTVue XR in the inter-circular range (2–4 mm radius from the centre of the papilla). We evaluated their thickness in 8 peripapillary segments. Because the segments did not conform to anatomical terminology, we labeled them with numbers 1–8. The first began with the inferior temporal IT-1, TI-2, TS-3, ST-4. Similarly, nasal SN-5, NS-6, NI-7, IN-8 (see Figure 1). Values were adjusted according to the age of the patient. The visual field was examined using the Medmont M 700 rapid threshold glaucoma program to evaluate the overall defect (OD) parameter. This examination also served to exclude other influences on the changes in the visual field. To assess the relationship between individual intraocular pressure ranges and RNFL values, we used Pearson's correlation coefficient r (r = 0.00-0.19 very weak, r =0.20-0.39 weak, r = 0.40-0.59 moderate, r = 0.60-0.79 strong, r = 0.80-1.00 very strong).



Figure I Designation of individual segments. Abbreviations: T, temporal; N, nasal.

		Age	OD	IOP			RN	FL (Anal	ysed Sec	tor)		
					Т	2	3	4	5	6	7	8
Age		I	0.13	0.25*	0.03	0.12	0.24*	0.12	-0.01	0.03	0.18*	0.03
OD		0.13	I	-0.15	0.05	0.01	0.12	-0.05	0.06	-0.01	0.05	0.18*
IOP		0.25*	-0.15	I	-0.23*	-0.02	-0.04	-0.24*	-0.31*	-0.14	-0.06	-0.28*
RNFL (analysed sector)	I	0.03	0.05	-0.23*	I	0.72*	0.50*	0.68*	0.39*	0.44*	0.34*	0.34*
	2	0.12	0.01	-0.02	0.72*	I	0.67*	0.58*	0.25*	0.35*	0.27*	0.10
	3	0.24*	0.12	-0.04	0.50*	0.67*	I	0.71*	0.11	0.19*	0.32*	0.26*
	4	0.12	-0.05	-0.24*	0.68*	0.58*	0.71*	I	0.30*	0.38*	0.35*	0.28*
	5	-0.01	0.06	-0.31*	0.39*	0.25*	0.11	0.30*	Ι	0.48*	0.40*	0.57*
	6	0.03	-0.01	-0.14	0.44*	0.35*	0.19*	0.38*	0.48*	I	0.63*	0.37*
	7	0.18*	0.05	-0.06	0.34*	0.27*	0.32*	0.35*	0.40*	0.63*	I	0.52*
	8	0.03	0.18*	-0.28*	0.34*	0.10	0.26*	0.28*	0.57*	0.37*	0.52*	I

 Table I Aggregate Data Mainly on the Relationship Between IOP and RNFL in Each Segment. I-IT, 2-TI, 3-TS, 4-ST, 5-SN, 6-NS, 7-NI, 8-in

**Note**: \*Marked correlations are significant at p > 0.05.

#### Results

The values of correlation coefficients of RNFL (retinal nerve fibre layer) parameters in each evaluated segment are shown in Table 1. Result shows that the largest changes in RNFL were observed in segments 1 (r=-0.23), 4 (r=-0.24), 5 (r=-0.3) and 8 (r=-0.28). The differences between these segments are rather small. The highest correlation was observed



Figure 2 RNFL dependence on IOP in segment number 5.



Figure 3 RNFL dependence on IOP in segment number 2.

for segment 5 (see Figure 2) and no correlation for segment 2 (Figure 3). Dependence of IOP on OD (r=-0.15, p=0.09) was not observed. OD showed very weak dependence only in segment 8 (r=-0.18), IOP increased with increasing age (r=0.24, p=0.006).

#### Discussion

As mentioned in the Introduction, early changes in retinal magnocellular cells occur after pathological IOP elevation. Perimetric examination of magnocellular ganglion cells, which are localised in the periphery of the retina, does not have the same validity as RNFL examination. Because the ganglion cell fibres converge to the optic disc, their examination is much more accessible and has a higher sensitivity than examination of the visual field.

It was already confirmed in the last century that changes in the RNFL outpace changes in the perimeter.<sup>13–16</sup> The present studies are consistent with this conclusion.<sup>17</sup> The current issue is to diagnose early the magnocellular cell fibres, which are more damaged in HTG.

#### **Retinal Ganglion Cells**

Magnocellular retinal cells are morphologically characterised not only by large somata and dendritic tree, but also by thicker axons.<sup>18</sup>

Of the total number of ganglion cells in the human fovea, there are midget cells (about 90%), parasol cells (about 5%) and small bistratified cells (about 1%). In the periphery, midget cells make up about 40–45% of the total, parasol cells about 20% and small bistratified cells about 10%. Thus, from the periphery to the central retina, the number of midget ganglion cells gradually increases compared to the parasol and small bistratified types.<sup>19</sup>

In both young and old adults, the magnocellular cells are regularly distributed in a Gaussian fashion along radii that extend from the perimacula toward the far periphery. Dawson et al did not find these cells in the central retina. Magnocellular cells may be particularly susceptible to damage in the early stages of inner retinal disease.<sup>20</sup>

The dendritic fields of both parasol and midget ganglion cells are smaller in the nasal retina than in the temporal retina, which is equidistant from the fovea.<sup>21</sup>

Because the number of ganglion cells is smaller in the temporal retinal periphery, their dendritic tree must also be larger to cover the retina than in the nasal periphery.

This is consistent with the study by Gurcio and Allen, who found in the peripheral retina that the densities in the nasal retina exceeded those in the corresponding eccentricities in the temporal retina by more than 300%; the superior exceeded the inferior by 60%.<sup>22</sup>

#### Retinal Ganglion Cell Axons

The location of nerve fibres from the periphery of the temporal parts of the retina, by avoiding the macular fibres, to the upper and lower sectors of the optic nerve disc have been described for almost a century.<sup>23</sup>

This was confirmed by Hunter et al, who followed the in vivo course of myelinated nerve fibres in the retina of 47 eyes.<sup>24</sup>

Analysis by Drenhaus et al revealed distinct groups of axon diameters, with the following mean axon diameters and proportions. The group of small axons with a diameter of 0.55 micrometres accounted for 70%. The group of medium-sized axons with a diameter of 1.39 microns is 10%.<sup>25</sup>

Inferior and/or nasal RGC axons were on average larger than superior and/or temporal axons. The inferior retina contained some very large axons. Foveal axons were on average smaller than non-foveal axons. Peripheral axons were significantly larger, in contrast to inferior temporal retinal samples or samples nasal to the optic disc.<sup>26</sup>

#### Pathology of Nerve Fibres

Post-mortem examinations have shown that the most susceptible fibres of the optic papilla appear to fall within an hourglass-shaped zone, with the two widest portions located at the position of 12 o'clock and 6 o'clock.<sup>13,27</sup> Visual field defects associated with glaucoma usually initially occur in the upper visual field (corresponding to defects at the lower pole of the disc).<sup>28–30</sup> Optic nerve fibres of larger than average diameter died more rapidly than smaller fibres, although no fibre size was completely spared at any stage of atrophy.<sup>10</sup>

Another study by Quigley et al also demonstrated significant thinning of the RNFL in the lower quadrant in eyes with intraocular hypertension (OHT) compared to healthy eyes. The finding that initial RNFL thinning occurs in the lower quadrant of eyes with OHT is particularly interesting. Optic nerve defects associated with glaucoma often occur initially at the lower pole.<sup>31,32</sup> RNFL defects measured by OCT in the lower quadrant show the closest association with glaucoma status.<sup>33</sup>

Glaucomatous neuroretinal rim loss occurred in a sequence of sectors. It generally started in the inferotemporal region of the disc and then progressed to the superotemporal, temporal horizontal, inferior nasal and finally superior nasal sectors. This finding may be important for "early" diagnosis of glaucoma.<sup>34</sup>

RNFL thinning associated with increased IOP in monkeys was observed around the optic nerve disc from the positions of 6 o'clock to 9 o'clock after laser treatment, and the degree of RNFL thickness reduction varied between peripapillary sectors. Correlations between cumulative IOP increase and RNFL thickness reduction were statistically significant for the temporal-superior (p=0.024), nasal-inferior (p=0.044), and temporal (p=0.049) sectors.<sup>35</sup>

Tu et al worked on a similar model. They found that the most sensitive quadrants to IOP increase were the lower and upper quadrants of the RNFL, with the rate of RNFL change almost parallel to the IOP level.<sup>36</sup>

Similar conclusions in humans were reached by Bowd et al. The mean RNFL was significantly thinner in ocular hypertension than in normal eyes, at 72.8 micrometres (66.4–78.1 micrometres) and 85.8 micrometres (80.2–91.7 micrometres), respectively. More specifically, the RNFL was significantly thinner in ocular hypertension than in normal eyes in the inferior quadrant, 84.8 micrometres (75.6–94.0 micrometres) vs 107.6 micrometres (99.3–115.9 micrometres); and in the nasal quadrant, 44.1 micrometres (37.5–51.7 micrometres) vs 61.8 micrometres (53.0–65.6 micrometres). The retinal nerve fibre layer was significantly thinner in glaucoma eyes than in ocular hypertension and normal eyes throughout 360 degrees and in all quadrants.<sup>37</sup>

The basis is not known for these observations as described by Bowd et al. It is possible that RNFL thinning in the lower quadrant of eyes with OHT is an early form of glaucoma that precedes detectable optic nerve and/or visual field defects. Another possibility is that the RNFL in eyes with OHT may initially be thin in the lower quadrant, making these eyes particularly susceptible to the effects of elevated IOP.<sup>37</sup>

This review shows the most common RNFL changes in the vertical quadrants of the optic nerve disc. This study can also be used to specify precisely the individual segment.

It is clear from Gurcio's study that the lowest number of ganglion cells in the periphery of the human retina is found in the inferior temporal quadrant, followed by the superior temporal quadrant. This corresponds to the inputs to the optic nerve disc in the inferior temporal and superior temporal sectors. Even the results of our study are consistent with this fact. Taking into account the fact that magnocellular cells in HTG do not die selectively, but to a lesser extent also with parvocellular cells, their loss is more noticeable due to the thickness of their axons.

We have shown that with increasing IOP, there are changes in RNFL in segments 1, 4, 5 and 8. It is highest for no. 5, which corresponds to the upper segment (r=-0.3, p=0.0006) and no. 8, which corresponds to the lower segment (r=-0.2785, p=0.002). That is, just at the point where the fibres of the magnocellular ganglion cells enter the optic nerve disc. The loss of these axons relative to their thickness gives us a great chance to diagnose their early damage.

#### Conclusion

The unequivocal conclusion of this study is the finding of significant RNFL damage in the lower and upper segments. These are axons of predominantly magnocellular cells.

#### **Ethics Approval**

The present study was performed according to the Declaration of Helsinki and was approved by the internal ethics committee of the Ophthalmology Clinic JL (Prague, Czech Republic). All details, medical records, figures, medical history or test results were used with the written consent for publication from the patient, which is available from the corresponding author on reasonable request. All data used were anonymized.

#### Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

### References

- 1. Bengtsson B, Heijl A. Diurnal IOP fluctuation: not an independent risk factor for glaucomatous visual field loss in high-risk ocular hypertension. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2005;243:513–518. doi:10.1007/s00417-004-1103-8
- Guo L, Moss SE, Alexander RA, Ali RR, Fitzke FW, Cordeiro MF. Retinal ganglion cell apoptosis in glaucoma is related to intraocular pressure and IOP-induced effects on extracellular matrix. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:175–182. doi:10.1167/iovs.04-0832
- 3. Morgan JE, Uchida H, Caprioli J. Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma. Br J Ophthalmol. 2000;84:303–310. doi:10.1136/ bjo.84.3.303
- 4. Morgan JE. Retinal ganglion cell shrinkage in glaucoma. J Glaucoma. 2002;11:365-370. doi:10.1097/00061198-200208000-00015
- 5. Shou T, Liu J, Wang W, Zhou Y, Zhao K. Differential dendritic shrinkage of alpha and beta retinal ganglion cells in cats with chronic glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:3005–3010. doi:10.1167/iovs.02-0620
- 6. Weber AJ, Kaufman PL, Hubbard WC. Morphology of single ganglion cells in the glaucomatous primate retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39:2304–2320.
- 7. Naskar R, Wissing M, Thanos S. Detection of early neuron degeneration and accompanying microglial responses in the retina of a rat model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:2962–2968.
- 8. Vrabec F. Glaucomatous cupping of the human optic disk: a neuro-histologic study. Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol. 1976;198:223-234. doi:10.1007/BF00410715
- 9. Soto I, Oglesby E, Buckingham BP, et al. Retinal ganglion cells downregulate gene expression and lose their axons within the optic nerve head in a mouse glaucoma model. *J Neurosci.* 2008;28:548–561. doi:10.1523/JNEUROSCI.3714-07.2008
- 10. Quigley HA, Dunkelberger GR, Green WR. Chronic human glaucoma causing selectively greater loss of large optic nerve fibers. *Ophthalmology*. 1988;95:357–363. doi:10.1016/s0161-6420(88)33176-3
- 11. Lešták J, Fůs M. Visual field assessment in hypertension glaucoma. Cesk Slov Oftalmol. 2021;77:20-24.
- 12. Kral J, Lestak J, Nutterová E. OCT angiography, RNFL and visual field at different values of intraocular pressure. *Biomed Rep.* 2022;16(5):36. doi:10.3892/br.2022.1519
- Quigley HA, Addicks EM, Green WR. Optic nerve damage in human glaucoma, III: quantitative correlation of nerve fiber loss and visual field defect in glaucoma, ischemic neuropathy, papilledema, and toxic neuropathy. *Arch Ophthalmol.* 1982;100:135–146.
- Quigley HA, Dunkelberger GR, Green WR. Retinal ganglion cell atrophy correlated with automated perimetry in human eyes with glaucoma. Am J Ophthalmol. 1989;107:453–464. doi:10.1016/0002-9394(89)90488-1
- 15. Sommer A, Katz J, Quigley HA, et al. Clinical detectable nerve fiber atrophy precedes the onset of glaucomatous field loss. *Arch Ophthalmol.* 1991;109:77–83. doi:10.1001/archopht.1991.01080010079037
- 16. Quigley HA, Enger C, Katz J, et al. Risk factors for the development of glaucomatous visual field loss in ocular hypertension. *Arch Ophthalmol.* 1994;112:644–649. doi:10.1001/archopht.1994.01090170088028

- Fortune B, Burgoyne CF, Cull GA, Reynaud J, Wang L. Structural and functional abnormalities of retinal ganglion cells measured in vivo at the onset of optic nerve head surface change in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:3939–3950. doi:10.1167/iovs.12-9979
- Rodieck RW, Binmoeller KF, Dineen J. Parasol and midget ganglion cells of the human retina. J Comp Neurol. 1985;233:115–132. doi:10.1002/ cne.902330107
- 19. Dacey DM. Physiology, morphology and spatial densities of identified ganglion cell types in primate retina. *Ciba Found Symp.* 1994;184:12–28. doi:10.1002/9780470514610.ch2
- 20. Dawson WW, Hawthorne MN, Parmer R, Hope GM, Hueter R. Very large neurons of the inner retina of humans and other mammals. *Retina*. 1989;9:69–74. doi:10.1097/00006982-198909010-00009
- 21. Perry VH, Oehler R, Cowey A. Retinal ganglion cells that project to the dorsal lateral geniculate nucleus in the macaque monkey. *Neuroscience*. 1984;12:1101–1123. doi:10.1016/0306-4522(84)90006-x
- 22. Gurcio CA, Allen KA. Topography of ganglion cells in human retina. J Comp Neurol. 1990;300:5-25. doi:10.1002/cne.903000103
- Hertel E. Lehrbuch und Atlas der Augenheilkunde begrundet von Th. Axenfeld [Textbook and Atlas of Ophthalmology, founded by Th. Axenfeld]. Jena, Verlag von Gustav Fischer; 1935:549.
- 24. Hunter SF, Leavitt JA, Rodriguez M. Direct observation of myelination in vivo in the mature human central nervous systém A model for the behaviour of oligodendrocyte progenitors and their progeny. *Brain*. 1997;120:2071–2082. doi:10.1093/brain/120.11.2071
- 25. Drenhaus U, Gunten A, Rager G. Classes of axons and their distribution in the optic nerve of the tree shrew (Tupaia belangeri). Anat Rec. 1997;249:103-116. doi:10.1002/(SICI)1097-0185(199709)249:1<103::AID-AR13>3.0.CO;2-T
- FitzGibbon T, Taylor SF. Mean retinal ganglion cell axon diameter varies with location in the human retina. Jpn J Ophthalmol. 2012;56:631–637. doi:10.1007/s10384-012-0185-9
- Quigley HA, Addicks EM. Regional differences in the structure of the lamina cribrosa and their relation to glaucomatous optic nerve damage. Arch Ophthalmol. 1981;99:137–143. doi:10.1001/archopht.1981.03930010139020
- 28. Drance SM. The glaucomatous visual field. Br J Ophthalmol. 1972;56:186-200. doi:10.1136/bjo.56.3.186
- 29. Werner EB, Drance SM. Early visual field disturbances in glaucoma. Arch Oph-Thalmol. 1977;95:1173-1175. doi:10.1001/archopht.1977.04450070071002
- 30. Hart WM, Becker B. The onset and evolution of glaucomatous visual field defects. Ophthalmology. 1982;89:268-279. doi:10.1016/S0161-6420(82)34798-3
- Quigley HA, Addicks EM, Green WR, Maumenee AE. Optic nerve damage in human glaucoma, II: the site of injury and susceptibility to damage. Arch Ophthalmol. 1981;99:635–649. doi:10.1001/archopht.1981.03930010635009
- 32. Quigley HA, Hohman RM, Addicks EM, Massof RW, Green WR. Morphological changes in the lamina cribrosa correlated with neural loss in open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 1983;95:673–691. doi:10.1016/0002-9394(83)90389-6
- Schuman JS, Hee MR, Puliafito CA, et al. Quantification of nerve fiber layer thickness in normal and glaucomatous eyes using optical coherence tomography. Arch Ophthalmol. 1995;113:586–596. doi:10.1001/archopht.1995.01100050054031
- 34. Jonas JB, Fernandez MC, Sturmer J. Pattern of glaucomatous neuroretinal rim loss. Ophthalmology. 1993;100:63–68. doi:10.1016/S0161-6420(13) 31694-7
- 35. Noguchi T, Shimazawa M, Hamaguchi K, Araki T, Horai N, Hara H. Relationship between elevated intraocular pressure and divided peripapillary sector retinal nerve fiber layer thickness in a cynomolgus monkey laser-induced ocular hypertension model. *OphthalmicRes*. 2017;58:99–106. doi:10.1159/000471884
- 36. Tu S, Li K, Ding X, Hu D, Li K, Ge J. Relationship between intraocular pressure and retinal nerve fibre thickness loss in a monkey model of chronic ocular hypertension. *Eye.* 2019;33:1833–1841. doi:10.1038/s41433-019-0484-1
- 37. Bowd C, Weinreb RN, Williams JM, Zangwill LM. The retinal nerve fiber layer thickness in ocular hypertensive, normal, and glaucomatous eyes with optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol.* 2000;118:22–26. doi:10.1001/archopht.118.1.22

Clinical Ophthalmology

#### **Dovepress**

#### Publish your work in this journal

Clinical Ophthalmology is an international, peer-reviewed journal covering all subspecialties within ophthalmology. Key topics include: Optometry; Visual science; Pharmacology and drug therapy in eye diseases; Basic Sciences; Primary and Secondary eye care; Patient Safety and Quality of Care Improvements. This journal is indexed on PubMed Central and CAS, and is the official journal of The Society of Clinical Ophthalmology (SCO). The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit http://www. dovepress.com/testimonials.php to read real quotes from published authors.

Submit your manuscript here: https://www.dovepress.com/clinical-ophthalmology-journal

**If in Dove**Press



# 5.3 Korelace NOT a vrstvy RNFL po kompenzaci zastoupení cév ve sledovaném objemu segmentu

Aby bylo možné zjistit skutečnou (čistou) hodnotu RNFL byla odečtena pomocí parciálního korelačního koeficientu hodnota VD od RNFL. Řešení bylo publikováno v článku *Axons of retinal ganglion cells on the optic nerve disc following vessel density correction at different IOP values*, uvedeným pod referenčním číslem [29] a v plném znění na konci této kapitoly.

Přínosem práce je zjištění, že statisticky významná korelace byla mezi NOT a RNFL v peripapilárních segmentech IT, ST, SN a IN. Po odečtení hodnot VD od RNFL se korelace snížila do dvou segmentů, a to SN (r=-0,32) a IN (r=-0,39). Nejvyšší korelace byla v segmentu IN. To znamená v místech, kde do terče zrakového nervu vstupují axony magnocelulárních gangliových buněk z dolní temporální periferie sítnice.

## Axons of retinal ganglion cells on the optic nerve disc following vessel density correction at different IOP values

JÁN LEŠTÁK, MARTIN FŮS and JAKUB KRÁL

Department of Natural Sciences, Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, 27201 Kladno 2, Czech Republic

Received August 17, 2022; Accepted February 24, 2023

DOI: 10.3892/etm.2023.11960

Abstract. The present study aimed to determine how the vascular density (VD) in each segment peripapillary influences the retinal nerve fiber layer (RNFL) and to eliminate its contribution to RNFL in pathological intraocular pressure (IOP). In a cohort of 69 subjects (mean age, 45±6 years old) with untreated ocular hypertension (122 eyes in total) enrolled in this study, Ocular Response Analyser IOP was measured during routine outpatient care. Its value was >21 (range, 21-36) mmHg in all eyes. Furthermore, peripapillary VD and RNFL were measured using optical coherence tomography in the following eight segments: Inferior temporal (segment 1); temporal inferior (segment 2); temporal superior (segment 3); superior temporal (segment 4); superior nasal (segment 5); nasal superior (segment 6); nasal inferior (segment 7); and inferior nasal (segment 8). The visual field examination was performed with the fast threshold glaucoma program using the Medmont M 700. The overall defect was evaluated. Person's correlation coefficient was used to assess the correlation between VD and IOP. The largest changes were observed in peripapillary segments 1, 4, 5, 6, 7 and 8. The second part of the work was to eliminate the contribution of VD to RNFL. The partial correlation coefficient r was used to adjust RNFL from VD to assess the dependence between the selected parameters. The largest changes in RNFL were in segments 5 and 8 after they had been 'cleaned' of peripapillary VD. In conclusion, the present study revealed that the largest changes in RNFL after VD adjustment were observed for the incipient hypertensive glaucoma in segments 5 and 8.

E-mail: lestak@seznam.cz

#### Introduction

Hypertensive glaucoma (HTG) is a progressive disease, therefore early diagnosis and thus initiation of treatment is very important for preserving visual function (1). At present, HTG can be detected by measuring changes in the nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell complex and visual field, in addition to the observation of high intraocular pressure (IOP) (1). The introduction of optical coherence tomography angiography (OCTA) has brought new possibilities to the field of glaucoma over the past decade, by allowing the examination of peripapillary vessel density (VD) (1).

Our previous study investigating the relationship between IOP, RNFL and VD revealed no correlations between the variables assessed in eyes with normal IOP ( $\leq$ 20 mmHg). In healthy eyes, a moderate correlation was observed between VD and RNFL (-0.43<r<-0.73). In pathological IOP, there was a moderate correlation between VD and IOP (-0.34<r<-0.59) and a moderate correlation between IOP and RNFL (-0.42<r<0.59). The correlation between VD and RNFL in eyes with IOP >20 mmHg showed a moderate to strong correlation (0.59<r<-0.87) (2).

In another previous study that examined the relationship between pathological IOP and RNFL in individual peripapillary segments, the highest correlation was found in segments 1, 4, 5 and 8. This is where the axons of the predominantly damaged retinal ganglion cells (magnocellular) enter (3).

As not only the nerve fiber layer itself but also the vascular component contributes to the overall RNFL, the aim of the present study was to determine how VD in each segment peripapillary correlated with pathological IOP. Another aim was to exclude the contribution of the vascular component to RNFL at high IOP values.

#### Patients and methods

The study consisted of 69 individuals (122 eyes) with untreated ocular hypertension that were recruited between January to May 2022 at Ophthalmology Clinic JL (Prague, Czech Republic), including 32 males (6 with one eye examined and 26 with both eyes examined; age range, 21-76 years; mean age,  $55\pm13$  years) and 37 females (4 with one eye examined and 30 with both eyes examined; age range, 22-75 years; mean age,  $52\pm14$  years). Their IOP was measured to be >21 (21-36) mmHg

*Correspondence to:* Dr Ján Lešták, Department of Natural Sciences, Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, 3105 Náměstí Sítná, 27201 Kladno 2, Czech Republic

*Key words:* intraocular pressure, optical coherence tomography with angiography, vessel density, ocular hypertension, retinal nerve fiber layer

during routine ambulatory care and were not diagnosed with pseudoexfoliative or pigmentary glaucoma and had the same stage of POAG. The inclusion criteria were set as follows: Visual acuity of 1.0 with a possible correction of  $\leq 3$  dioptres; approximately equal changes in the visual fields [in the overall defect (OD) parameter] in all patients compared with the physiological range and no other ocular or neurological diseases and no prior treatment for hypertensive glaucoma.

IOP was measured using a non-contact Ocular Response Analyser II device (Reichert, Inc.), which was averaged from three measurements in the same eye. VD in the radial peripapillary capillaries region was measured using the in-built software of the Avanti RTVue XR instrument (version 2018.0.018; Optovue, Inc.) in eight peripapillary segments. As presented in Fig. 1, the first image was divided and marked to show the inferior temporal (IT; segment 1) followed by the temporal inferior (TI; segment 2), temporal superior (TS; segment 3), superior temporal (ST; segment 4), superior nasal (SN; segment 5), nasal superior (NS; segment 6), nasal inferior (NI; segment 7) and inferior nasal (IN; segment 8) segments. Examination of all segments was performed simultaneously in a single measurement. As presented in Fig. 2, similar peripapillary RNFL measurements in identical segments were performed with the same instrument (OCT Avanti RTVue XR instrument).

The visual field was examined using a fast threshold glaucoma strategy that measured the visual field in range  $50^{\circ}$  in nasal direction and  $22^{\circ}$  in temporal direction (Medmont M 700 automated perimeter; Medmont International Pty Ltd.). Therefore, visual field OD was assessed, which also served as an identifier for the study of unsuitable patients with visual field abnormalities potentially affecting outcomes.

The statistics were calculated using the software STATISTICA 13 (version 13.3.721.1; StatSoft). All quantitative data were expressed as mean  $\pm$  SD. Box-plots were used for visual comparison of the samples. Relationships between IOP and RNFL and IOP and VD were measured using Pearson's coefficient of correlation. The partial correlation coefficient was used to 'adjust' RNFL from VD to assess the dependence between the selected parameters and tells how the IOP value would correlate with the thickness of nerve fibers in a given segment if all patients in that segment had the same VD. P<0.05 was considered to indicate a statistically significant difference.

The present study was performed according to the Declaration of Helsinki and was approved by the internal ethics committee of the Ophthalmology Clinic JL (approval no. OKJL/220606/13; Prague, Czech Republic). Written informed consent for participation was obtained from all patients.

#### Results

The mean values of age, IOP, OD, VD and RNFL of the whole population used the in present study are presented in Table I. The correlation results between IOP and VD of all 122 eyes are included in Table II. No correlation was revealed between IOP and OD (r=-0.08, data not shown) (3). Furthermore, the correlation matrix showed that IOP was significantly but weakly correlated with VD in segments 1



Figure 1. Designation of each peripapillary segment in which RNFL and VD were evaluated. 1=Inferior temporal; 2=temporal inferior; 3=temporal superior; 4=superior temporal; 5=superior nasal; 6=nasal superior; 7=nasal inferior; 8=inferior nasal. T-temporal, N, nasal area.

(r=-0.29), 4 (r=-0.33), 5 (r=-0.29), 6 (r=-0.37), 7 (r=-0.32) and 8 (r=-0.23). The strongest correlation was revealed in segment 6, although the strength of the correlation was medium (r=-0.37). However, the differences of correlation coefficients among these segments were relatively small. For all segments, the correlation with IOP was negative. Therefore, it appeared that the higher the IOP value, the lower the VD value in each segment.

Values of correlation coefficients of the RNFL and VD parameters in each evaluated segment are presented in Table II. The values for the first were obtained from the same set of a previous study (3). The relationship between IOP and the observed nerve fiber segments after VD 'cleaning' were assessed using partial correlation coefficients. The partial correlation coefficient suggests how the IOP value would correlate with the thickness of nerve fibers in a given segment if all patients had the same VD in that segment. The partial correlation coefficient always takes values between -1 and 1. If r comes out close to -1, it indicates an inverse linear dependence between the variables (the larger one variable is, the smaller the other is); if r comes out close to +1, it indicates a direct linear dependence (the larger one variable is, the larger the other is). If r comes out close to 0, it indicates that the variables are linearly independent. One is unrelated to the other and vice versa. According to the value of the partial correlation coefficient it is possible to distinguish: Weak (|r|<0.3), medium (0.3<|r|<0.8) and strong (|r|>0.8) linear dependence (correlation).

Table II reveals that significant correlations between IOP and RNFL were found in segments 1 (r=-0.23), 4 (r=-0.24), 5 (r=-0.31) and 8 (-0.28). As aforementioned, the highest correlations between VD and IOP were revealed in segments 1, 4, 5, 6, 7 and 8. After VD-adjustment, significant correlations of medium strength between IOP vs. RNFL-VD were revealed in segments 5 (r=-0.32) and 8 (r=-0.39).



Figure 2. Optical coherence tomography angiography report: Retinal nerve fiber layer thickness values (left image) and vessel density in each segment (right image). ILM, internal limiting membrane; NFL, neuro fibre layer; RPC, radial peripapillary capillaries.

#### Discussion

For the early diagnosis of changes in the nerve fiber layer, which segment in the peripapillary region of the retina to focus on is important. Since the vascular component contributes non-negligibly to its total thickness, the present study sought to determine its 'true' value after elimination of the VD. (2) Our previous work has demonstrated that as IOP increases, VD decreases and the relationship between VD and RNFL increases (2).

Accumulating evidence suggests that abnormalities in the retinal microcirculation and ocular blood flow disturbances contribute to the development of primary open angle glaucoma (4-6). However, the precise role of vascular abnormalities in the pathogenesis of glaucoma remain poorly understood (7). The significant effect of VD on visual field changes in HTG was also demonstrated in a previous study (8).

Chen et al (9) previously investigated the effect of latanoprost (a drug that lowers IOP) on VD. This study found statistically significant increases of VD in the IT, TS, ST, SN, NI and IN segments This corresponds to segments 1, 3, 4, 5, 7 and 8 in the current study. Moreover, the present study similarly revealed the greatest effect of pathological IOP on VD in segments 1, 4, 5, 6, 7 and 8. Similar findings were also observed by Shin et al (10), where peripapillary microvascular improvement was observed in 61.3% eyes at 3 months after anti-glaucomatous surgery. Improvements in VD after anti-glaucomatous surgery have also been observed by Park et al (11). By contrast, Zeboulon et al (12) revealed no significant changes in the peripapillary VD of their cases, with a mean baseline IOP of 23.7±9.5 mmHg and a mean IOP of 12.2±3.5 mmHg (≥40% reduction) at 1 month after the operation. Diaz et al (13) previously reported that high IOP significantly reduces the VD per unit area in the laminar and retrolaminar regions of the optic nerve. It should be noted that after the application of latanoprost and timolol for glaucoma, neither the capillary density nor the capillary volume fraction in the cribriform disc region returned to their original values. Wang *et al* (14) previously found an immediate change in VD values when IOP was experimentally increased using OCTA. Therefore, this may be one of the reasons why vascular alterations may occur before the degeneration of RNFL, even in patients with normal IOP. Conversely, following RNFL atrophy, changes in VD also occur (15). Glutamate, as the main neurotransmitter in the visual pathway, may play a major role, by not only acting excitotoxically on the visual analyzer cells (16,17) but by also affecting the vascular system (15).

In the present study, a weak correlation was found between IOP and VD, specifically in segments 1, 4, 5, 6, 7 and 8, where the highest degree of correlation was found in segment 6 (r=-0.37).

This is probably due to the larger number of retinal vessels that nourish the inner retinal layers, as the upper nasal quadrant of the retina contains the largest number of ganglion cells (18). These results only partially correlate with the results of our previous study (3), where pathological IOP values were shown to be inversely proportional to RNFL in segments 1, 4, 5, and 8. Therefore, the role of VD in RNFL loss is probably not direct, yet the highest correlation between these parameters has been previously observed in segment 5 (r=-0.31) according to a review study (3).

IOP is a major risk factor for the development of glaucoma and its progression (9,10). After an increase in IOP, the ganglion cells of the retina are altered, which is demonstrated by studies of different animal models of glaucoma revealing a higher sensitivity (compared with other parvocellular ganglion cells) to IOP in magnocellular ganglion cells (19-21). As described by Weber *et al* (22) and Naskar *et al* (23), the first changes after IOP elevation begin in the ganglion cells themselves, and their axons change later. The notion that these are predominantly magnocellular fibers has been confirmed by Quigley *et al* (24), where larger diameter fibers died faster compared with smaller fibers, although no fibre size was completely spared at any stage of atrophy. Retinal magnocellular cells die before their

Table I. Values of dataset age, RNFL, VD and OD and their standard deviations	
-------------------------------------------------------------------------------	--

Parameter	Value ± standard deviation
No. of eyes (male/female)	122.00 (32.00/37.00)
Mean age, years	45.00±6.00
Mean intraocular pressure, mmhg	23.65±2.70
Mean OD (-)	1.93±1.19
VD, %	
1-IT	56.44±6.33
2-TI	52.85±4.02
3-TS	55.80±3.58
4-ST	54.44±6.00
5-SN	49.36±8.38
6-NS	48.30±5.13
7-NI	46.81±5.34
8-IN	50.66±13.43
RNFL thickness, $\mu$ m	
1-IT	139.64±24.85
2-TI	69.49±12.02
3-TS	72.93±12.15
4-ST	123.07±22.02
5-SN	127.33±23.33
6-NS	103.07±16.72
7-NI	85.69±15.74
8-IN	129.94±21.99

IT, inferior temporal segment; TI, temporal-inferior; TS, temporal-superior; ST, superior temporal; SN, superior nasal; NS, nasal-superior; NI, nasal-inferior; IN, inferior-nasal; RNFL, retinal nerve fiber layer; OD, overall defect of visual field; VD, vessel density.

Table II	. Pearson correlation coef	fficients between I	OP and RNFL,	IOP and VI	D in each segmen	t and partial o	correlation of	coefficient
betweer	1 IOP and RNFL adjusted	l by VD.						

		2)		
Segments	IOP vs. RNFL	IOP vs. VD	IOP vs. RNFL-VD	
1-IT	-0.23 <sup>a</sup> (P=0.010)	-0.29 <sup>a</sup> (P=0.001)	-0.13 (P=0.192)	
2-TI	-0.02 (P=0.790)	-0.17 (P=0.060)	-0.03 (P=0.876)	
3-TS	-0.04 (P=0.670)	-0.10 (P=0.259)	-0.05 (P=0.613)	
4-ST	-0.24 <sup>a</sup> (P=0.007)	-0.33 <sup>a</sup> (P=0.000)	-0.13 (P=0.189)	
5-SN	-0.31ª (P=0.001)	-0.29 <sup>a</sup> (P=0.006)	-0.32 <sup>a</sup> (P=0.002)	
6-NS	-0.14 (P=0.117)	-0.37 <sup>a</sup> (P=0.000)	-0.11 (P=0.252)	
7-NI	-0.06 (P=0.532)	-0.32 <sup>a</sup> (P=0.000)	-0.01 (P=0.971)	
8-IN	-0.28ª (P=0.002)	-0.23 <sup>a</sup> (P=0.010)	-0.39 <sup>a</sup> (P=0.001)	

<sup>a</sup>P<0.05.IT, inferior temporal segment; TI, temporal-inferior; TS, temporal-superior; ST, superior temporal; SN, superior nasal; NS, nasal-superior; NI, nasal-inferior; IN, inferior-nasal; RNFL, retinal nerve fiber layer; VD, vessel density; IOP, intraocular pressure.

axons in hypertensive glaucoma, therefore, our previous study investigated RNFLs in different peripapillary segments, which revealed that their greatest atrophy is where magnocellular fibers enter the optic disc (3). To refine their reduction, the present study decided to 'clean' them from VD. Hood *et al* (25) demonstrated that VDs play a significant role in RNFL thickness, and that ~13% of the total peripapillary RNFL thickness in healthy subjects is attributable to blood vessels. Patel *et al* (26) similarly revealed that blood vessels account for 9.3% of the total RNFL thickness or area, but vary by retinal location. On average, 17.6% of the upper and 14.2% of the lower RNFL are vascular, whereas blood vessels comprise only 2.3%

of the areas of the temporal and nasal RNFL. Pereira *et al* (27) reported that, according to their model, the circumpapillary distribution of retinal vessels is affected by VD in up to 70% of RNFL thickness. In addition, Allegrini *et al* (28) revealed a vascular contribution to RNFL thickness of 29.07±3.945%.

The present study also demonstrated that the greatest effect of pathological IOP is on VD in segments 1, 4, 5, 6, 7 and 8, and for RNFL in segments 1, 4, 5 and 8. After 'cleaning' VD for RNFL thickness, the current study observed the highest IOP correlations in segments 5 and 8; that is, at the points where the strongest axons of ganglion cells, which correspond to magnocellular cells, enter the optic disc. Therefore, in early stages of hypertensive glaucoma, the present study recommends focusing on RNFL assessment in the upper and lower segments of the optic nerve disc peripapillary region. In conclusion, the present study revealed the most significant RNFL damage in the lower and upper segments after 'cleaning' from VD, which is the location where the magnocellular fibers are found.

#### Acknowledgements

This endeavor would not have been possible without the cooperation of Ophthalmology Clinic JL (V Hurkach 1296/10, Prague, Czech Republic), where Dr Jan Lešták is the head of the clinic and Mr Martin Fůs is the engineer of the department, and who both performed measurements on patients.

#### Funding

No funding was received.

#### Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

#### **Authors' contributions**

JL conceptualized and designed the study. MF and JK designed and implemented the clinical investigations and outcome assessment. JK provided the data analyses. MF wrote the manuscript. MF, JK and JL confirm the authenticity of all the raw data. All authors have read and approved the final manuscript.

#### Ethics approval and consent to participate

The present study was performed according to the Declaration of Helsinki and was approved by the internal ethics committee of the Ophthalmology Clinic JL (approval no. OKJL/220606/13; Prague, Czech Republic). Written informed consent for participation was obtained from all patients.

#### Patient consent for publication

Not applicable.

#### **Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

#### References

- Jia Y, Wei E, Wang X, Zhang X, Morrison JC, Parikh M, Lombardi LH, Gattey DM, Armour RL, Edmunds B, *et al*: Optical coherence tomography angiography of optic disc perfusion in glaucoma. Ophthalmology 21: 1322-1332, 2014.
   Kral J, Lestak J and Nutterova E: OCT angiography, RNFL and
- 2. Kral J, Lestak J and Nutterova E: OCT angiography, RNFL and visual field at different values of intraocular pressure. Biomed Rep 16: 36, 2022.
- Lešták J, Fůs M and Král J: The Relationship Between the Thickness of cpRNFL in Segments and Intraocular Pressure. Clin Ophthalmol 16: 3673-3679, 2022.
- Choi J and Kook MS: Systemic and ocular hemodynamic risk factors in glaucoma. Biomed Res Int 2015: 141905, 2015
- Siesky B, Harris A, Vercellin ACV, Guidoboni G and Tsai JC: Ocular blood flow as it relates to race and disease on glaucoma. Adv Ophthalmol Optom 6: 245-262, 2021
- Lestak J, Fus, M, Rybar M and Benda A: OCTA and doppler ultrasound in primary open-angle glaucoma and normal-tension glaucoma. Life 13: 610, 2023.
- 7. Nakazawa T: Ocular blood flow and influencing factors for glaucoma. Asia Pac J Ophthalmol (Phila) 5: 38-44, 2016.
- Lešták J, Fůs M, Benda A, Bartošová L and Marešová K: OCT angiography and doppler ultrasound in hypertension glaucoma. Cesk Slov Oftalmol 77:130-133, 2021.
- 9. Chen X, Hong Y, Di H, Wu Q, Zhang D and Zhang C: Change of retinal vessel density after lowering intraocular pressure in ocular hypertension. Front Med (Lausanne) 8: 730327, 2021
- Shin JW, Sung KR, Uhm KB, Jo J, Moon Y, Song MK and Song JY: Peripapillary microvascular improvement and lamina cribrosa depth reduction after trabeculectomy in primary open-angle glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 58: 5993-5999, 2017.
- Park HL, Hong KE, Shin DY, Jung Y, Kim EK and Park CK: Microvasculature recovery detected using optical coherence tomography angiography and the rate of visual field progression after glaucoma surgery. Invest Ophthalmol Vis Sci 62: 17, 2021.
- 12. Zéboulon P, Lévêque PM, Brasnu E, Aragno V, Hamard P, Baudouin C and Labbé A: Effect of surgical intraocular pressure lowering on peripapillary and macular vessel density in glaucoma patients: An optical coherence tomography angiography study. J Glaucoma 26: 466-472, 2017.
- Díaz F, Villena A, Vidal L, Moreno M, García-Campos J and Pérez de Vargas I: Experimental model of ocular hypertension in the rat: Study of the optic nerve capillaries and action of hypotensive drugs. Invest Ophthalmol Vis Sci 51: 946-951, 2010.
- Wang X, Chen J, Kong X and Sun X: Immediate changes in peripapillary retinal vasculature after intraocular pressure elevation -an optical coherence tomography angiography study. Curr Eye Res 45: 749-756, 2020.
- Tsuda Y, Nakahara T, Ueda K, Mori A, Sakamoto K and Ishii K: Effect of nafamostat on N-methyl-D-aspartate-induced retinal neuronal and capillary degeneration in rats. Biol Pharm Bull 35: 2209-2213, 2012.
- 16. Grewer C, Gameiro A, Zhang Z, Zhen T, Braams S and Rauen T: Glutamate forward and reverse transport: From molecular mechanism to transporter-mediated release after ischemia. IUBMB Life 60: 609-619, 2008.
- Vorwerk CK, Gorla MS and Dreyer EB: An experimental basis for implicating excitotoxicity in glaucomatous optic neuropathy. Surv Ophthalmol 43 (Suppl 1): S142-S150, 1999.
- Curcio CA and Allen KA: Topography of ganglion cells in human retina. J Comp Neurol 300: 5-25, 1990
- 19. Morgan JE, Uchida H and Caprioli J: Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma. Br J Ophthalmol 84: 303-310, 2000.
- 20. Morgan JE: Retinal ganglion cell shrinkage in glaucoma. J Glaucoma 11: 365-370, 2002.
- 21. Shou T, Liu J, Wang W, Zhou Y and Zhao K: Differential dendritic shrinkage of alpha and beta retinal ganglion cells in cats with chronic glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 44: 3005-3010, 2003.
- Weber AJ, Kaufman PL and Hubbard WC: Morphology of single ganglion cells in the glaucomatous primate retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 39: 2304-2320, 1998.
- 23. Naskar R, Wissing M and Thanos S: Detection of early neuron degeneration and accompanying microglial responses in the retina of a rat model of glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 43: 2962-2968, 2002.

- 24. Quigley HA, Dunkelberger GR and Green WR: Chronic human glaucoma causing selectively greater loss of large optic nerve fibers. Ophthalmology 95: 357-363, 1988.
- 25. Hood DC, Fortune B, Arthur SN, Xing D, Salant JA, Ritch R and Liebmann JM: Blood vessel contributions to retinal nerve fiber layer thickness profiles measured with optical coherence tomography. J Glaucoma 17: 519-528, 2008.
- 26. Patel N, Luo X, Wheat JL and Harwerth RS: Retinal nerve fiber layer assessment: Area versus thickness measurements from elliptical scans centered on the optic nerve. Invest Ophthalmol Vis Sci 52: 2477-2489, 2011.
- 27. Pereira I, Weber S, Holzer S, Resch H, Kiss B, Fischer G and Vass C: Correlation between retinal vessel density profile and circumpapillary RNFL thickness measured with Fourier-domain optical coherence tomography. Br J Ophthalmol 98: 538-543, 2014.
- 28. Allegrini D, Montesano G, Fogagnolo P, Pece A, Riva R, Romano MR and Rossetti L: The volume of peripapillary vessels within the retinal nerve fibre layer: An optical coherence tomography angiography study of normal subjects. Br J Ophthalmol 102: 611-621, 2018.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) License.

# 5.4 Efektivita diagnostiky glaukomu v souvislosti se změnou VD a korigované hodnoty RNFL

Řešení problematiky tohoto dílčího cíle je aktuálně v recenznímu řízení k publikaci, a to jako článek s názvem *Vessel density and retinal nerve fibre layer association with intraocular pressure in glaucoma*, plné znění je na konci této kapitoly.

U očí s NOT  $\leq 20$  mmHg nebyla zjištěna žádná korelace pro PP-VD, WI-VD nebo RNFL. Nejvyšší korelace byla zjištěna u WI-VD; u očí s NOT > 20 mmHg, r=-0,48; u očí s NOT > 22 mmHg, r=-0,54; a u očí s NOT > 24 mmHg, r=-0,57. Korelace mezi NOT a RNFL byla střední, zatímco korelace mezi NOT a WI-VD (r=-0,57) byla překročena pouze u očí s NOT > 24 mmHg (r=-0,59). Největší korelace byla zaznamenána u WI-VDs (r=-0,48) a VD v segmentu IT (r=-0,48). Podobná korelace byla i u RNFL (r=-0,42). U RNFLc, kde nebyla zaznamenán žádná statisticky významná kolerace.

Výsledky ukazují, že hodnoty VD jsou významné pro časnou diagnostiku glaukomu, konkrétně WI-VDs a hlavně peripapilární VD v segmentu IT.

#### Vessel density a RNFL u patologického nitroočního tlaku.

Jakub Král, Ján Lešták\*, Martin Fůs,

Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze, 272 01 Kladno, Česká republika \*Korespodenční autor: lestak@seznam.cz

#### **SOUHRN**

Cílem práce bylo zjistit, zda se mění cévní parametry sítnice a RNFL u očí se zvýšeným nitroočním tlakem (NOT) a pokud ano, keré jsou pro časnou diagnostiku glaukomu významnější?

Soubor tvořilo 26 žen průměrného věku 45 (22-70) let a 26 mužů průměrného věku 43 (20-71) let. Celkem 104 očí. NOT byl u všech očí vyšší než 21 mmHg (21-36 mmHg). NOT byl měřen přístrojem Ocular Response Analyser (ORA, Reichert) a výsledná hodnota vznikla z průměru tří měření. Tloušťka RNFL a VD byla měřena pomocí Avanti RTVue XR (Optovue). V případě VD celého obrazu i peripapilárně a také peripapilárně v osmi segmentech: Inferior Temporal - IT; Temporal Inferior - TI; Temporal Superior -TS; Superior Temporal - ST; Superior Nasal - SN; Nasal Superior - NS; Nasal Inferior - NI a Inferior Nasal - IN. V případě korigované RNFL (RNFLc) byla hodnota VD odečtena od celkové hodnoty RNFL. Pomocí Pearsonova korelačního koeficientu byly výsledky NOT porovnány s VD a RNFL. Podobně i výsledky NOT s VD a RNFLc v jednotlivých peripapilárních segmentech. **Výsledky**: Největší korelace byla zaznamenána u WI-VDs (r=-0,48) a VD v segmentu IT (r=-0,48). Podobná korelace byla i u RNFL (r=-0,42). U RNFLc jsme nezaznamenali žádnou statisticky významnou korelaci.

Závěr: Prokázali jsme, že pro včasnou diagnostiku glaukomu jsou důležité hodnoty VD a to WI-VDs a peripapilární VD v segmentu IT.

Klíčová slova: vessel density, retinal nerve fiber layer, intraocular pressure

#### ÚVOD

Glaukom je progresivní onemocněni, u kterého hraje pro zachováni zrakových funkci, včasné stanovení diagnózy a zahájení léčby zásadní roli.

Vzhledem k jeho asymptomatické povaze je včasné odhalení onemocnění před jeho závažnými stadii náročné a počet diagnostikovaných pacientů s glaukomem je menší než nediagnostikovaných pacientů.

[1,2]. Například v Číně míra diagnostiky primárního glaukomu s otevřeným úhlem činí pouze10 % [3].

Pro včasnou diagnostiku glaukomu má velký význam algoritmus poškození jednotlivých struktur sítnice a zrakového nervu. Soto se spolupracovníky na myších modelech zjistili, že degenerace sítnicových gangliových buněk (SGB) u glaukomu má dvě separátní stadia: první zahrnuje atrofii gangliových buněk a druhé poškození jejich axonů. Retrolaminární degenerace axonů probíhá před degenerací jejich intraretinální částí [4]. Vzhledem k těmto zjištěním nás zaujala experimentální práce Tao a spol., kteří po přechodném zvýšení nitroočního tlaku (NOT) u myší, zjistili vaskulární remodelaci sítnice; počet kapilárních větví byl snížen v povrchovém a intermediálním vaskulárním plexu. Počet SGB, průměr centrální retinální arterioly a hluboké větvení kapilárního plexu nebyly ovlivněny. Tyto dříve nedoceněné nálezy naznačují, že přechodné zvýšení NOT může způsobit nerozpoznanou a potenciálně dlouhodobou patologii SGB a souvisejících neurovaskulárních jednotek [5]. Podobné změny zjistila i Pitale a spol., kteří po přechodném zvýšení NOT po dobu 2 týdnů v podobném experimentu u myší, zjistili normální počet SGB, ale významné snížení počtu kapilárních spojení/mm2 v intermediálním retinálním kapilárním plexu, který ušetřil ostatní plexi. Hustota kapilárního spojení, délka cév a vaskulární plocha byly významně sníženy a počet acelulárních kapilár se dramaticky zvýšil [6]. I my jsme v předchozí práci prokázali střední korelaci mezi vessel density (VD), vrstvou retinálních nervových vláken (RNFL) a NOT u očí, kde byl NOT vyšší než 20 mmHg [7]. Protože se na celkové hodnotě RNFL významně podílí i hodnota VD, provedli jsme "očištění" RNFL od VD (RNFLc) v jednotlivých peripapilárních segmentech. Výsledkem bylo zjištění, že zvyšování NOT se významněji podílí na VD než na korigované RNFL [8.9.10].

To je pro časnou diagnostiku glaukomového onemocnění důležitá informace, neboť změny v RNFL následují až po alternaci SGB. Jak je uvedeno v experimentálních pracích Tao a spol [5] a Pitale a spol.[6], cévní změny sítnice předbíhají změnám v SGB.

Proto bylo i cílem této práce zjistit, zda k významnějším změnám u očí s patologickým NOT dochází v sítnicovém cévním systému nebo ve vrstvě sítnicových nervových vláknech (RNFL). Pokud to bude sítnicový cévní systém, zda jsou významnější změny ve vessel density (VD) peripapilárně nebo celého obrazu (WI)? Na základě výše korelace pak stanovit důležitost jednotlivých prametrů pro časnou diagnostiku glaukomu.

#### Soubor a metodika

Soubor tvořilo 26 žen průměrného věku 45 (22-70) let a 26 mužů průměrného věku 43 (20-71) let. Celkem 104 očí. NOT byl u všech očí vyšší než 21 mmHg (21-36 mmHg). Data byla sbírána od února do dubna 2021 na Oční klinice JL (Praha, Česká republika). Hodnoty NOT byly výsledkem průměru tří měření za použití Ocular Response Analyser (ORA, Reichert). Kritéria pro zařazení byla následující: zraková ostrost 1,0 s možnou korekcí méně než ±3 dioptrie, beze změn v zorných polích, žádná jiná oční nebo neurologická onemocnění a žádná předchozí léčba hypertenzního glaukomu.

Tloušťka RNFL a VD byla měřena pomocí Avanti RTVue XR (Optovue). V případě VD celého obrazu i peripapilárně a také peripapilárně v osmi segmentech: Inferior Temporal - IT (1); Temporal Inferior - TI (2); Temporal Superior -TS (3); Superior Temporal - ST (4); Superior Nasal - SN (5); Nasal Superior - NS (6); Nasal Inferior - NI (7) a Inferior Nasal - IN (8). Obrázek 1.

V případě RNFLc byla hodnota VD (%) odečtena od celkové hodnoty RNFL. Obrázek 2. Pomocí Pearsonova korelačního koeficientu byly výsledky NOT porovnány s VD a RNFL k posouzení vztahu mezi vybranými parametry. Podobně i výsledky NOT s VD a RNFLc v jednotlivých peripapilárních segmentech.



Obrázek 1. Označení jednotlivých peripapilárních segmentů, v nichž byly hodnoceny RNFL a VD. 1=Inferior Temporal; 2=Temporal Inferior; 3=Temporal Superior; 4=Superior Temporal; 5=Superior Nasal; 6=Nasal Superior; 7=Nasal Inferior; 8=Inferior Nasal. T-temporal, N - Nasal area.

#### Výsledky

Při porovnání RNFL s NOT jsme zjistili střední závislost (r=-0,42). Po odečtení VD od hodnot RNFL (RNFLc) v jednotlivých segmentech jsme nezjistili žádnou závislost. Střední závislost jsme zaznamenali i mezi PP-VD a PP-WI. Nejvyšší hodnoty byly u WI-VDs (r=-0,48).

U VD v jednotlivých segmentech byla slabá závislost v segmentu 2, střední v segmentech 1, 4, 5, 6, 7 a 8. Žádná v segmentu 3. Nejvyšší hodnotu jsme zaznamenali v segment IT (r=-0,48). Tabulka 1.

a)

b)

	r	Р
PP-VDa	-0,43	0,00
PP-VDs	-0,45	0,00
WI-VDa	-0,34	0,00
WI-VDs	-0,48	0,00
RNFL	-0,42	0,00

Segmenty	VDr	VD P	RNFLc	RNFLc
Segmenty			r	Р
1-IT	-0,48	0,00	-0,18	0,08
2-TI	-0,23	0,04	-0,03	0,81
3-TS	-0,12	0,23	-0,05	0,65
4-ST	-0,37	0,00	-0,18	0,08
5-SN	-0,31	0,00	-0,17	0,09
6-NS	-0,42	0,00	-0,05	0,64
7-NI	-0,35	0,00	-0,02	0,84
8-IN	-0,32	0,00	-0,06	0,53

Tabulka: Korelace mezi PP-VDa, PP-VDs, WI-VDa, WI-VDs, RNFL a NOT (a). Korelace mezi VD a RNFLc v jedotlivých segmentech (b). Červeně jsou označeny statisticky významné závislosti.



RNFL thickness image [μm]VD image [%]Obrázek 2. RNFL (a), VD (b), RNFLc (c).

RNFLc thickness image [µm]

#### Diskuse

Vaskulatura sítnice je třívrstvá síť sestávající z povrchového retinálního kapilárního plexu (SRCP), intermediálního retinálního kapilárního plexu (IRCP) a hlubokého retinálního kapilárního plexu (DRCP). SRCP vyživuje RNFL, SGB a dendrity ON-SGB ve vnitřní plexiformní vrstvě (IPL). IRCP pak dendrity OFF-SGB v IPL a amakrinní buňky ve vnitřní nukleární vrstvě (INL). DRCP vyživuje bipolární buňky (BP) a horizontální buňky (HC) ve vnější plexiformní vrstvě (OPL) [11,12]

OFF-SGB a zejména jejich dendrity, jsou náchylnější ke zvýšení NOT než ON-SGB [13,14,15,16].

Vzhledem k tomu, že primárním krevním zásobením pro OFF-SGB a vrstvu IPL (dendrity OFF-SGB) je IRCP [11.12], snížený lokální průtok krve očekávaný u kapilár IRCP indukované vysokým NOT má věrohodné anatomické vysvětlení [17].

Jak jsme uvedli v úvodu Tao a spol. a Pitale a spol. prokázali v experimetu cévní změny v sítnicovýcch kapilárních plexích po přechodném zvýšení NOT aniž by došlo k poškození SGB [5,6].

Glaukomatózní cévní změny byly nalezeny i v humánní medicine. Chen a spol. zjistili u glaukomových očí sníženou hustotu cév v makulární i peripapilární oblasti i v celém obraze [18].

Kromě toho klinické studie u pacientů s glaukomem využívající optickou koherenční tomografickou angiografii (OCTA) uvádějí, že přechodné fluktuace NOT mohou způsobit

hypoxické poškození, které vede k mikrovaskulárním změnám jak v sítnici, tak v v hlavě zrakového nervu [19,20,21].

My jsme v této práci prokázali korelaci mezi patologickými hodnotami NOT a VD (PP i WI) a celkovými hodnotami RNFL. U RNFLc jsme nezaznamenali žádnou závislost.

Naše výsledky jsou ve shoddě s Akil a spol., kteří prokázali statisticky významné změny v

PP-VD u glaukomatiků preperimetrického stadia ve srovnání s kontrolní skupinou [22].

Vysokou korelaci mezi VD a RNFL pozorovali také Yu et al [23] a Lee et al [24] a navrhli, že pokles VD u glaukomu je sekundárním důsledkem ztráty RNFL.

Triolo et al zaujali podobný názor [25].

Naše práce prokázala, že cévní změny předbíhají změny ve vrstvě nervových vláken sítnice.

Myslíme si, že primární jsou změny ve VD a sekundární v RNFL.

Tomu by odpovídaly i histologické nálezy v experiment [4].

Podobně i Feher a spol. zjistili, že zvýšený NOT zpočátku stlačuje mikrocévy hlavy zrakového nervu a tím dochází k ischemizaci dané tkáně. V očích se zvýšeným NOT se výrazně zvýšil počet beta-adrenergních receptorů [26].

Chen a spol. prokázali u glaukomových očí, že hustota cév v celém obraze (WI-VD) u glaukomatických očí byla nižší než u zdravých očí v makulární (38,5 %  $\pm$  2,2 % vs. 43,2 %  $\pm$  2,3 %) a peripapilární oblasti (43,8 %  $\pm$  5,7 % vs. 53,3 %  $\pm$  3,0 %). Hustota cirkumkapilárních cév (cpVD) byla u glaukomatických očí rovněž nižší (53,3 %  $\pm$  7,0 % vs.

61,5 % ± 3,2 %) [27].

Podobné výsledky VD jsme zaznamenali i v této práci.

Öztürk a spol. prokázali s progresi glaukomu rovněž klesající hodnoty VD. Většina peripapilárních a makulárních VD parametrů skupin preperimetrického glaukomu a časného glaukomu byla nižší než u zdravých kontrol (P<0,001). Mezi skupinami preperimetrického a časného glaukomu nebyl žádný významný rozdíl v RNFL, ale bylo zjištěno, že většina peripapilárních a makulárních VD byla nižší ve skupině počínajícího glaukomu než ve skupině preperimetrického (P<0,05) [28].

K podobným výsledkům dospěli i Yarmohammadi a kol. Pomocí OCTA zjistili, že hustota cév, má podobnou diagnostickou přesnost jako měření tloušťky RNFL [19].Naše výsledky nekorigované RNFL prokázali podobný závěr. Po odečtení hodnot VD od celkové RNFL (RNFLc) se výsledky ale významně liší. Podobnou práci, kde by autoři zjišťovali vztah mezi NOT a RNFL po korekci VD jsme v literature nenašli.

Mansoori T. a spol. předložili studii srovnání hustoty radiálních peripapilárních kapilár (RPC) mezi zdravými očima a pacienty s primárním glaukomem otevřeného úhlu pomocí OCTA.

Zjistili, že hustota RPC byla nižší v inferotemporálních (p=0,002) a superotemporálních (p=0,008) sektorech ve skupině POAG ve srovnání se zdravými kontrolami [29]. Naše výsledky ukázaly na nejvyšší korelaci v segmentu IT (r=-0,48).

#### Závěr

Pro glaukomové onemocnění je kardinální včasné stanovení diagnózy a zahájení léčby. Prokázali jsme, že vessel density malých cév celého obrazu (WI-VDs) nejvíce koreluje se zvyšujícím se NOT. Podobnou korelaci jsme zaznamenali i u VD v IT peripapilárním segmentu. Proto lze tato vyšetření doporučit, v komplexu dalších glaukomových testů, na jedno z prvních míst. Literatura

1.Burgoyne CF, Downs JC, Bellezza AJ, Suh JK, Hart RT. The optic nerve head as a biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage. Prog Retin Eye Res. 2005;24:39-73.

2. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. Jama. 2014;311:1901-1911.

3. Gedde SJ, Vinod K, Wright MM, et al. Primary Open-Angle Glaucoma Preferred Practice Pattern®. Ophthalmology. 2021;128:71-150.

4. Soto I, Oglesby E, Buckingham BP. et al. Retinal Ganglion Cells Downregulate Gene Expression and Lose Their Axons within the Optic Nerve Head in a Mouse Glaucoma Model. J Neurosci. 2008;28:548-561.

5. Tao X, Sigireddi RR, Westenskow PD, Channa R, Frankfort BJ. Single transient intraocular pressure elevations cause prolonged retinal ganglion cell dysfunction and retinal capillary abnormalities in mice. Exp Eye Res. 2020;201:108296. doi:

10.1016/j.exer.2020.108296.

6. Pitale PM, Shen G, Sigireddi RR, et al. Selective vulnerability of the intermediate retinal capillary plexus precedes retinal ganglion cell loss in ocular hypertension. Front Cell Neurosci. 2022;16:1073786. doi: 10.3389/fncel.2022.1073786

7. Kral J, Lestak J, Nutterova E. OCT angiography, RNFL and visual field at different values of intraocular pressure. Biomed Rep, 2022 May;16(5):36. doi: 10.3892/br.2022.1519.

8.Lešták J, Fůs M, Král J. The Relationship Between the Thickness of cpRNFL in Segments and Intraocular Pressure. Clin Ophthalmol. 2022;16:1-7.

9.Lešták J, Fůs M, Král J. Axons of retinal ganglion cells on the optic nerve disc following vessel density correction at diferent IOP values. Exp Ther Med. 25; 261, 2023. doi: 10.3892/etm.2023.11960

10.Lestak J, Fůs M, Pitrova S. Peripapillary retinal nerve fiber layer following vessel density correction at different IOP values. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2024;17. doi: 10.5507/bp.2024.001

11. Usui Y, Westenskow PD, Kurihara T, et al. Neurovascular crosstalk between interneurons and capillaries is required for vision. J Clin Invest. 2015;125:2335–2346. doi: 10.1172/JCI80297

12. Nian, S., Lo ACY, Mi Y, Ren K. Neurovascular unit in diabetic retinopathy:pathophysiological roles and potential therapeutical targets. Eye Vis (Lond). 2021;8:15. doi: 10.1186/s40662-021-00239-1

13. Della Santina L, Inman DM, Lupien CB, Horner PJ, Wong ROL. Differential progression of structural and functional alterations in distinct retinal ganglion cell types in a mouse model of glaucoma. J Neurosci. 2013;33:17444–17457. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5461-12.2013

14. l-Danaf RN, Huberman AD. Characteristic patterns of dendritic remodeling in early-stage glaucoma: evidence from genetically identified retinal ganglion cell types. J Neurosci. 2015;35:2329–2343. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1419-14.2015

15. Ou Y, Jo RE, Ullian EM, Wong ROL, Della Santina L. Selective vulnerability of specific retinal ganglion cell types and synapses after transient ocular hypertension. J Neurosci. 2016;36:9240–9252. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0940-16.2016

16. Sabharwal J, Seilheimer RL, Tao X, Cowan CS, Frankfort BJ, Wu SM. Elevated IOP alters the space-time profiles in the center and surround of both ON and OFF RGCs in mouse. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017;114:8859–8864. doi: 10.1073/pnas.1706994114

17. Campbell JP, Zhang M, Hwang TS, et al. Detailed Vascular Anatomy of the Human Retina by Projection-Resolved Optical Coherence Tomography Angiography. Sci Rep. 2017;10:7:42201. doi: 10.1038/srep42201.

 Chen HS, Liu CH, Wu WC, Tseng HJ, Lee YS. Optical Coherence Tomography Angiography of the Superficial Microvasculature in the Macular and Peripapillary Areas in Glaucomatous and Healthy Eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017;58:3637–3645.
 Yarmohammadi A, Zangwill LM, Diniz-Filho A, et al. Optical coherence tomography angiography vessel density in healthy, glaucoma suspect and glaucoma eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2016;57:451–459. doi: 10.1167/iovs.15-18944

20. Jia Y, Simonett JM, Wang J, et al. Wide-field OCT angiography investigation of the relationship between radial peripapillary capillary plexus density and nerve fiber layer thickness. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017;58:5188–5194. doi: 10.1167/iovs.17-22593 21. Liu L, Edmunds B, Takusagawa H L, et al. Projection-resolved optical coherence tomography angiography of the peripapillary retina in glaucoma. Am J Ophthalmol. 2019;207: 99–109. doi: 10.1016/j.ajo.2019.05.024

22. Akil H, Huang AS, Francis BA, Sadda SR, Chopra V. Retinal vessel density from optical coherence tomography angiography to differentiate early glaucoma, pre-perimetric glaucoma and normal eyes. PLoS ONE. 2017;12:1–12.

23. Yu PK, Cringle SJ, Yu DY. Correlation between the radial peripapillary capillaries and the retinal nerve fibre layer in the normal human retina. Exp Eye Res. 2014;129:83–92. doi: 10.1016/j.exer.2014.10.020

24. Lee EJ, Lee KM, Lee SH, Kim TW. OCT Angiography of the peripapillary retina in primary open-angle glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2016;57:6265–6270. doi: 10.1167/iovs.16-20287

25. Triolo G, Rabiolo A, Shemonski ND, et al. Optical Coherence tomography angiography macular and peripapillary vessel perfusion density in healthy subjects, glaucoma suspects, and glaucoma patients. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017;58:5713–5722. doi: 10.1167/iovs.17-22865

26. Feher J, Pescosolido N, Tranquilli Leali FM, Cavalloti C. Microvessels of the human optic nerve head: Ultrastructural and radioreceptorial changes in eyes with increased IOP. Can J Ophthalmol. 2005;40:492–498.

27. Chen HS, Liu CH, Wu WC, Tseng HJ, Lee YS. Optical Coherence Tomography Angiography of the Superficial Microvasculature in the Macular and Peripapillary Areas in Glaucomatous and Healthy Eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017;58:3637-3645. doi: 10.1167/iovs.17-21846.

28. Öztürk C, Güngör SG, Ekşioğlu Ü, Sezenöz AS, Çolak M. Peripapillary and macular vascular densities in healthy, ocular hypertensive, and different stages of glaucomatous eyes. Int J Ophthalmol. 2023;18:16(12):2018-2026

29. Mansoori T, Sivaswamy J, Gamalapati JS, Balakrishna N. Radial Peripapillary Capillary Density Measurement Using Optical Coherence Tomography Angiography in Early Glaucoma. Journal of Glaucoma. 2017;26:438–443.

## 6 Diskuze

Hlavní zjištění práce je, že před progresí zeleného zákalu, u kterého dochází k degradaci vrstvy nervových vláken, které ovlivňují zorné pole čili vidění, předchází sektorovité zmenšení vrstvy cévnatky v inferior-temporalní pepripapilární části sítnice.

Tato práce si kladla za cíl včasnou diagnostiku zeleného zákalu, kde se v klinické praxi čeká na změny (degradace) v nervových vláknech a následné výpadky vidění v zorném poli. První práce prokázala souvislost změny ve vrstvě nervových vláken a/nebo v zorném poli na rozdílných hodnotách tlaku, kde došlo k silné koleraci mezi vrstvou nervových vláken v závislosti na velkosti nitroočního tlaku nad 24 mmHg. Podobná práce od autora Alessandro A Jammal. et al., kde hledali souvislost rychlosti progresese na tloušť ce nerovových vláken v zavislosti na nitroočním tlaku. Zjistili, že při zvýšení tlaku o 1 mmHg dochází k ztenčení nervových vláken o 0,05 µm/rok a nelze stanovit "bezpečnou" hodnotu tlaku. I při nižším tlaku pod 18 mmHg docházelo v 33 % případů k rychlé progresi onemocnění.[30]

Další otázka, která se nabízí je, jestli dochází k úbytku nervových vláken stejně ve všech segmentech peripapilární oblasti. Zde bylo zjištěné, že ke změně tloušťky nervových vláken dochází v sektorech inferior-nasal a superior-nasal sektorech při změnách nitroočního tlaku. Podobné problematice se věnoval K Subrahmanya Bhat et al., kde však byly porovnávány změny v zorném poli v závislosti na tloušťce nervových vláken. Ve výzkumu této práce bylo zjištěno, že dochází k nejvyšší změně v sektoru temporal-inferior a následně v nasal-inferior, ale nezjišťovali změny v různých hodnotách tlaku, ale reálné změně z perimetrických výsledků, tzn. že již dochází k pokročilé degradaci nerovových vláken

Pozornost se následně ubrala na velikost hustoty cév v různých sektorech, které zásobují nervová vlákna v peripapilární části. Problém je, že OCT přístroje měří RNFL, jejíž součástí je i cévnatka. Otázka zněla, jestli tloušťka cévnatky ve všech sektorech stejná. Výstupem práce bylo zjištění, že není a nejvyšší procento hustoty cév je v superior-nasal a inferior-nasal, protože v této části vystupují ze zrakového nervu hlavní větve cév. Tato myšlenka je revoluční a neexistuje práce, která by se zabývala touto problematikou.

Z článku Hood et al. prokázali, že VD hrají významnou roli v tloušťce RNFL a že ~13 % celkové tloušťky peripapilární RNFL u zdravých osob připadá na cévy. [32] Patel et al.

podobně odhalili, že cévy představují 9,3 % celkové tloušťky nebo plochy RNFL, ale liší se podle umístění peripapilární oblasti terče zrakového nervu. V průměru 17,6 % horního a 14,2 % dolního RNFL tvoří cévy, zatímco krevní cévy tvoří pouze 2,3 % ploch temporálního a nazálního RNFL. [33] Pereira et al uvádějí, že podle jejich modelu je cirkumkapilární distribuce cév sítnice ovlivněna VD až v 70 % tloušťky RNFL. [34] Allegrini et al. odhalili podíl cév na tloušť ce RNFL ve výši 29,07±3,945 %.[35] Přístroj OCT měří vrstvu nervových vláken jako součet nervových vláken a cév. Proto bylo nutné rozlišit tyto vrstvy od sebe. OCT má funkci měření zvlášť vrstvu cévnatky na principu více snímků v čase, kdy přístroj rozezná odezvu od proudění erytrocytů v krevním řečišti a odečíst od vrstvy nerovových vláken, takže zbude hodnota pouze čistě nervová vlákna. Dalším zjištěním bylo, že procentuální tloušťka nervových vláken není v různých částech sítnice stejná. Jiyun et al. zjišťovali korelaci hustoty cév s různými stupni zeleného zákalu, avšak bylo počítáno s RNFL jako celý obraz [36]. Hlavní myšlenka byla rozdělit peripapilární límec do jednotlivých segmentů, jak bylo řečeno v minulé práci v kapitole Korelace NOT a vrstvy RNFL po kompenzaci zastoupení cév ve sledovaném objemu segmentu a dle hodnoty nitroočního tlaku sledovat změny hustoty cév v čase. Zjištěním bylo, že při tlaku nad 24 torrů byla silná korelace úbytku cév v sektoru inferior-temporal, kde je korelace vyšší než, při měření celého průřezu vrstvy nervových vláken včetně cévnatky, jaký je zvyk v klinické praxi.

#### 6.1 Přínos pro biomedicínské inženýrství

Glaukom v současné době patří mezi nejčastější onemocnění, které ireverzibilně poškozuje zrakový analyzátor. Je daleko více nediagnostikovaných než léčených pacientů s glaukomem. Jakmile se jednou onemocnění odstartuje, ani samotná léčba nezastaví jeho progresi! Toto je nejdůležitější fakt pro možné zpomalení jeho progrese. Potvrzení "kolapsu" magnocelulárních gangliových buněk sítnice bylo verifikováno v humánní medicíně v několika publikacích. Tento kolaps souvisí s vaskulárními změnami sítnice a zrakového nervu, které přicházejí jako první po zvýšení nitroočního tlaku. Tato práce předkládá možnost diagnostiky vaskulárních změn v době, kdy nemusí být ireversibilní změny gangliových buněk či jiných sítnicových struktur po zvýšení nitroočního tlaku. Proto je i přínos této práce v možnostech časné diagnostiky pomocí OCT angiografie, která patří do oblasti biomedicíny. Bude ale nutné provést měření na velké skupině zdravých jedinců a vytvořit normativní data pro srovnání s patologickými hodnotami v různých věkových

skupinách. Proto má tato práce nejen výzkumný, ale i socioekonomický význam, protože léčba pokročilých stadií glaukomu je daleko náročnější než v počátečních stadiích. Nicméně i náklady na sociální zabezpečení zrakově postižených či slepých glaukomatiků budou pro daný stát mít velkou ekonomickou zátěž.

# 7 Závěr

Diagnostika glaukomu je stanovena až po nevratné apoptóze gangliových buněk, které se projeví jako koncetrické zúžení zorného pole. Důležitým pilířem pro stanovení diagnózy je vyšetření na perimetru, který prokáže zmenšeního zorného pole. Léčba je následně zahájena příliš pozdě, kdy pacientovi se již nezvratně poškodil zrak.

Dosavadní výzkumy i návrhy European Glaucoma Society jsou zastaralé a zaměřují se na vyšetření zrakového nervu a nervů vystupující z papily zrakového terče. Výzkumná část práce vysvětluje, že dříve jsou zasaženy drobné cévy oka, kde se jejich hustota sektorovitě mění. Toto je revoluční přístup, který může včasnými preventivními prohlídkami zahájit léčbu zeleného zákalu včas a tak zvýšit kvalitu života pacienta.

Tato práce poukazuje na možnost včasné diagnózy, která tkví ve vyšetření hustoty malých cév za použití OCT se spojením s angriografií, kde největší důraz by mělo být sledování v segmentu inferior-temporal od papily zrakového nervu.

## 8 Literatura

- [1] BURGOYNE, Claude F.; CRAWFORD DOWNS, J.; BELLEZZA, Anthony J.; FRANCIS SUH, J.-K. a HART, Richard T. The optic nerve head as a biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage. Online. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2005, roč. 24, č. 1, s. 39-73. ISSN 13509462. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2004.06.001</u>. [cit. 2024-09-18].
- WEINREB, Robert N.; AUNG, Tin a MEDEIROS, Felipe A. The Pathophysiology and Treatment of Glaucoma. Online. *JAMA*. 2014, roč. 311, č. 18. ISSN 0098-7484.
   Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1001/jama.2014.3192</u>. [cit. 2024-09-18].
- [3] WEBER, A J; KAUFMAN, P L a HUBBARD, W C. Morphology of single ganglion cells in the glaucomatous primate retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1998, roč. 39, č. 12, s. 2304-2320. ISSN 1552-5783.
- [4] GERICKE, Adrian; MANN, Carolina; ZADEH, Jenia Kouchek; MUSAYEVA, Aytan; WOLFF, Ismael et al. Elevated Intraocular Pressure Causes Abnormal Reactivity of Mouse Retinal Arterioles. Online. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019, roč. 2019, s. 1-12. ISSN 1942-0900. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1155/2019/9736047</u>. [cit. 2024-09-18].
- [5] BROCKHAUS, Katrin; MELKONYAN, Harutyun; PROKOSCH-WILLING, Verena; LIU, Hanhan a THANOS, Solon. Alterations in Tight- and Adherens-Junction Proteins Related to Glaucoma Mimicked in the Organotypically Cultivated Mouse Retina Under Elevated Pressure. Online. *Investigative Opthalmology & Visual Science*. 2020, roč. 61, č. 3. ISSN 1552-5783. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1167/iovs.61.3.46</u>. [cit. 2024-09-18].

- [6] ZHANG, Shunhua; WU, Chan; LIU, Liang; JIA, Yali; ZHANG, Yao et al. Optical Coherence Tomography Angiography of the Peripapillary Retina in Primary Angle-Closure Glaucoma. Online. *American Journal of Ophthalmology*. 2017, roč. 182, s. 194-200. ISSN 00029394. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1016/j.ajo.2017.07.024</u>. [cit. 2024-09-18].
- [7] MANN, Carolina; ANDERS, Fabian; LIU, Hanhan; BROCKHAUS, Katrin; LIU, Aiwei et al. Erhöhter Augeninnendruck für 7 Wochen induziert lokale Gefäßveränderungen im experimentellen Glaukommodell in vivo. Online. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2019, roč. 236, č. 07, s. 871-876. ISSN 0023-2165. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1055/s-0044-101617</u>. [cit. 2024-09-18].
- [8] ZHAO, Da; HE, Zheng; WANG, Lin; FORTUNE, Brad; LIM, Jeremiah K H. et al. Response of the Trilaminar Retinal Vessel Network to Intraocular Pressure Elevation in Rat Eyes. Online. *Investigative Opthalmology & Visual Science*. 2020, roč. 61, č.
  2. ISSN 1552-5783. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1167/iovs.61.2.2</u>. [cit. 2024-09-18].
- [9] TAO, Xiaofeng; SIGIREDDI, Rohini R.; WESTENSKOW, Peter D.; CHANNA, Roomasa a FRANKFORT, Benjamin J. Single transient intraocular pressure elevations cause prolonged retinal ganglion cell dysfunction and retinal capillary abnormalities in mice. Online. *Experimental Eye Research*. 2020, roč. 201. ISSN 00144835. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108296</u>. [cit. 2024-09-18].
- [10] PITALE, Priyamvada M.; SHEN, Guofu; SIGIREDDI, Rohini R.; POLO-PRIETO, Maria; PARK, Yong H. et al. Selective vulnerability of the intermediate retinal capillary plexus precedes retinal ganglion cell loss in ocular hypertension. Online. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2022, roč. 16. ISSN 1662-5102. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.3389/fncel.2022.1073786</u>. [cit. 2024-09-18].

- [11] SHIGA, Yukihiro; KUNIKATA, Hiroshi; AIZAWA, Naoko; KIYOTA, Naoki; MAIYA, Yukiko et al. Optic Nerve Head Blood Flow, as Measured by Laser Speckle Flowgraphy, Is Significantly Reduced in Preperimetric Glaucoma. Online. *Current Eye Research*. 2016, roč. 41, č. 11, s. 1447-1453. ISSN 0271-3683. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.3109/02713683.2015.1127974</u>. [cit. 2024-09-18].
- [12] European Glaucoma Society Terminology and Guidelines for Glaucoma, 5th Edition. British Journal of Ophthalmology. 2021/06/01, roč. 105, č. Suppl 1, s. 1. Dostupné z: https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2021-egsguidelines.
- [13] KUCHYNKA, Pavel. Oční lékařství. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2016. ISBN 978-80-247-5079-8.
- [14] ICHHPUJANI, Parul. Glaucoma: Basic and Clinical Perspectives. Online. Unitec House, 2 Albert Place, London N3 1QB, UK: Future Medicine, 2013. ISBN 978-1-78084-297-4. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.2217/9781780842974</u>. [cit. 2024-09-18].
- [15] SUN, Michelle T.; TRAN, Matthew; SINGH, Kuldev; CHANG, Robert; WANG, Huaizhou et al. Glaucoma and Myopia: Diagnostic Challenges. Online. *Biomolecules*. 2023, roč. 13, č. 3. ISSN 2218-273X. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.3390/biom13030562</u>. [cit. 2024-09-18].
- [16] TUULONEN, Anja a AIRAKSINEN, P Juhani. Polarimetry of the retinal nerve fiber layer. Online. *Current Opinion in Ophthalmology*. 1996, roč. 7, č. 2, s. 34-38. ISSN 1040-8738. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1097/00055735-199604000-00006</u>. [cit. 2024-09-18].
- [17] ALHABSHAN, Rashed; BELYEA, David; MAHESH, Sankaranarayana; HABIB, Abdullah; DAN, Jacob et al. Utility of Heidelberg retinal tomography as a screening tool for analyzing retinal nerve fiber layer defects. Online. *Clinical Ophthalmology*.

2014. ISSN 1177-5483. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.2147/OPTH.S66898</u>. [cit. 2024-09-18].

- [18] GEEVARGHESE, Alexi; WOLLSTEIN, Gadi; ISHIKAWA, Hiroshi a SCHUMAN, Joel S. Optical Coherence Tomography and Glaucoma. Online. *Annual Review of Vision Science*. 2021, roč. 7, č. 1, s. 693-726. ISSN 2374-4642. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1146/annurev-vision-100419-111350</u>. [cit. 2024-09-18].
- [19] RAO, Harsha L.; PRADHAN, Zia S.; SUH, Min Hee; MOGHIMI, Sasan; MANSOURI, Kaweh et al. Optical Coherence Tomography Angiography in Glaucoma. Online. *Journal of Glaucoma*. 2020, roč. 29, č. 4, s. 312-321. ISSN 1057-0829. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1097/IJG.00000000001463</u>. [cit. 2024-09-18].
- [20] BRAUN, Maximilian; SAINI, Chhavi; SUN, Jessica A. a SHEN, Lucy Q. The Role of Optical Coherence Tomography Angiography in Glaucoma. Online. *Seminars in Ophthalmology*. 2024, roč. 39, č. 6, s. 412-423. ISSN 0882-0538. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1080/08820538.2024.2343049</u>. [cit. 2024-09-23].
- [21] JIA, Yali; WEI, Eric; WANG, Xiaogang; ZHANG, Xinbo; MORRISON, John C. et al. Optical Coherence Tomography Angiography of Optic Disc Perfusion in Glaucoma. Online. *Ophthalmology*. 2014, roč. 121, č. 7, s. 1322-1332. ISSN 01616420. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.01.021</u>. [cit. 2024-10-03].
- [22] YARMOHAMMADI, Adeleh; ZANGWILL, Linda M.; DINIZ-FILHO, Alberto; SUH, Min Hee; MANALASTAS, Patricia Isabel et al. Optical Coherence Tomography Angiography Vessel Density in Healthy, Glaucoma Suspect, and Glaucoma Eyes. Online. *Investigative Opthalmology & Visual Science*. 2016, roč. 57, č. 9. ISSN 1552-5783. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1167/iovs.15-18944</u>. [cit. 2024-10-03].

- [23] KAUSHIK, Sushmita a PANDAV, Surinder Singh. Ocular Response Analyzer. Online. Journal of Current Glaucoma Practice. 2012, roč. 6, č. 1, s. 17-19. ISSN 0974-0333. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.5005/jp-journals-10008-1103</u>. [cit. 2024-09-18].
- [24] KHAZAENI, B; ZEPPIERI, M a KHAZAENI, L. Acute Angle-Closure Glaucoma. Online. STATPEARLS PUBLISHING. NCBI Bookshelf. 2023, Updated 2023 Nov 26. Dostupné z: <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430857/</u>. [cit. 2024-09-18].
- [25] GIRARD, Michaël J.A. a SCHMETTERER, Leopold. Artificial intelligence and deep learning in glaucoma: Current state and future prospects. Online. In: *Glaucoma: A Neurodegenerative Disease of the Retina and Beyond - Part B.* Progress in Brain Research. Elsevier, 2020, s. 37-64. ISBN 9780323853415. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2020.07.002</u>. [cit. 2024-09-18].
- [26] JÓHANNESSON, Gauti; STILLE, Ulf; TAUBE, Amelie Botling; KARLSSON, Markus; KALABOUKHOVA, Lada et al. Guidelines for the management of openangle glaucoma. Online. *Acta Ophthalmologica*. 2024, roč. 102, č. 2, s. 135-150. ISSN 1755-375X. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1111/aos.16599</u>. [cit. 2024-09-23].
- [27] KRAL, Jakub; LESTAK, Jan a NUTTEROVA, Elena. OCT angiography, RNFL and the visual field at different values of intraocular pressure. Online. *Biomedical Reports*. 2022, roč. 16, č. 5. ISSN 2049-9434. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.3892/br.2022.1519</u>. [cit. 2024-10-31].
- [28] LEŠTÁK, Jan; FŮS, Martin a KRÁL, Jakub. The Relationship Between the Thickness of cpRNFL in Segments and Intraocular Pressure. Online. *Clinical Ophthalmology*. 2022, roč. 16, s. 3673-3679. ISSN 1177-5483. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.2147/OPTH.S388936</u>. [cit. 2024-10-31].

- [29] LEŠTÁK, Ján; FŮS, Martin a KRÁL, Jakub. Axons of retinal ganglion cells on the optic nerve disc following vessel density correction at different IOP values. Online. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2023, roč. 25, č. 6. ISSN 1792-0981. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.3892/etm.2023.11960</u>. [cit. 2024-10-31].
- [30] HOOD, Donald C.; FORTUNE, Brad; ARTHUR, Stella N.; XING, Danli; SALANT, Jennifer A. et al. Blood Vessel Contributions to Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Profiles Measured With Optical Coherence Tomography. Online. *Journal of Glaucoma*. 2008, roč. 17, č. 7, s. 519-528. ISSN 1057-0829. Dostupné z: <a href="https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e3181629a02">https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e3181629a02</a>. [cit. 2024-09-18].
- [31] PATEL, Nimesh B.; LUO, Xunda; WHEAT, Joe L. a HARWERTH, Ronald S. Retinal Nerve Fiber Layer Assessment: Area versus Thickness Measurements from Elliptical Scans Centered on the Optic Nerve. Online. *Investigative Opthalmology & Visual Science*. 2011, roč. 52, č. 5. ISSN 1552-5783. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1167/iovs.10-6105</u>. [cit. 2024-09-18].
- [32] PEREIRA, Ivania; WEBER, Stephanie; HOLZER, Stephan; RESCH, Hemma; KISS, Barbara et al. Correlation between retinal vessel density profile and circumpapillary RNFL thickness measured with Fourier-domain optical coherence tomography. Online. *British Journal of Ophthalmology*. 2014, roč. 98, č. 4, s. 538-543. ISSN 0007-1161. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-303910</u>. [cit. 2024-09-18].
- [33] ALLEGRINI, Davide; MONTESANO, Giovanni; FOGAGNOLO, Paolo; PECE, Alfredo; RIVA, Roberta et al. The volume of peripapillary vessels within the retinal nerve fibre layer: an optical coherence tomography angiography study of normal subjects. Online. *British Journal of Ophthalmology*. 2018, roč. 102, č. 5, s. 611-621. ISSN 0007-1161. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2017-310214</u>. [cit. 2024-09-18].

[34] LEE, Jiyun; PARK, Chan Kee a PARK, Hae-Young Lopilly. The Impact of Superficial Vessel Density on Glaucoma Progression according to the Stage of Glaucoma. Online. *Journal of Clinical Medicine*. 2021, roč. 10, č. 21. ISSN 2077-0383. Dostupné z: <u>https://doi.org/10.3390/jcm10215150</u>. [cit. 2024-10-31].