

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ОФТАЛМОЛОГИЯ

Д-р Биляна Грозданова Михайлова

**ИЗСЛЕДВАНЕ НА НЕВРОФИБРИЛЕРНИЯ
СЛОЙ НА РЕТИНАТА С ОПТИЧЕН
КОХЕРЕНТЕН ТОМОГРАФ ПРИ
ГЛАУКОМА**

ДИ С Е Р Т А Ц И Я

за присъждане на образователна и научна степен „доктор” по
научна специалност „офтальмология”, шифър 03.01.36

Научен ръководител: Проф. д-р Ива Петкова, д.м.

Научен консултант: д-р Станислава Иванова, д.м.

София, 2017 г.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ВОН	- Вътреочно налягане
ВЗЪГ	- Вторична закритоъгълна глаукома
ВОЪГ	- Вторична откритоъгълна глаукома
ДЗН	- Диск на зрителен нерв
ЕТ-1	- Ендотелин-1
ЕТ _А -рецептор	- Ендотелин-А рецептор
НРП	- Невроретинален пръстен
ОХ	- Очна хипертензия
ПЕХ глаукома	- Псевдоексфолиативна глаукома
ПЗЪГ	- Първична закритоъгълна глаукома
ПОЪГ	- Първична откритоъгълна глаукома
ППА	- Перипапиларна атрофия
ППГ	- Препериметрична глаукома
РПЕ	- Ретинален пигментен епител
AUROC	- Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve (Площ под кривата на приемно-операционна характеристика)
Ах	- Axial length (Аксиална дължина/Предно-задна ос на окото)
ССТ	- Central corneal thickness (Централна роговична дебелина)
С/DR	- Cup/Disc Ratio (отношение Екскарвация/ДЗН)
CSLO	- Confocal scanning laser ophthalmoscopy (Конфокална сканираща лазерна офталмоскопия)
EGS	- European Glaucoma Society (Европейско глаукомно дружество)
GCC	- Ganglion cell complex (Ганглийно-клетъчен комплекс)
GCL	- Ganglion cell layer (Слой на ганглийните клетки)
GCL+	- GCL+Inner plexiform layer/IPL (Вътрешен плексиформен слой)
GCL++	- GCL+IPL+mRNFL
GDx	- Glaucoma diagnosis - работи на принципа на сканираща лазерна полариметрия
HFA	- Humphrey Field Analyzer (Хъмфри анализатор на зрителното поле)
HRT	- Heidelberg Retina Tomograph (Хайделберг ретинен томограф)
MD	- Mean Defect (Среден дефект на ретинната светлочувствителност)
mRNFL	- macular RNFL (Макулен неврофибрилерен слой)

NTG	- Normal tension glaucoma (Глаукома с ниско налягане)
OCT	- Optical coherence tomography (Оптична кохерентна томография)
pRNFL	- peripapillary RNFL (Перипапиларен ретинен неврофибрилерен слой)
PSD	- Pattern Standard Deviation (Стандартно отклонение на модела)
RNFL	- Retinal nerve fiber layer (Ретинен неврофибрилерен слой)
ROC	- Receiver operating characteristic (Приемно-операционна характеристика)
SAP	- Standard automated perimetry (Стандартна автоматична периметрия)
SD-OCT	- Spectral-domain OCT (спектрал-домейн OCT)
SLP	- Scanning laser polarimetry (Сканираща лазерна полариметрия)
TD-OCT	- Time-domain OCT (тайм-домейн OCT)

СЪДЪРЖАНИЕ

	ВЪВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА I	ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР	9
1.1.	Първична откритоъгълна глаукома - дефиниция, честота	9
1.2.	Класификация на глаукомите - място на ПОЪГ	9
1.3.	Рискови фактори за ПОЪГ	11
	Възраст	12
	Етническа принадлежност	12
	Вътреочно налягане (ВОН)	12
	Фамилна предразположеност	13
	Централна роговична дебелина (ССТ)	13
	Миопия	14
	Очно перфузионно налягане	14
	Други фактори	14
1.4.	RNFL - морфологични характеристики	14
	Зависимост на RNFL от възрастта	16
	Зависимост на RNFL от етническата принадлежност	17
	Зависимост на RNFL от брой на нервните влакна	18
	Зависимост на RNFL от площ на ДЗН	18
	Зависимост на RNFL от Ах на окото	19
	Зависимост на RNFL от ретинните съдове	19
	RNFL и глия	20
	RNFL и витреоретинални взаимодействия	20
	Зависимост на RNFL от пола	20
1.5.	RNFL - изменения при глаукома	21
1.6.	RNFL при други заболявания	23
1.7.	Образно-диагностични методи за оценка на RNFL	24
	Red-free офталмоскопия	24
	Фотографски методи	24
	Монохроматична фундус фотография	24
	Стереофотография	25
	Сканираща лазерна полариметрия (SLP)	25
	Конфокална сканираща лазерна офталмоскопия (CSLO)	27

1.8.	Оптичесна кохерентна томография (ОСТ)	27
	Въведение	27
	Исторически данни	28
	Принцип на работа	29
	ОСТ в офталмологията	32
	ОСТ при глаукома	35
	Ганглийно-клетъчен комплекс (GCC)	35
	RNFL	36
	ДЗН	38
	Предимства и недостатъци на метода	38
1.9.	Влияние на ендотелините в патогенезата на глаукома	39
1.10.	Изводи от литературния обзор	41
ГЛАВА II	ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	43
ГЛАВА III	МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ	44
3.1.	Клиничен материал	44
	Брой на пациентите и разпределение по групи	44
	Продължителност на проучването и клинична база	44
	Включващи критерии	44
	Исключващи критерии	46
	Групите на ET-1 и ET _A -рецептор	46
3.2.	Методи на изследване	47
3.2.1.	Диагностични методи	47
3.2.2.	Математико-статистически методи	50
	Тест на Колмогоров-Смирнов	50
	Хи-квадрат (χ^2) метод	51
	Дисперсионен анализ	51
	Корелационен анализ	51
	ROC - анализ	52
ГЛАВА IV	РЕЗУЛТАТИ	53
4.1.	Демографски характеристики и анализ на връзката им с изследваните показатели	53
4.2.	Анализ на глобалните периметрични индекси MD и PSD	55
4.3.	Анализ на ОСТ показателите - pRNFL и mRNFL	55
4.4.	Резултати по задача 1	57
4.5.	Резултати по задача 2	60

4.6.	Резултати по задача 3	62
4.7.	Резултати по задача 4	65
4.8.	Резултати по задача 5	69
4.9.	Резултати по задача 6	72
ГЛАВА V	ОБСЪЖДАНЕ	75
5.1.	Обсъждане на резултатите по задача 1	75
5.2.	Обсъждане на резултатите по задача 2	77
5.3.	Обсъждане на резултатите по задача 3	79
5.4.	Обсъждане на резултатите по задача 4	80
5.5.	Обсъждане на резултатите по задача 5	82
5.6.	Обсъждане на резултатите по задача 6	85
5.7.	Изводи	86
ГЛАВА VI	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	88
ГЛАВА VII	ПРИНОСИ	89
	Приноси с научно-теоретичен характер	89
	Приноси с научно-приложен характер	89
	Приноси с потвърдителен характер	90
	ПРИЛОЖЕНИЯ	91
	Приложение 1 - Протокол за изследване на пациенти	91
	Приложение 2 - Апарат Topcon 3D OCT 2000 FA+	92
	Приложение 3 - Circle - протокол	93
	Приложение 4 - Glaucoma Analysis - Macula протокол	94
	Приложение 5 - Описателна статистика	95
	Приложение 6 - ROC - анализ	97
	Списък на публикациите, свързани с дисертационния труд	99
	Участия в научни форуми, свързани с дисертационния труд	99
	Участия в научни проекти, свързани с дисертационния труд	100
	ЛИТЕРАТУРА	101

ВЪВЕДЕНИЕ

Според Американската академия по офталмология терминът глаукома обединява група от заболявания, протичащи с оптична невропатия (характерна екскавация, промяна в съединителнотъканните елементи и броя на изграждащите зрителния нерв неврони) и типични дефекти в зрителното поле. Повишеното вътреочно налягане е един от основните рискови фактори за развитие и прогресия, като липсата или наличието му не променя дефиницията на заболяването [1].

В световен мащаб глаукомата е втора по честота причина за трайна слепота след катаракта [2, 3]. В края на 20-ти век засегнати от глаукома са повече от 60 млн. души като приблизително 10% от тях са били с двучна слепота [4]. Проучвания от прогностичен и предиктивен характер представят следните резултати: броят на засегнатите от глаукома ще нарасне с около 20 млн. и през 2020 г. той ще бъде ~ 80 млн. души, от тях тези с откритоъгълна глаукома ще са ~ 60 млн., а с двустранна слепота ще нараснат до 11 млн. [2]. Най-широко разпространеният тип глаукома е първичната откритоъгълна глаукома (ПОЪГ) [2, 5, 6]. Именно нейното късно диагностициране е главен рисков фактор за развитие на слепота [2, 7, 8]. Други епидемиологични проучвания показват, че голяма част от пациентите с глаукома остават реално недиагностицирани и нелекувани, а част от пациентите без глаукома са неправилно диагностицирани и лекувани за такава [5, 9, 10].

Глаукомата е не само медицински, но и социално значим проблем. ПОЪГ се оприличава на „тихия крадец на зрението”, тъй като настъпва бавно, прогресивно, без болка и оплаквания от страна на пациента до появата на напреднали дефекти в зрителното поле или „каквото глаукомата отнеме - не връща обратно”, поради необратимостта на структурните и функционални изменения. За борба със заболяването и запазване качеството на живот на хората, се изисква оптимизиране на усилията в превенция, ранна диагностика и ефективно лечение.

Възможностите за ранна диагностика на глаукомните изменения се подобряват, когато в клиничната дейност на офталмолога навлизат образно-диагностичните методи за оценка на структурните промени още преди появата на функционалните. Такъв метод е оптичната кохерентна томография (ОСТ) - неинвазивен, безконтактен, бърз и лесно приложим, който генерира *in vivo*-образи от ретината и преден очен сегмент с възможност за качествена и количествена оценка на редица параметри.

Много проучвания доказват ролята на OCT като ценен метод за ранна диагностика и проследяване на пациенти с глаукома. Един от показателите, които имат възможност да се изследват количествено с OCT, е ретинният неврофибрилерен слой (RNFL). RNFL представлява един от слоевете на ретината, който се състои от аксоните на ганглийните клетки, глия и кръвоносни съдове. Известно е, че при глаукомните изменения настъпва ускорено отпадане чрез апоптоза на ганглийните клетки, а оттам и на техните аксони, което има директно отражение върху дебелината на RNFL. Две възлови точки в дебелината на RNFL се изследват в ретината - едната е около диска на зрителния нерв, където се събират аксоните на всички ганглийни клетки, а другата е в областта на макулата като част от ганглийно-клетъчния комплекс, където са концентрирани повече от 50% от ганглийните клетки в очното дъно. Така се обособяват два важни параметъра - перипапиларен RNFL (pRNFL) и макулен RNFL (mRNFL), които са обект на изследване в настоящия дисертационен труд, а именно като се определят степента на техните изменения и потенциал за диагностика при пациенти с различни етапи на засягане от ПОЪГ, както и приложението им в ежедневната клинична практика на офталмолога.

ГЛАВА I - ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1.1. Първична откритоъгълна глаукома - дефиниция, честота

Според Европейското глаукомно дружество (EGS, 2014 г.), понятието първична откритоъгълна глаукома (ПОЪГ) се дефинира като: хронична, прогресираща оптична невропатия, която се характеризира със специфични морфологични изменения в диска на зрителния нерв (ДЗН) и ретинния неврофибрилерен слой (RNFL) при липса на друга вродена или придобита очна патология. Прогресивното отпадане на ретинни ганглийни клетки и загуба на зрителното поле се асоциират с горепосочените промени [11].

Проучвания от епидемиологичен характер определят броя на засегнатите от глаукома лица в световен мащаб на повече от 60 млн. в края на 20-ти век, а такива от прогностичен характер изчисляват, че този брой е с тенденция за нарастване: през 2020 г. на ~ 80 млн. души, а през 2040 г. на ~ 112 млн. [2, 4, 12]. Частта на откритоъгълната глаукома от общия брой засегнати също е с тенденция за нарастване от ~ 45 млн. през 2010 г. на ~ 59 млн. през 2020 г. [2]. През 2010 г. на първо място като установена причина за трайна слепота в световен мащаб е катарактата с 51%, а на второ място е глаукомата с 8 процента дял от всичките 39 млн. слепи хора по света [3]. Честотата на ПОЪГ е най-голяма в Африка - 4.2%. Мъжете са установени като по-склонни да развият глаукома от жените, индивидите с африкански в сравнение с тези от европейден произход, както и хората от градските райони в сравнение с тези, които живеят в селските [12].

1.2. Класификация на глаукомите - място на ПОЪГ

Най-широко използваната глаукомна класификация в Европа и у нас е тази на EGS [11], поради нейната предимно клинична ориентация. Последни корекции по нея са нанесени през 2014 г. в четвърто издание на ръководството. За разлика от всички глаукоми в детска възраст, които са отделени като самостоятелна група, останалите четири обособени големи групи се основават на характеристиките на преднокамерния ъгъл и възникване (първично/вторично):

1. Първични конгенитални форми / Детски глаукоми

- 1.1. Първична конгенитална глаукома
- 1.2. Ранна ювенилна глаукома
- 1.3. Вторична детска глаукома

- Асоциирана с вродени очни аномалии
- Асоциирана с вродени системни заболявания и синдроми
- Асоциирана с придобити заболявания
- Глаукома след катарактна хирургия в детска възраст

2. Първични откритоъгълни глаукоми

2.1. Първична ювенилна глаукома

2.2. ПОЪГ

- с повишено вътреочно налягане (ВОН)
- с нормално ВОН (NTG - normal tension glaucoma)

2.3. Очна хипертензия (ОХ)

2.4. Съмнение за ПОЪГ

3. Вторични откритоъгълни глаукоми (ВОЪГ)

3.1. ВОЪГ дължаща се на очно заболяване

- Псевдоексфолиативен (ПЕХ) синдром / глаукома
- Пигментнодисперсен синдром / глаукома
- Лещеноиндуцирана глаукома
- ВОЪГ асоциирана с вътреочни хеморагии
- Увеитна глаукома
- Неоваскуларна глаукома
- ВОЪГ дължаща се на вътреочен тумор
- ВОЪГ асоциирана с отлепване на ретината

3.2. ВОЪГ дължаща се на очна травма

3.3. ВОЪГ дължаща се на екстрабулбарни заболявания

- ВОЪГ при повишено венозно еписклерално налягане

3.4. Ятрогенна ВОЪГ

- Асоциирана с кортикостероидна терапия
- Дължаща се на очна хирургия/лазер

4. Първична закритоъгълна глаукома (ПЗЪГ)

4.1. Съмнение за ПЗЪГ

4.2. Остра закритоъгълна глаукома

- със зеничен блок
- с плато ирис конфигурация

4.3. Интермитентна закритоъгълна глаукома

4.4. Хронична закритоъгълна глаукома

4.5. Състояние след остър глаукомен пристъп

5. Вторична закритоъгълна глаукома (ВЗЪГ)

5.1. ВЗЪГ със зеничен блок

5.2. ВЗЪГ с предно „издърпващ“ механизъм без зеничен блок

- Неоваскуларна глаукома
- Задна полиморфна дистрофия
- Иридокорнеален ендотелен синдром
- Епително или фиброзно врастване след хирургия на преден сегмент или пенетрираща травма
- Възпалителна мембрана
- Периферни предни синехии след аргон лазерна трабекулопластика (ALT) или ендотелна мембрана, покриваща трабекуларната мрежа късно след ALT
- Аниридия

5.3. ВЗЪГ със задно „избутващ“ механизъм без зеничен блок

- Малигнена глаукома
- Асоциирана с кисти на ириса и цилиарното тяло, вътреочни тумори
- Асоциирана със силиконово масло, друга тампонираща течност или газ във витреалната кухина
- Асоциирана с увеална ефузия
- Асоциирана с V-ти стадий на ретинопатия на недоносеното
- Асоциирана с конгенитални аномалии

1.3. Рискови фактори за ПОЪГ

Рискови за ПОЪГ се означават всички онези статистически асоциирани *фактори* за развитието ѝ в здрави очи или за прехода на ОХ в глаукома [13]. *Прогностични фактори* за откритоъгълна глаукома са тези, които са статистически асоциирани с прогресията на вече диагностицирана глаукома. Рисковите и прогностични фактори не установяват причина, а така също двата термина понякога се използват като взаимнозаменяеми. *Предсказващи фактори* като термин би трябвало да се използват за фактори, които са асоциирани с повишен риск за глаукома и, които са част от дефиницията за глаукома като параметри на ДЗН и индекси на зрителното поле [11].

Първоначални доказателства за потенциални рискови фактори има от кръстосани популационно-базирани проучвания. Категорични данни на рисковите фактори за

развитието на откритоъгълна глаукома могат да се получат от лонгитудинални популационно-базирани кохортни проучвания [14-17].

Възраст. Резултати от редица проведени изследвания сочат, че честотата на ПОЪГ нараства с напредване на възрастта [18-22]. При Beaver Dam Eye Study се установява повишаване на честотата от 0.9% при пациенти с възрастов интервал 43-54 години до 4.7% при пациенти на 75 години и нагоре [19]. Има и проучвания, чиито резултати намират разлика в честотата между групи от различна етническа принадлежност. Например в Baltimore Eye Survey се установява, че честотата на глаукома при пациенти с негроидна етническа принадлежност между 40-50 години е ~1%, а над 80 години тя нараства на ~11%. За разлика от гореизложеното, честотата е значително по-ниска при пациенти с европейден произход на съответстваща възраст - 0.92% и 2.19% [23]. Възрастта е рисков, прогностичен и предсказващ фактор. Рискът за конверсия на ОХ в ПОЪГ нараства с 26% на десетилетие. По-напредналата възраст е сигнификантно асоциирана с повишен риск от прогресия на глаукомата. Рискът от прогресия нараства с 30% на всеки 5 години [24].

Етническа принадлежност. Сравнителни проучвания между различни етнически принадлежности установяват разлика в честотата на разпространение на глаукома. Така например тя е няколко пъти по-голяма при африкано-американска и африкано-карибска етническа принадлежност в сравнение с европейдната [16, 25, 26], като с напредване на възрастта тя допълнително се увеличава [23]. Честотата на ПОЪГ сред латиноамериканци е по-висока от тази при кавказци, но по-ниска от тези с афрокарибска принадлежност [21, 27-29]. Етническата принадлежност е приета само като рисков фактор.

Вътреочно налягане. Повишеното ВОН е най-значимият рисков, прогностичен и независимо, от липсата му в определението на EGS за глаукома, той е и предсказващ фактор [30, 31]. Това е единственият от факторите податлив на влияние и е отправна точка при лечението на глаукома. Именно затова основна част от антиглаукомната терапия - медикаментозна, лазерна и хирургична е насочена към понижаване на ВОН.

Направени проучвания при здрави индивиди от различна етническа принадлежност целят да установят дали средните стойности на ВОН между тях се отличават сигнификантно. За европейдната раса средното ВОН е изчислено на 16 mmHg, за негроидната е 18 mmHg, а за монголоидната 13 mmHg [32-34]. Тези различия са от значение, за да може измерените стойностите на ВОН да се интерпретират правилно.

Индивиди, при които се измерва трайно повишено ВОН повече от 26 mmHg, са с 13 пъти по-висок риск за развитие на глаукома, отколкото при лица с по-ниско ВОН [35]. Bengtsson и съавтори твърдят, че с всеки 1 mmHg повишение на ВОН, рискът от прогресия на заболяването се увеличава с 11% [36]. Понижението на ВОН забавя прогресията при ПОЪГ - с всеки 1 mmHg, рискът за прогресия намалява с 10% [37, 38]. Друга характерна особеност в стойностите на ВОН е неговата повишена дневна вариабилност - среща се в около 36% от случаите с глаукома и в около 6% сред здравата популация [39]. Трябва да се има предвид пиковите стойности, а така също и границите на вариация. Освен това асиметрията в стойностите на ВОН между двете очи е причина за повишен риск към конверсия на ОХ в глаукома, а при ПОЪГ - към прогресия на заболяването [11].

Фамилна предразположеност. Представлява рисков фактор за развитие на глаукома. Две проучвания проведени при различни етнически групи установяват, че рискът за развитие на глаукома е 9.2 пъти и 4 пъти по-висок, респективно за индивиди имащи кръвна родствена връзка с хора от първа линия и доказана глаукома сравнени с такива, които нямат [40, 41]. Наличието на фамилна обремененост за глаукома обуславя възможността за по-ранно начало, по-агресивен ход и по-голяма скорост на прогресия на заболяването в сравнение с необременени индивиди [42]. Според други проучвания, фамилната предиспозиция като самостоятелен рисков фактор, не е достатъчно силен за да се развитие глаукома и е необходимо да се отчете влиянието на негенетичните фактори [31].

Централна роговична дебелина (ССТ). Представлява рисков, прогностичен и предсказващ фактор за ПОЪГ. В две популационни проучвания установяват 41% и 30% повишен риск за развитие на откритоъгълна глаукома на всеки 40 μm по-тънка ССТ [16, 31]. При пациенти с ОХ съществува 2 пъти по-висок риск за преход в ПОЪГ на всеки 40 μm по-тънка роговица. По-тънката роговица е сигнификантен, но слаб прогностичен фактор [43]. Има публикации по отношение на расови различия в ССТ - негроидната раса е с по-тънка ССТ ($\sim 530 \mu\text{m}$) от европейската ($\sim 545 \mu\text{m}$) [44].

Миопия. Няколко проучвания определят миопия повече от -3.00 dpt като фактор асоцииран с повишена честота на откритоъгълна глаукома [45-47]. Миопия асоциирана с глаукома се наблюдава по-често от други грешки в рефракцията. Възможно обяснение се открива в редовните офталмологични прегледи при тези пациенти и възможността за по-ранно откриване на заболяването. Това обаче не обяснява защо не се установява подобна връзка с хиперметропията, например, а тя

дори се приема от някои автори като протективен фактор по отношение на ПОЪГ [48, 49]. Промените в очното дъно като резултат от миопията, влияят върху оценката на ДЗН и върху периметричните резултати, което допълнително затруднява поставянето на диагноза ПОЪГ.

Очно перфузионно налягане. Асоциация на ниско очно перфузионно налягане (представлява разликата между системното и ВОН) с повишена честота на откритоъгълна глаукома е била последователно установена при редица популационно-базирани проучвания [27, 45, 50-53]. Скорошни доказателства сочат, че посочената връзка може да зависи от наличието или липсата на терапия за артериална хипертония [16, 45, 51, 54-56]. Резултатите сочат, че при ниски стойности на очното перфузионно налягане, рискът за развитие и прогресия на глаукома нараства до 6 пъти [57].

Други фактори. Допуска се, че и други фактори могат да бъдат асоциирани с повишена честота на откритоъгълна глаукома като диабет, системно артериално налягане, мигрена, синдром на Рейно, обструктивна сънна апнея. Данните в литературата, обаче, са противоречиви и тяхното влияние не е достатъчно силно изразено, за да се причислят към групата на сигурните рискови фактори [11].

1.4. RNFL - морфологични характеристики

Всички аференции в зрителния нерв, които водят началото си от фоторецепторния слой разположен на повече от 1000 mm² площ ретина, в ДЗН са концентрирани на повърхност от около 2-3 mm² [58, 59].

От тялото на всяка ганглийна клетка към ДЗН се насочва израстък наречен аксон. Така ДЗН се превръща в конгломерат от конвергентния ход на всички аксони, които представляват част от ретината и формират слой наречен ретинен неврофибрилерен слой - RNFL [60]. Никъде другаде аксоните на ганглийните клетки не са така плътно пакетирани както са в ДЗН, което определя и значимата роля на перипапиларния RNFL в диагностиката и проследяването на пациенти с глаукомна оптична невропатия.

Могат да се разгледат следните особености на организация в RNFL [60, 61]:

- **Папиломакулно снопче** - започва от ганглийните клетки на фовеоларната зона. Влакната от назалната ѝ част се насочват в права посока назално към темпоралната граница на ДЗН, а тези от темпоралната част правят лек дъговиден ход около назалните влакна и се включват към правия ход.

- **По-късно формираните неврофибрили** водещи началото си от гаглийните клетки разположени темпорално от фовеята преминават дъговидно около нея и папиломакулното снопче като ги заобикалят.
- **Темпорален шев** - формира се темпорално от фовеята с относително малко аксони, поради факта, че те не преминават хоризонталния меридиан. ДЗН обикновено лежи над хоризонталния меридиан.
- **Колекцията от неврофибрили в горен и долен квадрант на ДЗН** е подчертано голяма. Отдавна известно е, че тези два района са особено уязвими на глаукомни увреждания.
- **Назалните неврофибрили** имат радиерен ход спрямо ДЗН.

Основни симптоми за оценка на RNFL изображения са [60]:

- **Осветеност на фона** от редуващи се светли и тъмни зони в горнотемпорален до долнотемпорален участък от ДЗН. Когато има атрофия, този фон се нарушава и се визуализира като тъмна ивица, поради липсата на структура. Нарушенията в осветеността се отбелязват като **локализирани и генерализирани дефекти**. Локализираните дефекти от своя страна могат да бъдат **цепковидни и клиновидни**. Цепковидни са тези, при които ширината на дефекта е равномерен по целия ход. Клиновидни са тези, които имат по-широка периферна част, която се стеснява по посока на ДЗН, което може да се обясни с конвергентния ход на аксоните. Генерализираните дефекти обхващат цялостно RNFL и са по-трудни за диагностика от локализираните.
- **Стрираност** - нормално RNFL се характеризира с груба стрираност, която намалява в хода на атрофични промени на слоя. Проучвания доказват, че отличителния белег стрираност на RNFL губи своята видимост при дебелина от 50 μm [62].
- **Визуализация на кръвоносните съдове** - нормално те са покрити от RNFL и това обяснява защо малките и средни съдове изглеждат по-неясни и замъглени. При атрофия на слоя съдовете започват да се виждат по-ясно, поради по-малката степен на припокриване от RNFL.

Неврофибрилите се подреждат по строго специфичен порядък в ДЗН не само при всеки човек, но и в двете очи на един и същи човек [63]. Еднакво количество нервни влакна могат да изглеждат по различен начин в границите на ДЗН с различна големина, различно дълбоки ламини и различно висок склерален канал [63]. Един и същи функционален капацитет може да бъде представен чрез различно изглеждащи

структури и обратното - еднакви на вид структури могат да имат различна функционална активност [64-66].

Дебелината на RNFL зависи от [65]:

- Възраст
- Етническа принадлежност
- Брой на нервните влакна
- Дебелина на нервните влакна
- Количество глия
- Количество на ретинните кръвоносни съдове
- Големина на ДЗН
- Аксиална дължина на окото (Ах)

Дебелината на измерения RNFL зависи още от [65]:

- По-голяма ППА/conus myopicus
- Витреоретинални взаимодействия

Екскавацията зависи от [65]:

- площ на ДЗН
- брой на неврофибрилите
- дебелина на неврофибрилите
- количеството глия

Зависимост на RNFL от възрастта. Редица проучвания, които използват различни методи на изследване, търсят корелационна връзка между дебелината на RNFL и възрастта. Резултатите варират от липса на корелация, през слаба до силна сигнификантна връзка.

Противоречиви резултати се установяват в проучванията, при които се използват хистологични методи на изследване, тъй като обикновено те обхващат малък брой изследвани пациенти, а трябва да се има предвид и съществуващата вариация в броя на аксоните при здрави индивиди [67], както и артефакти от оток на тъканта, авотлиза и трудност в разграничаване локализацията на пробите. През 1980 г. Dolman и колектив изследват хистологично 300 зрителни нерва на индивиди с възрастов диапазон от раждането до 96 годишна възраст и описват намаляващата плътност на аксоните в определени участъци на нерва с повишаване количеството фиброзна тъкан при по-възрастните индивиди [68]. По-късно през 1987 и 1989 г. други две хистологични проучвания също установяват намаляване дебелината на RNFL с

възрастта [69, 70]. А третото проучване от тази серия, отново през 1989 г., не открива разлика в броя на аксоните между по-млади и по-възрастни индивиди [71]. Хистологичните методи на изследване определят спад на дебелината на RNFL със средно между 4 900 и 6 700 аксона годишно.

При последващи проучвания с автоматични техники за изследване на RNFL се установява, че независимо от различията в получените средни стойности, дебелината на неврофибрилерния слой намалява с напредване на възрастта и загубата за година се равнява на 4000-5000 аксона [72-75].

При редица проучвания, използващи селективна лазерна полариметрия (SLP), се установява, че RNFL изтънява с напредване на възрастта [76-78]. Така например, Poitsoawmy и колектив изследват дебелината на RNFL при 110 здрави доброволци на възраст от 5 до 90 години от европейден и афро-карибски етнически произход. И в двете групи, дебелината на RNFL показва сигнификантна редукция с възрастта [77]. Според Торгас и съавтори, обаче, изтъняването на RNFL с възрастта е слабо, но сигнификантно, отново установен със SLP [79].

С time-domain OCT (TD-OCT), Budenz и колектив, също установяват сигнификантно изтъняване на RNFL с напредване на възрастта. Те определят това изтъняване с около 2.0 μm /декада или с 0.2% годишно на средна дебелина от 100 μm [80].

Quigley и съавтори твърдят, че човешкият RNFL губи ~5000 аксона/годишно от раждането до смъртта на индивида, по 2500 аксона/годишно преди възрастта от 50 години и по 7500 аксона/годишно след 50 годишна възраст [81]. Загуба от 7500 аксона годишно от общ брой 1 млн. аксони при здрави възрастни индивиди е 0.75% годишна загуба. Няколко предходни проучвания с OCT също установяват изтъняване на RNFL с възрастта [82, 83]. Подобно е мнението също така на Kerrigan-Baumrind и колектив - според тях здравето око губи между 5 000 и 10 000 ганглийни клетки всяка година като част от процеса на стареене [84]. Различни проучвания с TD-OCT установяват средни стойности на спад в дебелината на RNFL в интервал от -1.6 до -3.3 μm /на декада от възрастта [80, 82, 83, 85-87].

За разграничаване на физиологично от патологично изтъняване на RNFL, при измерването му с автоматични техники, се изисква наличие и съпоставяне с нормативна база от данни за съответната възрастова група.

Зависимост на RNFL от етническата принадлежност. Alasil и съавтори изследват дебелината на RNFL сред кавказка, латиноамериканска, афро-американска и азиатска етническа принадлежност. Те намират, че средната дебелина установена

със спектрал-домейн OCT (SD-OCT) сред кавказци ($96 \pm 9.2 \mu\text{m}$) е сигнификантно по-малка от тази при латиноамериканци ($102.9 \pm 11 \mu\text{m}$) и азиатци ($100.7 \pm 8.5 \mu\text{m}$). Средната дебелина при афроамериканците ($99.2 \pm 10.2 \mu\text{m}$) е по-голяма от тази при кавказката раса, но не се намира сигнификантна разлика [88]. Poinoosawmy и колектив установяват със SLP, обратно на гореспоменатите доказателства, а именно, че европейците имат сигнификантно по-дебел RNFL от афрокарибската етническа принадлежност [77]. Някои от проучванията намират сигнификантни разлики само в средни стойности на квадрантни параметри на дебелината.

Зависимост на RNFL от брой на нервните влакна. Броят на аксоните изграждащи зрителния нерв е между 700 хил. и 1.4 млн., а оттам и дебелината на RNFL варира в широки граници при здрави хора, което ограничава ползата от абсолютни стойности за разграничаване на глаукомно болни от здрави индивиди [80]. Затова оценка на модулацията в дебелината на RNFL е от полза за откриване на относителна загуба на нервните влакна при глаукома. Тя отразява разликата между най-голямата и най-малка измерена стойност на RNFL за даден участък при здрави хора [89]. За да се отчете действителното количество на неврофибрилите изграждащи RNFL е необходим подход, при който да се елиминира влиянието на останалите фактори, които имат отношение към изграждането на слоя. Някои автори посочват за такъв параметър ширината на невроретиналния пръстен (НПП). За разлика от RNFL, който се изследва във вертикална равнина, ширината на НПП се изследва в хоризонтална равнина, а така се елиминира влиянието на кръвоносните съдове и витреоретиналните взаимодействия. Остават само неврофибрилите и глията. [63, 64].

Зависимост на RNFL от площ на ДЗН. Установена е правопрпорционална зависимост между дебелината на RNFL измерена с OCT (TD/SD) и площта на ДЗН [90, 91]. Не е съвсем изяснен факта дали в очите с по-голям ДЗН, RNFL действително се измерва по-дебел поради по-големия брой на нервните фибрили или поради по-малката дистанция между кръговия скан и ръба на папилата (91).

Размерът на ДЗН е предпоставка за диагностична грешка при определяне дебелината на RNFL. Сканиращата равнина при малък и голям ДЗН лежи на различни отстояния от него. Неврофибрилите образуват най-дебел слой в областта на НПП, като с отдалечаване от него, същото количество влакна се разполага на по-голяма площ, а оттам и дебелината на RNFL намалява. Така отчитането дебелината на RNFL при много малките и големи дискове не се осъществява при еднакви условия. При по-малките дискове сканиращата равнина попада много по-далече от невроретиналния

ръб на диска, където RNFL вече изтънява, а при големите дискове сканиращата равнина попада много близо до невроретиналния ръб, където влакната са струпани в най-дебел слой [63, 64, 92].

Зависимост на RNFL от Ах на окото. Открива се обратнопропорционална сигнификантна корелационна връзка между дебелината на RNFL и Ах на окото [80, 90]. Подобни резултати открива Leung и колектив, които изследват дебелината на RNFL при възрастни пациенти с миопия от -0.50 до -6.00 dpt сферичен еквивалент [93]. El-Dairi и съавтори установяват такава корелация сред детската популация. Според техните резултати дебелината на RNFL намалява с 2.6 μm при 1 mm промяна в Ах на окото [94]. Hirasawa и колектив не откриват връзка между средната дебелина на RNFL (измерена с Topcon OCT) и Ах [95]. Обяснение за това несъответствие може да се даде с погрешното определяне на действителната големина на ДЗН. По-голямата проекция на кръговия скан в очите с по-голяма Ах определя измерване на RNFL подалече от границите на ДЗН, където дебелината е по-малка [96].

Редукцията в дебелината на RNFL с нарастване на Ах на окото може да се обясни с повишеното изтъняване на склерата и ретината. В миопични очи елонгацията на булба води до механично дърпане и изтъняване на ретината. Поради това е възможно степента на удължаване да бъде свързано със степента на изтъняване на ретината, въпреки че все още това не е установено с хистологично изследване [97, 98].

Vozkurt и съавтори получават, че средната дебелина на RNFL измерена с GDx - апарат в миопични очи е сигнификантно по-голяма в сравнение със здрави контролни очи. Несъответствието се дължи на високата отразяваща способност на склерата като резултат на перипапиларната хориоретинална атрофия асоциирана с висока миопия, което води видимо до увеличаване на ретардацията, а оттам и на получените стойности [99].

Зависимост на RNFL от ретинните съдове. Различни публикации разкриват зависимостта на RNFL от лумена на съдовете. Относителният дял на големите ретинни съдове в дебелината на RNFL е изчислен на ~13% без в него да са включени малките съдове. Този процент е грубо изчислен при здрави хора [100]. При глаукомно болни, когато RNFL изтънява, относителният дял на съдовете нараства. Някои автори отчитат статистическа зависимост между изтънения RNFL и тесните съдове при нормотензивна глаукома, а това доказва значението на съдовия обем при оформяне профила на неврофибрилерния слой [63, 64, 101].

Hood и съавтори демонстрират, че профилът на RNFL установен със SLP перипапиларно варира според локализацията на горните и долни темпорални артерии и вени [102]. Даде се представа също така, че колкото по-коса е посоката на главните темпорални кръвоносни съдове, толкова по-коса е позицията на дългообразните снопчета на нервните влакна [103].

Установено е, че съществува връзка между ретинните кръвоносни съдове и формирането на по-дебелите участъци на RNFL. Развитието на кръвоносните съдове се влияе от разпределението на аксоните. Доказано е, че разпределението на аксоните има отношение към появата и развитието на кръвоносните съдове в ретината и, че двата процеса могат да си делят общи насочващи сигнали [104, 105].

RNFL и глия. В изграждането на RNFL участват освен неврофибрилите на ганглийните клетки и съдовете в ретината, също и глия - олигодендорцити, астроцити, микроглия, NG2-глия. Количеството глия е различно при отделните индивиди [63, 64, 106].

RNFL и витреоретинални взаимодействия. Върху повърхността на RNFL се осъществяват витреоретинални взаимодействия, които дават отражение върху дебелината на слоя. Съвременните OCT апарати не позволяват да се филтрират неврофибрилите от глията и съдовете. Това, което се получава като изображение е на практика обобщен образ на всички структури и далеч не може да послужи като реална оценка на действителното количество неврофибрили [63, 64]. Витреоретиналните тракции са фактор променящ дебелината на RNFL. Трудно е да се определи честотата и степента на влиянието им, но примери от клиничната практика доказват, че при наличието им профилът на неврофибрилерния слой съществено може да се променя и това може да доведе до погрешна интерпретация на данните [63, 64].

Зависимост на RNFL от пола. В повечето от проучванията, които анализират дебелината на RNFL между двата пола, се установява, че тя е по-голяма при индивидите от мъжки пол. Таз разлика, обаче, не винаги се асоциира със сигнификантна. Така например, Alasil и съавтори не установяват статистически значима разлика в средната обща дебелина на RNFL между двата пола [88]. Други проучвания също не откриват сигнификантна разлика в средната обща дебелина на RNFL, но откриват такава в стойностите на квадрантни параметри [107] Противоположно на горните твърдения, в Beijing Eye Study през 2011 г. се установява сигнификантно по-дебел RNFL в женския пол [108].

1.5. RNFL - изменения при глаукома

Глаукомата се характеризира с необратима увреда на RNFL и ганглийно-клетъчния комплекс (GCC) със съответни, типични промени в зрителното поле [109]. Хроничната прогресивна загуба на невроретинална тъкан е отличителен белег на заболяването и е критерий за диагностика на глаукома [110].

При оценка на глаукомните изменения е уместно определяне дебелината на RNFL, поради това че изтъняването на този слой корелира директно със загубата на ганглийни клетки, което е основно при глаукомната увреда [111].

Оценката на RNFL е важна за ранна диагностика на глаукома, тъй като изтъняването на слоя често се появява преди клиничните прояви на заболяването. Хистологична оценка на RNFL показва, че приблизително 40-50% от неврофибрилите е необходимо да отпаднат преди появата на дефекти в зрителното поле [112]. Клиничната оценка на RNFL чрез red-free фотографски метод е показала, че изтъняването на слоя може се отчете в 60% от фотографиите 6 години преди появата на зрителни дефекти [113]. Това показва, че структурните промени се появяват преди функционалните. Типичните периметрични промени асоцииращи се с глаукома са: назална стъпка, долен/горен аркуатен скотом, парацентрален скотом, генерализирана депресия, прогресивно влошаване на зрителното поле [114].

Възможно е, обаче да има наличие на функционални загуби, без наличие на структурни такива, както и наличието на една и съща загуба на RNFL да има различно отражение върху клиничната изява в зависимост от началната дебелина. Това може да бъде обяснено със следното: дефекти в зрителното поле се появяват едва след загуба на повече от 40% от влакната в неврофибрилерния слой. Всеки човек е роден с различно количество нервни влакна влизащи в състава на зрителния нерв. Ако даден човек притежава много дебел за човешката популация RNFL, при загуба на повече от 40% неврофибрили и при изследване с OCT, кривата отразяваща дебелината все още ще бъде локализирана в зелената зона вероятно в средата на зелената зона. Това лице ще има дебелина на RNFL без отклонения от нормата и дефекти в зрителното поле. Ако друг човек е роден с тънък RNFL и неговата дебелина се изобразява в долната част на зелената зона при OCT изследване, то при загуба на 40%, тази зона ще се премести сигнификантно близо до жълтата или в самата нея и е възможно тази дебелина да бъде оценена като патологично тънка и по-голяма отколкото в първия случай. Тогава този човек ще има патологично тънък RNFL с дефекти в зрителното поле [65, 66].

Има съобщени случаи от клиничната практика, в които е описана сигнификантната загуба на нервни влакна в съчетание с нормално зрително поле при глаукома. Изказват се предположения, че вероятно незасегнатите нервни влакна са с възможности за поемане функцията на вече загиналите както и наличието на публикации, в които се споменава, че глията притежава не само подпомагаща и нутритивна функция, но може да бъде източник и проводник на информация като нервните влакна [65, 115-117]. В началото на глаукомния процес се предполага и следното: че засегнатите ретинни ганглийни клетки понижават своята функция преди да загинат, а това води до понижаване на зрителните им функции без забележима структурна промяна. Така е възможно наличие на функционални дефекти в комбинация с нормална дебелина на RNFL [65].

Един от отличителните белези на неврофибрилерния слой в здрави очи, както бе споменато вече, е възможността му да се наблюдава под формата на стриации във вътрешния ретинален слой разпространяващи се от ДЗН към периферната ретина [118]. Тези стриации представляват тъканни каналчета, в които израстъците на мюлеровите клетки държат аксоните заедно [118]. Така аксоните на ганглийните клетки са най-добре видими в долно-темпорален регион от ДЗН, следвани от горно-темпорален, горно-назален и долно-назален. Най-малко видим е неврофибрилерният слой в горен, долен, хоризонтално-темпорален и хоризонтално-назален регион [119]. При глаукома, загубата на RNFL може да се наблюдава като дифузни, локални дефекти или като комбинация от двете [113, 120, 121]. Локализираните са видими като клиновидни, добре демаркирани дефекти на RNFL, които са насочени към или докосват границата на ДЗН [122]. Дифузната загуба води до намалена видимост на RNFL. Посредством офталмоскопия локализираните дефекти могат да се визуализират по-лесно от дифузните.

Редица автори установяват, че загубите в RNFL при NTG са локализирани предимно в долно-темпоралната ретина. Процентът на тези дефекти в RNFL е изчислен на 77.5%, 80.4% и 92.3% в различните проучвания, а на горно-темпоралните дефекти - 54.2% [123-125].

Най-периферните неврофибрили произлизат от най-отдалечената част на ретината (т.е. най-дистанцирано от ДЗН), лежат най-дълбоко в неврофибрилерния слой (т.е. най-близо до склерата), преминават най-близо до ръба на склерата в ДЗН и следователно се разполагат най-периферно в нерва [126]. Тези неврофибрили, които водят началото си от ганглийните клетки най-близо до ДЗН се разполагат най-отгоре в слоя и в средата на нерва. Именно тяхното повърхностно местоположение, се

предполага според някои автори, че ги прави по-уязвими в условията на глаукомна увреда и тяхното засягане се асоциира с уголемяване на сляпото петно като периметрична находка в зрителното поле при някои случаи.

Според други автори хроничното повишено ВОН води до компресия в цилиарната циркулация на пограничната тъкан на Елшниг и при нейната атрофия започва хлътване на lamina cribrosa. Това от своя страна е причина за опъване и разкъсване на преламинарните неврофибрили разположени най-близо до склералния ръб. Единствено преламинарните фибрили могат да отпаднат по ред, тъй като все още не са събрани в снопове. Като резултат следващото по-централно разположено нервно влакно се придвижва към периферията за да заеме пространството създадено от скъсването на предходното влакно, което също се разтяга на склералния ръб и се прекъсва. Така засягането на неврофибрилите е от периферната към централна ретина [126]. Нерегулярно засягане на неврофибрилите се наблюдава при остър глаукомен пристъп.

1.6. RNFL при други заболявания

Изтъняването на RNFL е показател използван в рутинната практика за оценка на структурните изменения следствие на глаукомно засягане. Той е с доказани големи диагностични възможности, но не е патогномоничен белег на заболяването [123]. Изтъняването му се среща и при други очни и извъночни заболявания и затова е важна правилната интерпретация на показателя в съчетание с получените резултати от другите диагностични изследвания за глаукома.

Установено е изтъняване на RNFL при предна исхемична оптикопатия, токсоплазмен ретинохориоидит, друзи в ДЗН, продължителен папиледем, тумори на хипофизата [122]. Така също, че дебелината на RNFL и GCC при пациенти с множествена склероза и оптичен неврит в едното око е по-малка в сравнение с другото незасегнато око или здрави доброволци. [127]. Има проучвания, които съобщават за локализирани дефекти в дебелината на RNFL без видима промяна в НРП и екскавацията при диабетна ретинопатия и артериална хипертония. Demir и съавтори откриват сигнификантно изтъняване в дебелината на RNFL при пациенти с хронична бъбречна недостатъчност без диабет [128]. През 2015 г. Park и съавтори изследват дебелината на RNFL при 108 деца - 50 недоносени и 58 доносени. Откриват сигнификантна разлика в средната обща дебелина на RNFL, която е по-малка при недоносените деца [129].

Някои автори насочват вниманието си към това с какво промените в RNFL при глаукомна оптична невропатия се характеризират и отличават от другите споменати вече заболявания. Промяна в дебелината на слоевете на GCC и RNFL при глаукома е хронично и прогресивно, дължи се на скъсване и изчерпване на нервните влакна, което не се наблюдава при останалите оптични невропатии. Аркуатните дефекти в RNFL при глаукома се дължат на скъсване и отпадане на едноименните нервни влакна като предизвикват поява на локализирани врязани дефекти в НРП от страната на тяхната липса. Аркуатните неврофибрили се засягат по-рано, което обуславя появата на аркуатни дефекти в зрителното поле, които са и патогномонични за глаукома [126].

Образните методи за диагностика като OCT имат възможност да изобразяват и отразят промяната в дебелината на изследваните параметри в най-ранните препериметрични глаукомни изменения, но също така да проследяват промените им в прогресия при един и същи пациент.

Степента и размера на изтъняване на RNFL са установени хистологично различни при неглаукомни оптични атрофии като при множествена склероза и глаукома. Хистологично напреднал стадий на глаукома разкрива голяма екскавация и тотално лишан от нервни влакна зрителен нерв, докато отново хистологично при оптична атрофия резултат от множествена склероза не се установява липса на неврофибрили, а само смалени и атрофирани [126].

1.7. Образно-диагностични методи за оценка на RNFL

Red-free офталмоскопия

При индиректна офталмоскопия с високо пречупваща леща или директна офталмоскопия с бяла светлина не може да се отчете загубата на ретинни ганглийни клетки, а също така не могат да се открият дефекти в сноповете RNFL.

Качествена клинична оценка може да бъде направена чрез директна или индиректна red-free офталмоскопия със зелена светлина. RNFL се визуализира полесно с късовълновия спектър на видимата светлина, която не пенетрира и се отразява от повърхностните слоеве на ретината. Доброто онагледяване на RNFL изисква прозрачни очни среди и висок контраст (по-тъмно очно дъно), което прави оценката трудна при лица с катаракта и слаба пигментация на очното дъно. Наблюдава се като светли и фини стриации радиално около ДЗН насочващи се периферно.

Фотографски методи

Монохроматична фундус фотография - Синята светлина (450 nm) повишава видимостта на предните ретинни слоеве, които нормално са почти прозрачни на бяла

светлина. Синята светлина се абсорбира от ретиналния пигментен епител (РПЕ) и кръвоносните съдове на хориоидеята, осигурявайки тъмен фон, срещу който огледалните отражения и разсейването в предните ретинни слоеве повишава тяхната видимост (RNFL, membrana limitans interna, кисти, епиретинни мембрани). Зелената светлина (540 nm) също се абсорбира от кръв, но частично се отразява от РПЕ в сравнение със синята светлина и осигурява отличен контраст. Често се използва синьо-зелена светлина (490 nm). С червена светлина (615 nm), РПЕ изглежда по-светъл и прозрачен, разкривайки повече хориоидеята.

Стереофотография - Промените в ДЗН и RNFL с времето могат да бъдат оценени чрез стереофотография. Представлява един от най-широко използваните изобразяващи методи и се смята за златен стандарт по отношение документацията на глаукомната оптична невропатия [130, 131]. Получава се от две едновременно или последователно направени фотографии с една (ръчно преместване или чрез използване на подвижен адаптер) или две камери, които използват индиректния офталмоскопски принцип или чрез двойна призма [130, 132]. Предимствата на този метод включват възможността за документация на параметри като хеморагии, перипапиларна атрофия (ППА), бледост. Те позволяват на клинициста да определя влиянието на промените от глаукомния процес върху функционалните изследвания. Въпреки отличната документация, интерпретацията на образите остава субективна и зависи от опита и познанията на изследващия. Не предлага обективна система за тълкуване на получената информация за зрителния нерв. За добра визуализация и оптимален анализ от значение са прозрачност на средите и добър фокус при снимане [130, 131].

Нуждата от по-чувствителна, възпроизводима и точна детекция на глаукомните промени води до необходимостта за развитие на различни образни методи за количествена оценка на ДЗН и RNFL [130].

Сканираща лазерна полариметрия (SLP)

SLP е техника за оценка на RNFL [133, 134, 135] базираща се на бифреингентните свойства на микротубулите [136]. Бифреингентност означава двойна рефракция, а именно свойството на определена прозрачна среда с два различни индекса на пречупване да променя скоростта на част от компонентите на преминаващата през нея светлина. Условието за бифреингентност на една среда е изпълнено, когато структурните ѝ елементи са с диаметър по-малък от дължината на вълната (λ) на преминаващата през нея светлина. Микротубулите са цилиндрични структури с диаметър 25 nm участващи в изграждането на цитоскелета на аксоните [137]. Тъй като

при SLP източник на светлина е диоден лазер (near-infrared laser) с $\lambda \sim 785 \text{ nm}$, която е сигнификантно по-голяма от диаметъра на микротубулите, RNFL отговаря на условията за бирефрингентност [138]. Паралелната ориентация на микротубулите създава мрежа, която е причина за ретардация (забавяне) на една от компонентите на преминаващата поляризирана светлина. Степента на ретардация е право пропорционална на дебелината на RNFL [139]: по-големият брой микротубули обуславя по-голямата ретардация на поляризираната светлина. SLP дава индиректна оценка за дебелината на неврофибрилерния слой. Степента на ретардация често се определя в μm дебелина, на базата на коефициент на конверсия $0.67 \text{ nm}/\mu\text{m}$ [140]. Приблизително 1 градус на ретардация отговаря на $7.4 \mu\text{m}$ дебелина на RNFL [77].

Първият комерсиален SLP апарат е познат като Nerve Fiber Analyzer (NFA I) и става достъпен през 1993 година. Съществени промени в хард- и софтуера водят до появата на NFA II. Третото поколение е известно като GDx NFA, който включва нормативна база от данни [141]. За сведение, терминът GDx произлиза от: diagnosis (Dx) of glaucoma (G).

Две структури в преден очен сегмент - роговица и в по-малка степен леща също притежават бирефрингентни свойства [142-144]. За да се определи правилно ретардацията предизвикана от RNFL, тази от предния сегмент е необходимо да се неутрализира [145, 146]. NFA I, NFA II, и GDx NFA са оборудвани с фиксиран корнеален компенсатор (fixed corneal compensator - FCC), който елиминира фиксирана стойност на закъснението за общата популация [145]. Фиксираната бирефрингентна компенсация на предния очен сегмент се предполага, че е неадекватна при много пациенти и води до погрешни измервания на RNFL [145, 147]. Затова по-късно на пазара се появява GDx VCC с вариабилна корнеална компенсация (variable corneal compensation - VCC), с който се дава възможност за промяна на предносегментната бирефрингентност по ос и магнитуд.

Светлочервено и жълто представят области с дебел RNFL и нормално могат да се видят долу и горе от ДЗН. Синият цвят изобразява области с тънък RNFL и нормално може да се види назално и темпорално от ДЗН. Глаукомната оптична невропатия се характеризира с увеличаване на синия цвят в горна и долна посока от ДЗН [130].

Проучвания намират, че най-добра корелация с глаукома показва показателят NFI (Nerve Fiber Indicator). Той отразява глобалната загуба на нервни влакна и може да заема стойности от 1 до 100 (1-30 - норма, 31-50 - граничен резултат, >50 - високо подозрителни за глаукома). Независимо от това, стойностите му не могат да бъдат

определящи за поставяне на диагнозата глаукома, тъй като NFI може да бъде в границите на нормата при наличие само на локален дефект.

Конфокална сканираща лазерна офталмоскопия (CSLO)

Чрез CSLO се прави оценка на топографските параметри на ДЗН [148]. Тази техника е комерсиално достъпна чрез Heidelberg Retina Tomograph - HRT (Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Germany). Източник на светлина, с който се сканира областта на ДЗН, е монохроматичен диоден лазер с $\lambda=675$ nm. CSLO се базира на способността на отражение от ретиналната повърхност и представлява последователно измерване в поредни точки чрез изместване на конфокалната бленда, с която се регулира дълбочината на фокалната равнина, което позволява получаване на множество оптични срезове и формиране на триизмерно изображение [149]. Сканират се между 16 и 64 отделни двуизмерни конфокални равнини, за да се изгради топографска карта на ДЗН. Първата равнина се позиционира в задната част на стъкловидното тяло, а последната се разполага дълбоко в ДЗН. Референтната равнина (PP) се поставя автоматично на 50 μm назад от контура в областта на папиломакулното снопче. Тя се отбелязва като стандартна PP. Папиломакулното снопче е отправна точка, поради неговото сравнително късно повлияване в хода на глаукомния процес. Така поставената PP се доближава до местоположението на външната граница на RNFL. Структурите разположени над PP се означават като НРП, а тези които са под нея като екскавация. Чрез определяне на референтно ниво с използването и опита се установява, че колкото е по-тънък RNFL, толкова по-малко е придвижването на вътрешната лимитираща мембрана назад при прогресивните оптични невропатии [92]. Глаукомни промени в перипапиларната област като загубата на РПЕ - клетки и фоторецептори, изтъняване на хориоидеята не са от голямо значение за промяна в позицията на референтното ниво.

HRT е с възможности за изследване на над 20 топографски показателя на ДЗН. Показателят изследващ средната дебелина на RNFL е mean RNFL thickness, измерва се в μm от PP до контура на ДЗН [150].

1.8. Оптична Кохерентна Томография (ОСТ)

Въведение

ОСТ е основен, неинвазивен, безконтактен диагностичен метод в офталмологията, при който се генерират *in vivo* образи на биологични тъкани с по-малко от 10 μm аксиална резолюция с помощта на светлина [151].

Исторически данни

Предвид колко широко разпространена е днес ОСТ в клиничната работа на офталмологията е трудно човек да си представи, че развитието ѝ започва едва преди около 25 години.

През 1975 г. Green и съавтори [152] съобщават резултати от измерване дебелината на роговица при жаби и хора с нискокохерентна интерферометрия, а Fercher и Roth десет години по-късно през 1986 г. публикуват приложението ѝ при измерване аксиалната дължина на окото [153]. През 80-те години на ХХ век тя бива използвана и за измервания във фиброоптиката.

Първият ретинален образ с ОСТ е получен през 1989 г. в лабораторията на James G. Fujimoto от David Huang и Joel S. Schuman [154]. Първите демонстрации на ОСТ са представени от Huang и съавтори през 1991 г. Те използват прототип на ОСТ (инфрочервена светлина с $\lambda=800$ nm, скорост на сканиране 100 A-scan/sec, аксиална резолюция 15 μm) за изобразяване на човешка ретина и коронарна артерия *ex vivo*. Резолюцията на получените образи позволявали да се визуализират някои от слоевете на ретината, структурата на ДЗН и устройството на стената на коронарната артерия. Huang и неговите колеги имали възможност да сравнят ОСТ-образите с хистологични препарати от същите тъкани и да определят наблюдаваните от тях слоеве. [155].

През 1993 г. се получават първите ОСТ (аксиална резолюция 10 μm , $\lambda=800$ nm) *in vivo* образи на човешка ретина - макула и ДЗН от Fercher и Swanson [156, 157].

Първият прототип на ОСТ апарат е бил пренесен в New England Eye Center, University School of Medicine, Boston, Massachusetts и с него през 1994 г. се получават *in vivo* образи. През 1994 г. технологията се патентова, а патентът се дава на Carl Zeiss Meditec Inc. (Dublin, California). Първият комерсиално достъпен TD-ОСТ (time domain) апарат наречен ОСТ 1000 (ОСТ-1, апарат първо поколение) е на пазара в края на 1996 г. (трансверзална резолюция - 20 μm , аксиална - 10 μm). Технологията претърпява 2 итерации, което води до появата на ОСТ 2000 (ОСТ-2, апарат второ поколение) през 2000 г. И двата апарата достигат до 100 А-скана за около 1.2 sec, а след това се появява и ОСТ-3 (Stratus ОСТ, апарат трето поколение), който е достъпен през 2002 г. и формира един В-scan за 1.6 sec (400 A-scan/sec) [151, 158]. Повече от 7000 броя от тези апарати с в клиниките по целия свят. Някои от изследователите и клиницистите все още смятат ОСТ-3 за текущ „златен стандарт” при изображения на ретината [154].

Основно събитие в еволюцията на ОСТ-технологията е въвеждане на фотодетектори, които преобразуват интерферентната картина в честотен спектър

вместо отчитане на времето на закъснение на отразения лъч. Въвеждането на преобразуването на Фурие отвежда технологията от оригиналния метод TD-OCT в развитието на OCT апарати с висока скорост и резолюция на образа наречени: 1. Fourier domain OCT (FD-OCT); 2. Spectral domain OCT (SD-OCT); 3. High-speed high-resolution OCT (hsHR OCT). И трите наименования описват една и съща технология [154]. При TD-OCT се кодира локализацията на всяко отражение в информация за време отнасяща се до позицията на движещото се референтно огледало към позицията на отразения лъч [155, 156]. При SD-OCT цялата информация от единичен аксиален скан се усвоява не чрез оценка на времето на закъснение, а на честотния спектър от интерференцията между отразения лъч от стационарното, референтно огледало и този отразен от очните микроструктури. Този метод осигурява образ, който е носител на голяма информация, за по-кратък период от време [159-162]. Първите SD-OCT *in vivo* образи са представени от Wojtkowski и колеги през 2001 г. като описват техническите детайли и математиката, които стоят зад получаването им. Процесът на снимане бил бърз, но след това обработката на информацията и получаването на образа отнемало около 30 min правейки тази технология непрактична за ползване в клинични условия на този етап [163]. Една година по-късно същите автори представят *in vivo* образи на ирис, леща, макула и зрителен нерв. Времето за обработка на получената информация отнело само 20 sec и готовото изображение било с размери 500x500 px. С този ранен експериментален стадий SD-OCT е одобрен за клинично ползване от US Food and Drug Administration (FDA) през 2006 г. и става комерсиално достъпен [160].

През 1994 г. Izatt и колектив представят първите предносементни OCT образи на роговица и предната очна камера (резолюция - 10 μm , $\lambda=800\text{ nm}$). По-малката λ , в сравнение с тази, която се използва за изображения на ретината, позволила да се получи по-детайлна картина, но и по-слаба пенетрация [164].

Принцип на работа

OCT се основава на принципа на интерферометрията като за целта се използва нискокохерентна светлина в близкия инфрачервен спектър с $\lambda\sim 800\div 860\text{ nm}$. Оригиналният дизайн на OCT-системата е съставен от светлинния интерферометър на Michelson (Майкълсън, Микелсън), който изгражда оптичната част на апарата [151].

TD-OCT технологията често е сравнявана с ултразвуковата диагностика, поради това че техните основни принципи на работа са аналогични, но за разлика от ехографията, при която се използва звук, при OCT тази среда е светлина. И двата метода дават напречен срез на получения образ, чрез отчитане времето на закъснение, интензитета на отразената и обратно разсеяна светлина/звук. Резолюцията на образа

при ехография е около 150 μm при честота на звука от 10 MHz и ~ 50 до 20 μm при честота от 50 до 80 MHz, но с пенетрация само 3-4 mm, докато при TD-OCT резолюцията е 10 μm , а при SD-OCT е 4-6 μm [158]. Разликата в аксиалната резолюция на методите за изследване се дължи именно на различията в средите. Чрез използването на светлината се дава възможност за неконтактно изследване, докато ултразвукът изисква контакт и свързваща среда между трансмитера и тъканите. Общият принцип на двата метода за изследване, да използват отраженията за построяване на образи, е еднакъв, но начинът, по който образът се генерира е различен. Тъй като скоростта на светлината е в милион пъти по-голяма от тази на разпространение на звука, времето на закъснение от различните слоеве на изследваната тъкан не може да се отчете директно, поради това, че разликите ще бъдат в рамките на фемтосекунди, именно за определяне на времевата разлика се използва нискокохерентна интерферометрия [154, 155].

Източници на светлина, при които излъчването на фотоните е случайно, некоординирано, са некохерентни. Такива източници са (лампа с нажежаема жичка, люминесцентна лампа). Кохерентни или монохроматични източници са тези, които излъчват трептения с еднаква честота (лазери). Още преди 200 години Томас Юнг прави следния опит: светлина от монохроматичен източник се пропуска първо през един отвор (отвор-1), а след това през два успоредни (отвори-2 и 3) и осветява перпендикулярно разположен екран. На него се наблюдава т.нар. интерферентна картина с изразени минимума (интерферентни минимума - еднаква честота и противоположна фаза) на едни места и максимуми (интерферентни максимуми - еднаква честота и фаза) на други места.

Процесът на получаване на образ при OCT-технологията започва с широколъчен лазер или суперлюминисцентен диоден нискокохерентен източник на светлина с дължина на вълната $\sim 840\text{ nm}$ [154, 158]. Колкото по-голяма е ширината на лентата, толкова по-нискокохерентна е светлината. Полученият лъч достига устройство наречено beam splitter, което разделя лъча в две направления. Едната половина се насочва към референтно огледало, разположено на определено разстояние (референтен канал) с познато време на закъснение, а другата се насочва към изследваните тъкани, където се отразява и разсейва на границата на микроструктурите в ретината с различни оптични свойства, като генерира множество ехо сигнали с различно време на закъснение [151]. Отразената светлина от референтното огледало и изследваните тъкани се насочват отново към устройството beam splitter, обединяват се и интерферират помежду си, като създават интерферентна картина с наличие на

максимуми и минимуми, интензитетът на които се регистрира от фотодетектор. Позитивна интерференция се получава, когато отразеният лъч светлина от референтното огледало и ретината пристигат едновременно или в рамките на къса кохерентна дължина спрямо един друг [151, 154].

При time domain OCT (TD-OCT) за всеки аксиален скан позицията на референтното огледало се променя, за да може разстоянието от beam splitter-а до него да бъде еквивалентно на това от beam splitter-а до изследваните очни тъкани. Необходимостта огледалото да се придвижва постоянно за всеки скан значително забавя скоростта на сканиране до 400 скана/сек и времето на изследване.

Съществуват две техники за получаване на образ при fourier domain OCT (FD-OCT) - едната е spectral domain OCT (SD-OCT), а другата е swept source OCT (SS-OCT). При SD-OCT референтното огледало е фиксирано на определено разстояние и не променя своето местоположение по време на сканиране, а интерферентната картина с помощта на устройство - спектрометър се улавя и преобразува в честотни компоненти и всички те едновременно се регистрират от високоскоростно фоточувствително зареждащо устройство (charged-coupled device - CCD камера, която се състои от набор фотодетектори, всеки един от които чувствителен към определен честотен интервал) или линейно сканираща камера. След това те се обработват с помощта на математическа функция (трансформация на Фурие) за времево-честотен анализ. При SS-OCT се използва източник на светлина - лазер с дължина на вълната 1050 nm (излъчва последователно различни честоти) и високоскоростен фотодетектор, който улавя интерферентния сигнал като функция от времето вместо спектрометър и CCD устройство. Скоростта му на сканиране е два пъти по-голяма от тази на SD-OCT - 100 000 A-scans/sec с резолюция 1 μm . По данни до този момент с тази технология е достигната скорост на сканиране от 249 000 A-scans/sec [165]. По-голямата дължина на вълната е предпоставка за по-добра пенетрация и без артефакти от сенки (напр. от кръвоносните съдове). Това го прави по-просто устроен и евтин метод. Всяка уловена честота отговаря на определена дълбочина в изследваната тъкан [159-162]. Всички точки по протежение на един аксиален скан се получават едновременно, а това е довежда до по-голямата скорост на сканиране 26-50 000 A scan/sec. Тази висока скорост постига независимост на изследването от фините очни движения и ниско ниво на възникване на артефакти особено сред детската популация и слабо колаборативни пациенти. С разделителна способност от 4-6 μm и 27 000 - 50 000 A-scan/sec технологията позволява слоевете на ретината да се изобразяват *in vivo* по подобие на хистологичен срез.

Към днешна дата е доказано, че SD-OCT може да достигне скорост на сканиране до 312 500 A scans/sec, а SS-OCT 249 000 A scans/sec [165-167].

Измерване на аксиалната дължина в определена точка се нарича A-scan, множество от аксиални сканове, направени в съседни точки една до друга в трансверзална посока образуват един линеен скан (B-scan), а при обединяването на паралелни B-scans се създава 3D-scan. Аналогични на A-scans са T-scans, но те са в трансверзална посока. Обединението на множество от T-scans образуват триизмерен образ. B-scan може да се получи също от редица T-scans, а от B-scan да се получи C-scan, т.нар. трансверзална OCT (en face OCT). [151].

Образите могат да бъдат представени в сиви или цветни нюанси. Сивата скала дава по-интуитивна интерпретация и прави по-малките детайли видими. Компютърът има, обаче, само 8 bit (256 нива) на резолюцията в сиво, а окото на наблюдаващия е ограничено в разпознаването на степените сиво. Цветовете могат да бъдат представени в повече от 24 bit, а това са милиони цветове, които окото може да различи. OCT използва нереални цветове за построяване на изображенията и демаркация на тъканните структури [154].

Източникът на нискокохерентната светлина определя аксиалната резолюция. Тя е 10 μ за OCT1 и OCT2, около 10 μ за OCT3, а за SD-OCT е 4-6 μ . Трансверзалната резолюция зависи от диаметъра на изследвания лъч и е 20 μ . [151].

OCT е ограничена до 1-2 mm дълбочина през биологичните тъкани, поради това, че при по-голяма дълбочина количеството светлина става малко за да бъде засечена [151]. Това е едно от недостатъците на технологията.

Изследване с OCT не изисква предварителна или последваща обработка на биологичните тъкани, образите се получават при липса на контакт през прозрачно стъкло или мембрана. Източникът на светлина (лазер) е с ниска мощност - използва се близка инфрачервена светлина, при която липсва вредно облъчване на биологичните тъкани [151].

Предимства на SD-OCT пред TD-OCT е по-голямата скорост на сканиране и изследване, по-добрата резолюция на получените образи, така също и възможността за получаване на топографска информация за GCC и RNFL и ДЗН [168].

OCT в офталмологията

На този етап офталмологията остава доминираща област от медицината, където възможностите на OCT-технологията са най-добре пригодени за нуждите на диагностиката и проследяването на редица очни заболявания. Основна причина за

това е прозрачността и високата пропускливост на очните среди. Както и интерферометричната чувствителност и прецизност на ОСТ, които пасват много добре на близките оптични свойства на много офталмологични структури [169]. Затова ОСТ се превърна в рутинно използван диагностичен метод особено на задния сегмент на окото. По-малко внимание се обръща все още на предносегментната ОСТ, а тя е от полза в диагностицирането на патология на роговицата и структурни промени в предната камера и ириса [170].

Независимо от обещаващите и клинично значими резултати се установява, че аксиалната резолюция и характеристиките на стандартната офталмологична ОСТ технология може да бъде сигнификантно подобрена. Много от ранните патологични промени асоциирани със заболявания са все още под границата на резолюцията за стандартната ОСТ. Интравитреални структури като ганглийните клетки, РПЕ и фоторецепторния слой често са засегнати в ранните етапи на очни заболявания, но това не може да бъде установено със стандартната ОСТ. Проучват се нови светлинни източници, които да подобрят аксиалната резолюция [169].

При анализа на получените образи се използва автоматична сегментираща техника, с която се отдиференцират ретинните слоеве един от друг. Тя е важна за измерване и получаване на количествени стойности, които анализират дебелината на тъканните слоеве (дебелина на ретината в макулата, дебелина на RNFL перипапиларно, дебелина на GCC) [171, 172].

Всички ОСТ-апарати приемат за вътрешна граница на ретината *membrana limitans interna* и започват измерването на ретинната дебелина от нея, но съществува разлика в приетата за външна граница на ретината, а оттам и в измерената дебелина с различните апарати [173]. *Cirrus HD-OCT* [Carl Zeiss Meditec, Inc.] и *RTVue-100 OCT* [Optovue, Inc.] измерват ретиналната дебелина до нивото на РПЕ, докато *OCT 3* [Carl Zeiss Meditec, Inc.] - до връзката между вътрешните и външните сегменти на фоторецепторите, а *Topcon 3D OCT 2000* [Topcon, Japan] - до границата между пигментния епител на ретината и върховете на външните сегменти на фоторецепторите.

Скоросни проучвания установяват също, че *Cirrus SD-OCT* (27 000 A-scans/sec; 5 μm аксиална резолюция) измерва дебелината на RNFL сигнификантно по-тънка от тази на *Stratus TD-OCT* [174, 175]. За *RTVue-100 OCT* (26 000 A-scans/sec; 5 μm аксиална резолюция) се посочва, че установените стойности на RNFL корелират силно с тези на *Stratus*, но са по-големи както при здрави така и при глаукомни очи [176]. Средната дебелина на RNFL е сигнификантно различна от *Stratus* за всичките

три SD-OCT апарата. Всеки един от тях има уникална и независима връзка със *Stratus*. Измерените с *RTVue* стойности на дебелината са средно с 2.8 μm по-големи от тези на *Stratus*, докато тези със *Spectralis* (27 000 A-scans/sec; 5 μm аксиална резолюция) и *Cirrus* са по-малки с подчертано различни стойности - 3.4 μm и 11.3 μm съответно [177, 178].

Табл. 1.8.1. Характеристики на най-комерсиално разпространените OCT апарати.

TD-OCT/SD-OCT	Описание
<u>Stratus OCT</u> (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA)	TD-OCT, 400 A-scans/sec., аксиална резолюция - 10 μm , 2D - образ, ONH-, RNFL-анализ, Guided Progression Analysis (GPA);
<u>RTVue-100</u> (Optovue, Fremont, CA)	SD-OCT, 26 000 A-scans/sec., аксиална резолюция - 5 μm ; 3D - образ; en face; Преден сегмент, RNFL, ONH, GCC, прогресия; Най-голяма нормативна база от данни;
<u>Cirrus HD-OCT</u> (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA)	SD-OCT, 27 000 A-scans/sec., аксиална резолюция - 5 μm ; 3D - образ; en face; преден сегмент, ONH, RNFL, Macular Change Analysis, прогресия;
<u>Spectralis OCT</u> (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany)	High speed SD-OCT; 40 000/A-scans/sec.; Аксиална резолюция - 4 μm ; 3D - образ; eye tracking, infrared and red free images; ФА, ICG ангиография, FAF; преден сегмент, Volume scan comparison, Posterior Pole Asymmetry Analysis;
<u>Topcon 3D OCT 2000+</u> (Topcon, Tokyo, Japan)	SD-OCT, 50 000 A-scans/sec.; аксиална резолюция - 5 μm ; пенетрация до 2.3 mm, 16.5 MP камера; Фундус камера, FAF, ФА, ONH, RNFL, GCL, Trend Analysis; преден сегмент;
<u>SOCT Copernicus</u> (Optopol, Zawiercie, Poland)	SD-OCT, 27 000 A-scans/sec.; прогресия, ONH, асиметрия, RNFL;
<u>SOCT Copernicus HR</u>	SD-OCT; 52 000 A-scans/sec.; аксиална резолюция - 3 μm ;
<u>Bioptigen SD-OCT</u> (Biopten, Research Triangle Park, NC)	SD-OCT, 20 000 A-scans/sec., аксиална резолюция - 4 μm ; 3D, en face; преден сегмент, сегментация, Доплер
<u>Optos OCT SLO</u> (Optos, Marlborough, MA, USA)	SD-OCT, 27 000 A-scans/sec.; аксиална резолюция - 6 μm ; микропериметър, ONH, RNFL;

Има данни за разлика в установената дебелина на перипапиларния RNFL (pRNFL) при две различни програми от един OCT-апарат (*Topcon 3D OCT 2000*). Измерените и средни стойности за тоталната и сегментна дебелина на pRNFL са по-големи при Circle протокола в сравнение с 3D Disc протокола. Тази разлика може да намери обяснение ако се сравняват програмите, оценяващи дебелината на pRNFL, на два различни OCT апарата като *Topcon 3D OCT* и *RTVue*, при които кръговите сканове са с различен диаметър - 3.4 mm при *Topcon* и 3.46 mm при *RTVue*. Известно е, че колкото по-отдалечен е кръговият скан от границите на ДЗН, толкова по-малка е дебелината

на измерения RNFL. При *Topcon OCT* кръговите сканове и в двете програми за изследване на pRNFL са с диаметър 3.4 mm [179].

Освен това при автоматичен режим на работа за определяне контура на зрителния нерв при SD-OCT се използва края на Бруховата мембрана, докато при TD-OCT - края на РПЕ [180]. Всички OCT компютърни алгоритми правят грешки (грешки на сегментацията), които нормално биват пренебрегнати, ако сгрешеният участък е малък [168].

Ето защо, резултатите от изследванията трябва да се сравняват със стойности получени при измерване от същия OCT апарат както и проследяването на пациентите да се извършва на един и същ апарат и програма. На **таблица 1.8.1** са показани някои от характеристиките на най-използваните и разпространени OCT апарати по целия свят.

OCT при глаукома

Ганглийно-клетъчен комплекс (GCC) - В макулната зона се съдържат около половината от всички ганглийни клетки в ретината, разположени са перифовеоларно в 4 до 6 слоя, а над тях се разполага много тънък RNFL [181]. Все още не могат да бъдат *in vivo* преброени при хора, но милиони ганглийни клетки участват в изграждането на зрителния нерв като само в макулната зона се съдържат над 50% от тях. Тъй като макулата е областта от ретината, където гъстотата на ганглийни клетки е най-голяма, именно там е основателно да се търсят най-ранните промени при глаукома. В макулната зона, RNFL е много тънък. Сканове на GCC отразяват много по-точно състоянието на макулата и в този смисъл те могат по-рано да разкрият нейните начални глаукомни изменения. Това налага изследването на GCC и RNFL да се извършва винаги съвместно с цел подобряване на диагностичните възможности.

За първи път Zeimer и съавтори описват намаляването на цялата макулна дебелина и обем при глаукома през 1998 г. използвайки Retinal Thickness Analyzer (Talia Technology Ltd., Neve-Plan, Israel) като установяват, че структурните изменения корелират добре с наличните периметрични дефекти [182]. Не едно проучване установява, че диагностичния потенциал при измерване на цялата макулна дебелина с TD-OCT се определя като по-слаб от този на RNFL [183-187].

От направени до момента проучвания се установява, че вътрешните три слоя на ретината: неврофибрилерен слой (аксони), слой на ганглийните клетки (тела) и вътрешен плексиформен слой (дендрити) са най-силно засегнати, тъй като при глаукома настъпва апоптоза на ганглийни клетки, което в последствие води до намаляване на дебелината на GCC и RNFL. Голямата концентрация на ганглийните

клетки в макулата е предпоставка тази структура да бъде подходяща за изследване и откриване на ранни промени [188]. В периферната ретина настъпват вариации в броя на ганглийните клетки и те са значително по-големи. За подобряване на глаукомната диагностика, измерванията се насочват върху вътрешните слоеве на ретината и респективно в макулната зона [189].

През 2009 г. Wang и съавтори установяват, че дебелината на вътрешните слоеве на макулата - mRNFL и GCL+ (слой на ганглийните клетки + вътрешен плексиформен слой) са по-тънки при пациенти с глаукома в сравнение със здрави контроли, докато вътрешният нуклеарен слой и слой на фоторецепторите имали подобна дебелина при здрави контроли и глаукомни очи [190].

На фона на засилващите се доказателства, че ранните глаукомни увреждания засягат макулата, Hood и съавтори използват FD-OCT за да докажат, че ретинните ганглийни клетки и вътрешните слоеве на макулата преференциално претърпяват много по-големи степени на изтъняване в долна половина на ретината при глаукомни пациенти. Това откритие е сигнификантно като тези промени могат да липсват при стандартните протоколи за изследване на зрителното поле като 24-2 [191].

За пръв път д-р Robert Ritch оприличава първоначалните макулни дефекти в зрителното поле на запетая или непълна запетая. Локализацията на изтъняване на RNFL обхваща долната част на темпорален квадрант и темпоралната част на долен квадрант в рамките на централните 10° на зрителното поле. Този регион се нарича „макулна уязвима зона” на ДЗН. Малките аркуатни дефекти в горното макулно зрително поле са асоциирани с аркуатни дефекти в RNFL, които са локализиращи основно в макулната уязвима зона на диска. Това е основа за разбиране природата на макулното увреждане. Макулната уязвима зона е част от относително дебелия аркуатен RNFL, който е част от долен полюс на ДЗН, където е показано най-голямо засягане. Горен и долен полюс на ДЗН се засяга най-много и е по-чувствителна мярка за глаукомна увреда, докато темпоралния и назален отдел са относително по-слабо засегнати. Темпоралният RNFL показва по-слабо засягане ако глаукомата не е напреднала [191].

RNFL - В здрави очи, дебелината на rRNFL има уникална форма с две върхни точки (горе и долу) и два синклинала (назално и темпорално) [192]. Когато се изследва със SLP, CSLO или OCT, графичното му представяне най-често е в следния ред: темпорален (T) - горен (S) - назален (N) - долен (I) - темпорален (T) сектор (TSNIT графика) и класически се описва с модел на „двойна гърбица” [193]. Конфигурацията на RNFL корелира с физиологичната форма на НПП, който е с най-голяма дебелина в

долния полюс на диска, последван от горен, назален и накрая темпорален полюс (т.нар. ISNT правило), а така също кореспондира и с регионалната вариация във видимостта на RNFL - често неврофибрилите се наблюдават по-ясно в долнотемпорален в сравнение с горнотемпорален регион на ДЗН [58, 119, 194]. Това правило е извън границите на нормата при наличие на глаукомен процес като в редица проучвания се стига до извода, че нарушенията му т.е. структурните промени в конфигурацията на RNFL корелират във висока степен с промените в ДЗН и зрителното поле [83, 185, 195, 196].

Повечето доклади изследващи промените - структурни и функционални при глаукома установяват, че в по-голям процент от случаите измененията в ДЗН предшестват тези в зрителното поле [197, 198]. Изтъняването на RNFL е чувствителен индикатор за степен на глаукомна увреда. Голям брой проучвания доказват, че първите структурни изменения при глаукома са свързани с изтънявания и дефекти в RNFL, а на по-късен етап се развиват и характерните промени в ДЗН [121, 199, 200]. RNFL се е утвърдил като добър диагностичен показател за глаукома, както при появата на локални, така и при дифузни дефекти.

OCT и red-free фотографският метод различават здрави от глаукомно болни индивиди, но и двата метода не са в състояние да установят сигнификантна разлика между здрави, суспектни за глаукома и очна хипертензия [201, 202].

Направени сравнителни проучвания за дебелината на RNFL с TD-OCT (Stratus) и SD-OCT (Cirrus, RTVue) при пациенти с глаукома показват статистически значима разлика в дебелината на неврофибрилерния слой в полза на SD-OCT. Авторите обясняват получените резултати с възможността по-голямата резолюция на SD-OCT в сравнение с TD-OCT да е причина за долавяне и добавяне на допълнителна тъкан, която да допринесе за по-голямата дебелина на RNFL [203, 204]. Диагностичният потенциал на RNFL се определя като по-голям при SD-OCT, както и по-добрата възпроизводимост и по-ниската вариабилност, така също и по-добрата резолюция дава възможност за откриване на по-малки промени в дебелината при проследяване.

През 1996 г. Schuman и съавтори установяват, че циркумпапиларния В-скан с диаметър 3.4 mm за измерване дебелината на RNFL с OCT е най-прецизен по отношение на възпроизводимост [196]. Оттогава всички проучвания използват кръгови сканове с описания диаметър, независимо от големината на ДЗН. Установено е, че размерите на диска показват голяма вариабилност в здрави очи - площта на ДЗН може да варира от $0.8 \div 6.0 \text{ mm}^2$ [118], а така също и други параметри на ДЗН - вертикален диаметър ($0.96 \div 2.91 \text{ mm}$), хоризонтален диаметър ($0.91 \div 2.61 \text{ mm}$), площ

на НРП ($0.8 \div 4.66 \text{ mm}^2$) [58]. Използвайки един и същ фиксиран диаметър на циркулярния скан във всички очи ще доведе до измерване на RNFL на различно разстояние от границите на папилата. От хистологични проучвания е установено, че дебелината на RNFL намалява с отдалечаване разстоянието от границите на ДЗН [205]. Източник на грешка при измерването на RNFL при здрави и глаукомно болни освен размерите на диска, може да бъде и субективното центриране на кръговия скан около ДЗН. Затова при изследване за глаукома и проследяване прогресията на глаукомните изменения се препоръчва еднакъв OCT-апарат, едни и същи програми за диагностика и проследяване, както и избягване на субективната намеса на изследващия.

ДЗН - Jeoung и съавтори сравняват диагностичните възможности на GCC, RNFL и параметрите на ДЗН при 306 глаукомни пациента с Cirrus HD-OCT и не откриват сигнификантна разлика в площта под кривата, като стигат до заключението, че всеки от изброените параметри имат сравними диагностични възможности при глаукома [206]. Много от публикациите, обаче, определят диагностичните възможности на параметрите на ДЗН като по-ниски в сравнение с RNFL и GCC [185, 207-209]. Работи се в посока оптимизация на възможностите за точно определяне границите на ДЗН.

Предимства и недостатъци на метода

Предимствата на OCT технологията за двете страни - лекар и пациент могат да се обобщят по следния начин:

- Неинвазивна, безконтактна, бърза и безопасна техника
- Липсват големи изисквания към пациентите
- Възможност на SD-OCT да създава триизмерни образи, като създава подетайлна картина на изследваната тъкан
- Възможност за пред-, интра- и постоперативна оценка на състоянието и коректна прогноза
- Възможност за диагностика на ранни промени
- Възможност за количествена и качествена оценка на изследваните параметри в преден и заден очен сегмент.

Недостатъците на метода могат да се обобщят по следния начин:

- Липса на нормативна база данни за детската популация (лица под 18-19 годишна възраст) и редица други технически и хардуерни неудобства при изследване на деца; липса на нормативна база данни за по-възрастните индивиди (напр. >85 години за апарата Topcon)

- Ограничена пенетрация
- Трудно или неосъществимо изследване при намалена прозрачност или липсваща прозрачност на очните среди, големи отклонения в рефракцията, ниска зрителна острота с трудна или липсваща фиксация, много тясна зеница
- Съпътстваща патология, която затруднява оценката на глаукомните изменения като макулна дегенерация, оток на макулата, епиретинна мембрана, миопичен конус
- Редица неврологични заболявания, които засягат зрителния нерв и трябва да се имат предвид в диференциално-диагностичен план.

1.9. Влияние на ендотелините в патогенезата на глаукома

Ендотелин-1 (ЕТ-1) представлява една от трите изоформи на ендотелина и е един от най-мощните познати вазоконстриктори [210]. Открит е от Yanagisawa и съавтори през 1988 г. и за първи път е изолиран, описан и клониран от свински аортни ендотелни клетки [211].

Двадесет и един аминокиселинният пептид произлиза от съдовите ендотелни клетки с помощта на ендотелин-конвертиращ ензим (ЕСЕ). ЕТ-1 въздейства върху таргетните клетки чрез свързването си към два рецептора - тип А (ЕТ_А) и тип В (ЕТ_В) [212]. Въпреки, че съдовите ендотелни клетки са основният източник на ендотелин, разнообразие от други клетъчни типове участват в продукцията му като ендотела в реналните тубули, гломерулния мезангиум, сърдечните миоцити, глия, хипофиза, макрофаги, мастни клетки и др. [213]. Съществуват два типа ЕСЕ: ЕСЕ-1 и ЕСЕ-2. ЕСЕ-1 е мембранно свързана металопротеиназа, която отцепва както интра-, така и екстра-проендотелин-1 в основна рН среда и структурно се отнася към неутралните ендопептидази. ЕСЕ-2 има киселинен рН оптимум и действа като интрацелуларен ензим [214].

ЕТ_А-рецептор се експресира върху гладкомускулните клетки в съдовете и предизвиква контракция на тези клетки чрез инфлукс на калциеви йони с последваща вазоконстрикция. Различават се два субтипа на ЕТ_В-рецептора - ЕТ_{В1}, който се експресира върху ендотелните клетки в съдовете и медира директна вазодилатация, чрез освобождаване на NO с преминаването му в гладкомускулните клетки и последваща релаксация; другият субтип е ЕТ_{В2}, той се разполага върху гладкомускулните клетки и медира директна вазоконстрикция. Като допълнение към

вазоактивната функция на ET_B-рецептор, стана ясно, че той притежава важна роля за клирънс на ET-1 в плазмата [212, 215].

Белите дробове и бъбреците са основните отговорни органи за изчистването на ET-1 от кръвния ток и при наличие на заболявания свързани с тях, плазмените нива на хормона се повишават. Освен локалните паракринни функции в регулацията на съдовия тонус, ET-1 има отношение за развитие на атеросклероза и заболявания на сърдечносъдовата система [214, 216]. Плазмените концентрации на ET-1 търпят динамика при редица надбъбречни заболявания като първичен алдостеронизъм, феохромоцитом, хипокортицизъм и хиперкортицизъм [217].

Известно е също така, че ET-1 има роля в патогенезата на острата бъбречна недостатъчност (ОБН) след ренална исхемия. Установени са повишени стойности на ET-1 при ОБН, артериална хипертония, сърдечна недостатъчност, исхемична болест на сърцето, ангина на Prinzmetal, белодробна хипертония, болест на Рейно, субарахноидна хеморагия, церебрален вазоспазъм, мигрена, диабет [214, 218].

Нормално ET-1 се среща и в окото, където се продуцира от непигментния цилиарен епител и се освобождава във вътреочната течност (ВОТ) [219]. Рецепторите за него са експресирани върху различни структури като ирис, цилиарен мускул, трабекуларна мрежа (ТМ), съдова мрежа, астроцитите в ретината и зрителния нерв, които определят физиологичната роля на ET-1 в окото [220-222].

Счита се също така, че ET-1 има отношение в патогенезата на глаукома, след като бяха установени повишени стойности в преднокамерната течност при пациенти с глаукома [223]. ET-1 се свързва със смъртта на ретинните ганглийни клетки. Доказано, е че интравитреалната апликация на ET-1 при плъхове има директен ефект върху антеро- и ретроградния аксонален транспорт в ганглийните клетки и води до дозо- и времезависимата им смърт [224-226]. Тези ефекти отчасти могат да се обяснят с предизвиканата вазоконстрикция в микросъдовете на ДЗН и ретината, което е доказано в няколко проучвания, при които успешно се провокира уголемяване на екскавацията и увреда на ДЗН чрез ET-1 индуцирана исхемия при различни модели животни [227, 228]. Друг механизъм, по който ET-1 уврежда зрителния нерв, е предложен от Prasanna et al., при който се посочва повишена пролиферация на астроцитите изолирани от ДЗН при експозиция на ET-1. Активиране на глия и фиброза допринасят за хипоперфузия, а това прави ДЗН по-предразположен към въздействията на повишеното ВОТ [221, 229].

Системната ендотелна дисфункция с повишени плазмени концентрации на ET-1 също се предполага, че оказва негативно влияние върху очната перфузия и се счита за

потенциален рисков фактор за NTG. Както е показано от Emre et al. при малка група пациенти, повишените концентрации на ET-1 в плазмата може да се асоциират с прогресия на промените в зрителното поле независимо от нормалните или нормализираните стойности на ВОН [230].

Област на противоречие представлява ролята на ET-1 във физиологията и патофизиологията при контрола върху ВОН. Индиректни доказателства сочат, че при експерименти в клетъчни култури и нативна говежда тъкан, ТМ проявява подобно на гладките мускули контрактилитет. ET-1 е в състояние да предизвика контрактилност на ТМ и да намали интертрабекуларното пространство с повишаване резистентността на оттичане на ВОТ. От друга страна ET-1 предизвиква също и контракция на цилиарния мускул, опън върху ТМ и понижаване резистентността на оттока на ВОТ [231]. Откакто бе установено, че ТМ и цилиарното тяло експресират и двата рецепторни субтипа за ET-1, и присъствието на ET-1 във ВОТ се предполага, че ET-1 оказва влияние върху ВОН посредством афектиране баланса между функционално антагонистичните контрактилни сили на тези тъкани. Предполага се още механизъм за оказване контрол на ВОН, а именно за инхибиране на Na^+/K^+ - АТР-аза в клетките на непигментния цилиарен епител в култура. *In vivo* това би могло да означава понижена продукция на ВОТ, а оттам и понижаване на ВОН [210].

1.10. Изводи от литературния обзор

В заключение на литературния обзор могат да се направят следните обобщени изводи:

1. Установена е тенденция за нарастване броя на засегнатите от глаукома лица в световен мащаб с около 20 млн. и през 2020 г. се очаква той да бъде ~ 80 млн. души, като от тях с откритоъгълна глаукома се предполага че ще достигнат ~ 60 млн., а с двустранна слепота ще нараснат до 11 млн. Голяма част от пациентите с глаукома остават реално недиагностицирани и нелекувани, а част от пациентите без глаукома са неправилно диагностицирани и лекувани за такава.

Глаукомата продължава да се разраства и причините за това могат да се търсят в различни насоки като: увеличаване броя на застаряващото население, насочени усилия за развитие и усъвършенстване на методиките за ранна диагностика на заболяването и липса на медицинска помощ в страните от третия свят.

2. Поради необратимостта и прогресиращия ход на протичане до степен на невъзвратима слепота редица здравни организации като СЗО, EGS и много други са насочили своите усилията в съставяне на алгоритми за ранна диагностика и

адекватно провеждана терапия с цел предотвратяване на функционални загуби в зрителното поле с последваща едностранна/двустранна слепота.

3. Стандартната автоматична периметрия (SAP) е златен стандарт в диагностиката на глаукомните изменения, но е известно, че в повечето случаи структурните изменения в GCC, RNFL и ДЗН предхождат началните изменения в зрителното поле.
4. Навлизането в клиничната практика на образно-диагностичните методи за оценка на структурните промени неизменно имат предимство за откриване на началните глаукомни изменения. Такъв метод е OCT с възможност за изследване слоевете на ретината и по-конкретно ганглийните клетки и техните аксони, които са директно въввлечени в патологичния процес.
5. Един от показателите с доказана висока диагностична възможност е pRNFL. Механизмът, по който дебелината на този слой намалява е единствен по своята същност за глаукома чрез опъване, разкъсване на неврофибрилите и тяхното отпадане, което не се установява при другите неглаукомни оптични невропатии (атрофия и свиване на неврофибрилите, но без промяна в техния брой).
6. Правилната интерпретация на получените резултати за дебелината на RNFL е важен елемент от цялостния подход при поставяне на диагнозата глаукома.

ГЛАВА II - ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛТА на настоящия дисертационен труд е да се определят диагностичните възможности на ретинния неврофибрилерен слой (pRNFL и mRNFL) за препериметрична и начална ПОЪГ, както и приложението му при развит и напреднал стадий на заболяването с оптична кохерентна томография (Topcon 3D OCT).

За постигане на гореизложената цел са формулирани следните **ЗАДАЧИ**:

1. Да се сравнят по групи средните аритметични стойности на pRNFL (Sup pRNFL, Inf pRNFL, Nas pRNFL, Temp pRNFL, Total pRNFL) и mRNFL (Sup mRNFL, Inf mRNFL, Total mRNFL) получени от протоколите Circle и Glaucoma Analysis - Macula при контроли, пациенти с ОХ, препериметрична и периметрична глаукома (начален, средноразвит и напреднал стадий). (*Дисперсионен анализ*)
2. Да се определи наличие и степен на корелация на mRNFL и pRNFL с промените в зрителното поле - MD и PSD глобални индекси. (*Корелационен анализ*)
3. Да се определи наличие и степен на корелация между pRNFL и mRNFL и да се анализират най-значимите корелационни връзки. (*Корелационен анализ*)
4. Да се определи чувствителност, специфичност и диагностични възможности на mRNFL и pRNFL във всяка изследвана група. (*ROC анализ, ROC криви, AUROC, Дисперсионен анализ*)
5. Да се сравнят средните аритметични стойности на плазмените концентрации на ET-1 и неговия рецептор ET_A при здрави доброволци и пациенти с ПОЪГ (начален и напреднал стадий) и да се определи степен на корелация с дебелината на pRNFL и mRNFL. (*Дисперсионен анализ, корелационен анализ*)
6. Да се създаде приложна система, която да дава възможност за анализ и проследяване на пациенти с ПОЪГ на базата на структурните промени в RNFL с Topcon 3D OCT.

ГЛАВА III - МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

3.1. Клиничен материал

Всички лица включени в дисертационния труд са преминали през *I-во глаукомно отделение към Клиника по Очни болести на УМБАЛ „Александровска” ЕАД, гр. София* за период от 1 година и 3 месеца (01.2015 г. - 03.2016 г.).

Общият брой на очите в настоящото клинично проучване е 483, а на доброволците и пациентите - 414 на възраст от 45 до 84 години, от които 132 са мъже, а 282 - жени. Пациентите се разпределиха в шест групи както следва: една контролна група от здрави доброволци, една група от пациенти в състояние на ОХ, една група от пациенти с перепериметрична глаукома (ППГ) и три групи от пациенти с периметрично доказана глаукома, обособени в зависимост от степента на засягане според класификацията на Hodapp-Parrish-Anderson като групи на начална, средноразвита и напреднала глаукома.

I група (контролна) - 150 очи, 150 здрави доброволци

II група (ОХ) - 50 очи, 31 пациента

III група (ППГ) - 62 очи, 49 пациента

IV група (Начална глаукома) - 96 очи, 80 пациента

V група (Средноразвита глаукома) - 40 очи, 34 пациента

VI група (Напреднала глаукома) - 85 очи, 70 пациента

За изпълнението на задачите и постигането на зададената цел лицата, които взеха участие в клиничното проучване бяха определени като подходящи на базата на следните включващи и изключващи критерии, които отговарят на изискванията на *European Glaucoma Society - EGS (4th Edition, 2014)*:

Включващи критерии за здравите лица

- Липса на вродена/придобита очна патология (изкл. начална старческа катаракта) и общи заболявания с прием на лекарства влияещи на зрението и очите
- Липса на фамилна анамнеза и други рискови фактори за развитие на глаукома
- Зрителна острота 1.0 (без или с корекция)

- Рефракционна грешка не повече от ± 4.00 dsph и ± 1.00 dcyl
- ВОН под 21 mmHg на двете очи, преизчислено според стойността на ССТ, проследено с дневна крива и измервано с Goldmann тонометър
- Отворен ПКЪ III-IV степен по класификацията на Shaffer
- Липса на патологични промени в очните дъна - витален ДЗН, без данни за нарушено ISNT правило, $E < 0.5$ PD и междуочна асиметрия в $E \leq 0.2$ PD
- Нормална компютърна периметрия (Glaucoma Hemifield Test - within normal limits, $p > 0.05$ за MD и PSD)

Включващи критерии за групата на ОХ

- Липса на друга очна патология (изкл. начална старческа катаракта) и общи заболявания с прием на лекарства влияещи на зрението и очите
- Зрителна острота 1.0 (без или с корекция)
- Рефракционна грешка не повече от ± 4.00 dsph и ± 1.00 dcyl
- Трайно повишено ВОН над 21 mmHg на двете очи без лечение и преизчислено според стойността на ССТ, проследено с дневна крива и измервано с Goldmann тонометър
- Отворен ПКЪ III-IV степен по класификацията на Shaffer
- Липса на патологични промени в очните дъна - витален ДЗН, без данни за нарушено ISNT правило, $E < 0.5$ PD и междуочна асиметрия в $E \leq 0.2$ PD
- Нормална компютърна периметрия (Glaucoma Hemifield Test - within normal limits, $p > 0.05$ за MD и PSD)

Включващи критерии за групата на ППГ

- Зрителна острота 1.0 (без или с корекция)
- Рефракционна грешка не повече от ± 4.00 dsph и ± 1.00 dcyl
- Трайно повишено ВОН над 21 mmHg на двете очи без лечение и преизчислено според стойността на ССТ, проследено с дневна крива и измервано с Goldmann тонометър
- Отворен ПКЪ III-IV степен по класификацията на Shaffer
- Фундоскопска находка за глаукомни промени: междуочна асиметрия в $E \geq 0.2$ PD, вертикално елонгирана екскавация, изтъняване на НРП и нарушаване правилото ISNT, дефекти в RNFL (дифузни, локални)
- Нормална компютърна периметрия (Glaucoma Hemifield Test - within normal limits, $p > 0.05$ за MD и PSD)

Включващи критерии за групите на периметрична глаукома

- Зрителна острота 1.0 (без или с корекция) за стадий на начална глаукома и ≥ 0.2 за стадий на средноразвита и напреднала глаукома
- Рефракционна грешка не повече от ± 4.00 dsph и ± 1.00 dcyl
- Трайно повишено ВОН над 21 mmHg на двете очи без лечение и преизчислено според стойността на ССТ, проследено с дневна крива и измервано с Goldmann тонометър
- Отворен ПКЪ III-IV степен по класификацията на Shaffer
- Фундоскопска находка за глаукомни промени: междуочна асиметрия в $E \geq 0.2$ PD, вертикално елонгирана екскавация, изтъняване на НРП и нарушаване правилото ISNT, дефекти в RNFL (дифузни, локални), хеморагии на ДЗН
- Типични за глаукома периметрични дефекти в зрителното поле (ЗП) кореспондиращи с тези в ДЗН.

Пациентите с периметрична глаукома се разпределиха в три групи (начална, средноразвита и напреднала) в зависимост от тежестта на дефекта като се взе предвид клиничната класификация на Hodapp-Parrish-Anderson препоръчана от EGS.

Изключващи критерии

- Максимално коригирана зрителна острота ≤ 0.2
- Възраст под 45 г. и над 85 г.
- Рефракционна грешка извън посочените граници ± 4.00 dsph и ± 1.00 dcyl
- NTG, закритоъгълна, вторична глаукома
- Патология на макулата, диабетна ретинопатия, неглаукомна оптиконеуропатия
- Предшестваща хирургична интервенция (изкл. катарактна екстракция с имплантация на IOL)
- Съпътстваща неврологична патология, която може да повлияе на находката в ЗП и да затрудни оценката на глаукомните изменения

Групите на ET-1 и ET_A-рецептор

На 75 лица, от всичките включени в дисертационния труд, се изследваха плазмените нива на ET-1 и ET_A-рецептор. Всички пациенти бяха предварително запознати със същността на клиничното проучване и дадоха писмено съгласие за включването им. Възрастовият диапазон на изследваните е от 45 до 82 години, като от тях 21 са мъже и 54 са жени. Те бяха разпределени в три групи според степента на засягане от глаукома, както следва:

I група (Контролна) - 25 здрави доброволци от 45 до 71 години

II група (Начална глаукома) - 22 пациента на възраст от 45 до 82 години

III група (Напреднала глаукома) - 28 пациента на възраст от 45 до 82 години

За получаване на максимално достоверни резултати, при тези пациенти допълнително се оформиха следните **изключващи критерии**, поради доказана динамика в концентрациите на изследваните от нас вещества при някои общи заболявания от ендокринен, сърдечно-съдов, бъбречен и неврологичен произход:

- метаболитен синдром, преддиабет и диабет, надбъбречни заболявания, заболявания на щитовидната жлеза
- сърдечна недостатъчност, исхемична болест на сърцето, ангина на Prinzmetal, белодробна хипертония, болест на Рейно, субарахноидна хеморагия, церебрален вазоспазъм
- остра бъбречна недостатъчност

Артериалната хипертония не се обособи като изключващ фактор предвид възрастта на контингента от пациенти, който е включен в дисертационния труд и невъзможността този фактор да бъде избегнат при всичките 75 човека.

3.2 Методи на изследване

3.2.1. Диагностични методи

По своя дизайн настоящото клинично проучване е обсервационно и проспективно. При всички пациенти се извърши пълен офталмологичен преглед като резултатите биваха вписвани в създаден от нас протокол (*Приложение 1*), чието използване наложи систематизираност и последователност в оценката на тяхното състояние, включването и разпределението им в групи:

- Подробна анамнеза за общи и очни заболявания, фамилна анамнеза
- Определяне на рефракция и изследване на зрителна острота
- Биомикроскопия
- Контактна ултразвукова пахиметрия извършена с апарата *OcuScan RxP (Alcon, Forth Worth, Texas, USA)*
- Тонометрия по Goldmann - построяване на дневна крива на ВОН
- Индиректна гониоскопия - извършена с триогледална леща на Goldmann. За оценка на ПКЪ се приложи класификацията на Shaffer (1960 г.) със следните степени:

- Цепковиден ъгъл - няма видим иридокорнеален контакт, но не могат да се видят структурите на иридокорнеалния ъгъл. Рискът от затваряне на ъгъла е много висок.
 - Степен 0 (0°) - съществува иридокорнеален контакт, но не могат да се видят структурите на иридокорнеалния ъгъл
 - Степен I (10°) - много тесен ъгъл - вижда се само линията на Schwalbe. Има висок риск от затваряне на ъгъла.
 - Степен II (20°) - умерено тесен ъгъл - виждат се линията на Schwalbe и трабекулума, без склералната шпора. Възможно е, но е малко вероятно затваряне на ъгъла.
 - Степен III (20°- 35°) - открит камерен ъгъл - вижда се склералната шпора. Не е възможно затваряне на ъгъла.
 - Степен IV (35°- 45°) - широк камерен ъгъл - виждат се всички структури от линията на Schwalbe до цилиарната панделка. Не е възможно затваряне на ъгъла.
- Индиректна фундусбиомикроскопия - с помощта на биомикроскоп и 90 dpt леща в състояние на мидриаза
 - Компютърна периметрия - програма SITA Standard 24-2 на HFA II (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) с оптична корекция за близо при необходимост. Включени само достоверни периметрични изследвания с общ процент на сумата от грешките (загуба на фиксация, фалшиво позитивни и фалшиво негативни резултати) не по-голям от 25%. За определяне степента на глаукомните изменения се използва споменатата вече клинична **класификация на Hodapp-Parrish-Anderson:**
 - Начална глаукома: MD < - 6 dB, pattern deviation plot < 25% (18 точки) с депресия под p < 5% и по-малко от 10 точки с депресия под p < 1%. Липса на точки с чувствителност под 15 dB в централните 5°.
 - Средноразвита глаукома: MD < - 12 dB, pattern deviation plot < 50% (37 точки) с депресия под p < 5% и по-малко от 20 точки с депресия под p < 1%. Наличие на точки с чувствителност под 15 dB в централните 5° само в едната половина от ЗП.
 - Напреднала глаукома: MD > - 12 dB, pattern deviation plot > 50% (37 точки) с депресия под p < 5% и повече от 20 точки с депресия под p < 1%. Поне една точка в централните 5° с чувствителност 0 dB. Наличие на точки с чувствителност под 15 dB в централните 5° и на двете половини от ЗП.

Оптична кохерентна томография

При всички пациенти се направи SD-OCT на двете очи в състояние на медикаментозна мидриаза от един оператор с апарата *Topcon 3D OCT 2000 (FA plus)* (*Topcon Corporation, Japan*) и софтуерна версия - 8.11 (**Приложение 2**). OCT апаратът е със следните технически характеристики: скорост на сканиране 50 000 A-scans/sec, разделителна способност 5 μm , пенетрация до 2.3 mm и 16.5 MP камера, с възможност за FA/FAF.

Приложиха се следните програми:

- **Circle** - с нея се извършва оценка на дебелината на pRNFL (μm). Прави единичен, кръгов В-скан около ДЗН с диаметър 3.4 mm, състоящ се от 1024 A-scans. *Circle* протоколът изобразява резултатите (количествено и качествено-псевдоцветове) от измерването на pRNFL както и симетрията в дебелината между двете очи (**Приложение 3**). Параметрите, чиито стойности се изследват в настоящото проучване са:
 - Total pRNFL - показва средната дебелина на pRNFL на 360° от ДЗН
 - Sup pRNFL - показва дебелината на pRNFL в горните 90° от ДЗН
 - Inf pRNFL - показва дебелината на pRNFL в долните 90° от ДЗН
 - Nas pRNFL - показва дебелината на pRNFL в назалните 90° от ДЗН
 - Temp pRNFL - показва дебелината на pRNFL в темпоралните 90° от ДЗН
- **3D Macula (V)** - с нея се извършва оценка на дебелината на вътрешните слоеве на макулата (μm). Програмата сканира макулната област на площ от 7 mm². Създава се 3D образ съставен от 512 вертикални В-скана, всеки един от 128 А-скана. В *протокола Glaucoma Analysis - Macula* на три отделни карти е показана дебелината на mRNFL, GCL+ (GCL+IPL) и GCL++ (NFL+GCL+IPL) качествено (с псевдоцветове) и количествено (μm) в мрежа 10 x 10 покриваща 6 mm² от изследваната област (**Приложение 4**). Изследваните от параметри от този протокол са:
 - Sup mRNFL - отразява дебелината в горната изследвана половина
 - Inf mRNFL - отразява дебелината в долната изследвана половина
 - Total mRNFL - отразява средната тотална дебелина в цялата макулна област
- **Macula Line** - тази програма ни даде възможност за качествена оценка на макулата както и да се изключат други патологични процеси. Има възможност да сканира област и посока избрана от изследващия - един В-скан с дължина

9.0 mm, състоящ се от 1024 А-скана. В случая при всеки пациент се направи хоризонтален и вертикален скан през фовеята.

В проучването се включиха ОСТ протоколи с добро качество на скановете - над 50%, без артефакти получени от движения на тялото и очите, премигвания, липса на патология в макулата (оток, друзи, дупки), витреоретинален тракционен синдром.

Групите на ET-1 и ET_A-рецептор

Венозна кръв от пациентите се взимаше рано сутрин от Vena mediana cubiti чрез затворена система (холдер и вакутейнер за серум с жълта капачка) на гладно, в легнало по гръб положение (супинация) и спокойно състояние. След взимането, кръвта се центрофугираше (за 5 min на 2000 оборота) като активен сепариращ гел във вакутейнера формираше бариера между формените елементи на кръвта и серума. Плазмата се отделяше в 1.5 ml епендорфни епруветки и се съхраняваше замразена на -10.00 °C.

Нивата на ET-1 и ET_A-рецептор се изработиха от лекар-лаборант като се използва имуноензимен метод - ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) тип сандвич и китове: Endothelin-1 Assay Kit - IBL и Human endothelin-1 receptor (EDNRA) Elisa Kit (CASABIO).

3.2.2. Математико-статистически методи

Получените числени стойности на изследваните параметри за всеки от пациентите се въведоха в таблици (Microsoft Excel, MS Office 2013), след което се обработиха със софтуерна версия 17.0 на статистически пакет SPSS (SPSS, Inc, Ghicago, IL, USA). За графичен анализ и онагледяване на изучаваните явления с таблици, графики и хистограми са използвани програмите Microsoft Excel и Microsoft Word (MS Office 2007).

Тест на Колмогоров-Смирнов

Сравнява формата на честотното разпределение на изследваните количествени променливи с това на нормалното разпределение. Важно място в теорията на статистиката заема нормалното разпределение и в случай на такова, статистическата обработка може да продължи със използването на средноаритметични стойности (Mean) и стандартно отклонение (SD) за изготвяне на описателната статистика. Средна аритметична величина е най-често използваният в научно-изследователската практика показател за средно равнище. Изчислява се по формулата: $\frac{\sum(x_1+x_2+x_3+\dots+x_n)}{n}$, където \sum е сумата от стойностите на променливите - $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$, n е обема на извадката. Стандартното отклонение определя заостреността на кривата на

разпределение и измерва отклонението на данните от тяхната средна стойност. Колкото отклоненията от средното равнище са по-малки, толкова кривата е по-изострена и обратно.

Хи-квадрат (χ^2) методът

Представява статистически метод за проверка на хипотези от класа на непараметричните. Подходящ е в случаите когато се изследва връзка между две категориини променливи. Тестът показва дали съществува дадена предполагаема връзка, но не може да даде отговор на въпроса, дали тя е от причинно-следствен или има друг характер. Не може да определи също така каква е посоката на връзката. Отговорите на тези въпроси се търсят вън от метода, с допълнителен анализ.

Дисперсионен анализ - Analysis of variance (ANOVA)

Отнася се към методите за изследване на връзки и зависимости. Чрез дисперсионния анализ може само да се установи дали между изследваните явления (признаци) съществува зависимост, но не може да се измери силата на зависимостта, както и нейната посока. Може да бъде еднофакторен, двуфакторен или многофакторен. **Еднофакторният дисперсионен анализ** позволява да се изследва статистическа връзка между една зависима променлива от количествен тип и една независима променлива от категориен тип. Формират се определен брой групи, които се различават по своята независима променлива. Изчисляват се средните стойности на зависимата променлива във всяка от групите. Наличие или липса на статистически значимо факторно влияние се определя от различията между средните стойности. При доказване на достоверни различия е необходимо да се направи *post-hoc test* по двойки - в случая това са тестовете на Dunnett и Tukey. **Двуфакторният дисперсионен анализ** позволява да се изследва статистическа връзка между една зависима променлива от количествен тип и две независими променливи от категориен тип.

Корелационен анализ

Корелационният анализ е метод за обработка на статистически данни използвани за изучаване на корелации между променливи. При анализа се сравняват коефициентите на корелацията между една (единичен анализ) или повече двойки (множествен) променливи, за да се установят статистически взаимозависимости между тях. Може да се измери както силата на зависимостта, така и нейната посока. Когато посоката на променливите е еднопосочна, корелацията се приема за положителна, а когато посоката е разнопосочна, корелацията е отрицателна. Силата на корелация се измерва от корелационен коефициент - R, който може да заема числови стойности от -1 до 0

(отрицателна корелация) и от 0 до +1 (положителна корелация). При стойност близка до нулата липсва връзка между двете променливи, а при стойности, близки до ± 1 , корелационните зависимости са силно изразени.

Слаба връзка: R до ± 0.3

Умерена връзка: R между ± 0.3 и ± 0.5

Значителна връзка: R между ± 0.5 и ± 0.7

Силна връзка: R между ± 0.7 и ± 0.9

Много силна връзка: R над ± 0.9

ROC (Receiver Operating Characteristic Analysis) - анализ

Прилага се за определяне и сравняване диагностичните възможности на изследвани показатели. ROC-кривите представят нагледно способността на изпитвания показател да разграничи две здравни състояния. Колкото кривата е по-близо до горния ляв ъгъл, толкова тестът има по-висока диагностична стойност. Стойността на площта под кривата (Area Under Receiver Operating Characteristic Curve - AUROC) се движи между 0.5 и 1.0. Пълно разделяне на двете здравни състояния чрез даден показател може да се извърши при резултат - 1.0. При установена площ под кривата 0.5, между двете групи няма различия по отношение на изпитвания показател. Всяко вероятно прагово ниво отговаря на определена двойка чувствителност/специфичност, а всички тези двойки са изобразени на ROC-кривата, по абсцисата на координатна система е нанесена - специфичността или дялът на фалшиво положителните резултати, а по ординатата - чувствителността или дялът на истинските положителни резултати.

Чувствителността характеризира способността на метода при наличие на заболяване да определя правилно болните индивиди като болни.

$$\text{Чувствителност} = \frac{\text{Истински положителни}}{\text{Истински положителни} + \text{Фалшиво отрицателни}}$$

Специфичността характеризира способността на метода при отсъствие на заболяване да определя правилно здравите индивиди, като здрави.

$$\text{Специфичност} = \frac{\text{Истински отрицателни}}{\text{Истински отрицателни} + \text{Фалшиво положителни}}$$

От ROC кривите се намират и cut-off стойностите на показателите. Това са стойностите, при които с най-голяма вероятност може да се определят наблюдаваните очи като болни или здрави. Тези стойности съответстват на онази точка от ROC кривата, която е най-близо до горния ляв ъгъл на графиката.

Глава IV - РЕЗУЛТАТИ

4.1. Демографски характеристики и анализ на връзката им с изследваните показатели

Резултатите от настоящото клинично проучване се основават на анализ върху данните на общо 483 изследвани очи от 414 пациента на възраст от 45 до 84 години (ср. възраст 66.7 ± 8.7), като 132 са мъже, а 282 - жени (**Табл. 4.1.1**). С оглед изпълнение на целта и задачите на проучването, те се разпределиха в 6 групи както следва:

I група - здрави очи (150 очи, 150 здрави доброволци)

II група - очи с ОХ (50 очи, 31 пациента)

III група - очи с ПОЪГ в препериметричен стадий (62 очи, 49 пациента)

IV група - очи с ПОЪГ в I-ви начален стадий (96 очи, 80 пациента)

V група - очи с ПОЪГ във II-ри средноразвит стадий (40 очи, 34 пациента)

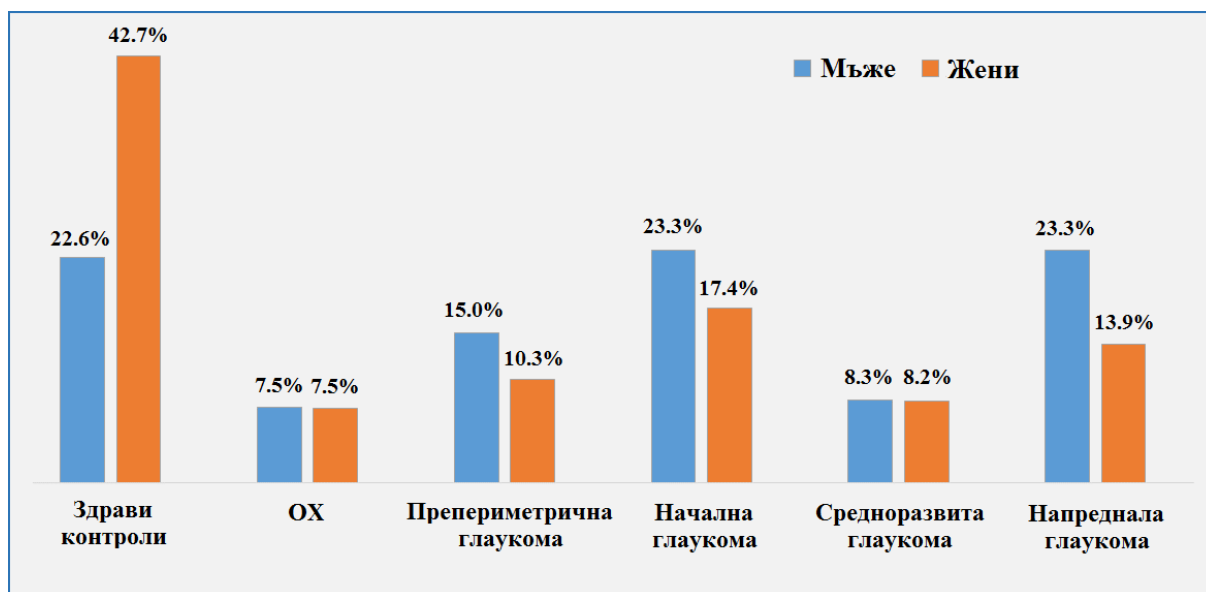
VI група - очи с ПОЪГ в III-ти напреднал стадий (85 очи, 70 пациента)

Табл. 4.1.1. Разпределение на пациентите по пол и възраст.

Група	Пол	N*	Възраст			
			Mean*	SD*	Min*	Max*
Здрави контроли	Мъже	30	61.7	9.7	48.0	81.0
	Жени	120	63.4	8.9	45.0	84.0
	Общо	150	63.0	9.0	45.0	84.0
ОХ	Мъже	10	59.4	10.6	45.0	76.0
	Жени	21	60.4	8.6	45.0	72.0
	Общо	31	60.1	9.2	45.0	76.0
Препериметрична глаукома	Мъже	20	68.6	6.9	51.0	81.0
	Жени	29	64.7	7.6	45.0	74.0
	Общо	49	66.3	7.5	45.0	81.0
Начална глаукома	Мъже	30	71.7	6.0	58.0	81.0
	Жени	50	68.5	8.7	45.0	82.0
	Общо	80	69.7	7.9	45.0	82.0
Средноразвита глаукома	Мъже	11	70.5	10.2	45.0	82.0
	Жени	23	70.4	7.9	57.0	81.0
	Общо	34	70.4	8.5	45.0	82.0
Напреднала глаукома	Мъже	31	67.7	11.5	45.0	83.0
	Жени	39	70.7	8.2	45.0	84.0
	Общо	70	69.5	9.8	45.0	84.0

(N - Брой; Mean - средна стойност на възрастта; SD - стандартно отклонение; Min и Max - максимална и минимални стойности на възрастта в години)

На **фигура 4.1.1** са показани честотните разпределения на пола по групи заболявания в проценти. При проверката за връзка между пола и степента на заболяването се установи статистически значима връзка - $\chi^2(5)=18.17, p=0.003$.



Фиг. 4.1.1. Честотно разпределение на пола в проценти по групи заболявания.

За определяне на самостоятелното влияние на заболяването върху изследваните показатели е приложен двуфакторен дисперсионен анализ с контрол на възрастта (ANCOVA). По този начин се установява до каква степен наблюдаваните различия между изследваните показатели се дължат на заболяването и до каква степен на демографските характеристики пол и възраст. Също така се изследва и взаимодействието между групата заболявания и пола, показана е и степента на влияние на факторите върху зависимата променлива (изследваните показатели) (**Табл. 4.1.2**).

Табл. 4.1.2. Двуфакторен дисперсионен анализ - ANCOVA.

Показател		Група	Пол	Възраст	Група * Пол
Sup mRNFL	p	<0.001	0.011	0.058	0.318
	η^2	0.590	0.016	0.009	0.015
Inf mRNFL	p	<0.001	0.909	0.693	0.916
	η^2	0.656	0.000	0.000	0.004
Total mRNFL	p	<0.001	0.179	0.446	0.769
	η^2	0.706	0.005	0.001	0.006
Inf pRNFL	p	<0.001	0.019	0.002	0.084
	η^2	0.599	0.014	0.023	0.024
Total pRNFL	p	<0.001	0.039	0.002	0.158
	η^2	0.564	0.011	0.025	0.020

Така например при показателя Sup mRNFL се наблюдава значима връзка с групата ($p<0.001$) със степен на свързаност $\eta^2 = 0.59$ или това показва, че до 59% от

измененията на този показател се дължат на заболяването (групата). Полът оказва също така значимо влияние ($p=0.011$), но степента на свързаност е много малка - 0.016, което означава, че до 1.6% от измененията на Sup mRNFL се дължат на пола. Анализът показва, че взаимодействието между групата и пола не е значимо ($p=0.318$). Не е значимо взаимодействието между групата и пола при нито един от показаните на **Таблица 4.1.2** изследвани показатели.

Формите на честотните разпределения на количествените променливи са сравнени с формата на нормалното разпределение. Това сравнение е извършено с теста на Колмогоров-Смирнов. Анализът показва, че разпределенията са нормални ($p>0.05$). Обобщените статистически характеристики на изследваните показатели са представени на **Таблица 4.1.3**.

Табл. 4.1.3. Средни стойности и стандартно отклонение на изследваните показатели в отделните групи (*Приложение 4*).

Показател [μm]	Контролна група		ОХ		ППГ		Начална глаукома		Средноразвита глаукома		Напреднала глаукома	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
MD [dB]	-0.24	1.30	-0.05	1.15	-0.60	1.13	-2.73	1.85	-8.65	1.77	-21.44	5.81
PSD [dB]	1.72	0.38	1.59	0.32	1.82	0.33	3.72	1.73	7.84	2.66	9.26	3.15
Sup mRNFL	36.09	4.30	36.46	5.77	30.58	3.75	28.90	4.90	24.60	6.85	16.78	6.58
Inf mRNFL	39.22	5.27	38.16	4.69	31.34	5.01	29.44	5.81	25.05	7.04	14.20	6.33
Total mRNFL	37.67	4.23	37.30	4.67	31.05	4.06	29.21	4.37	25.00	4.75	15.48	5.58
Sup pRNFL	122.31	12.09	128.70	14.86	111.34	17.17	101.47	14.18	90.38	20.29	77.47	16.26
Inf pRNFL	136.86	14.46	137.66	14.65	115.74	18.14	108.05	22.62	90.53	23.59	69.22	15.03
Nas pRNFL	90.55	14.73	92.24	18.47	81.98	19.99	82.23	18.00	74.58	19.36	66.99	16.63
Temp pRNFL	81.62	11.76	85.92	16.12	74.26	14.88	72.98	15.62	69.28	17.88	60.35	15.76
Total pRNFL	107.84	7.95	111.14	10.25	95.92	12.26	90.81	12.48	81.15	15.28	68.46	12.32

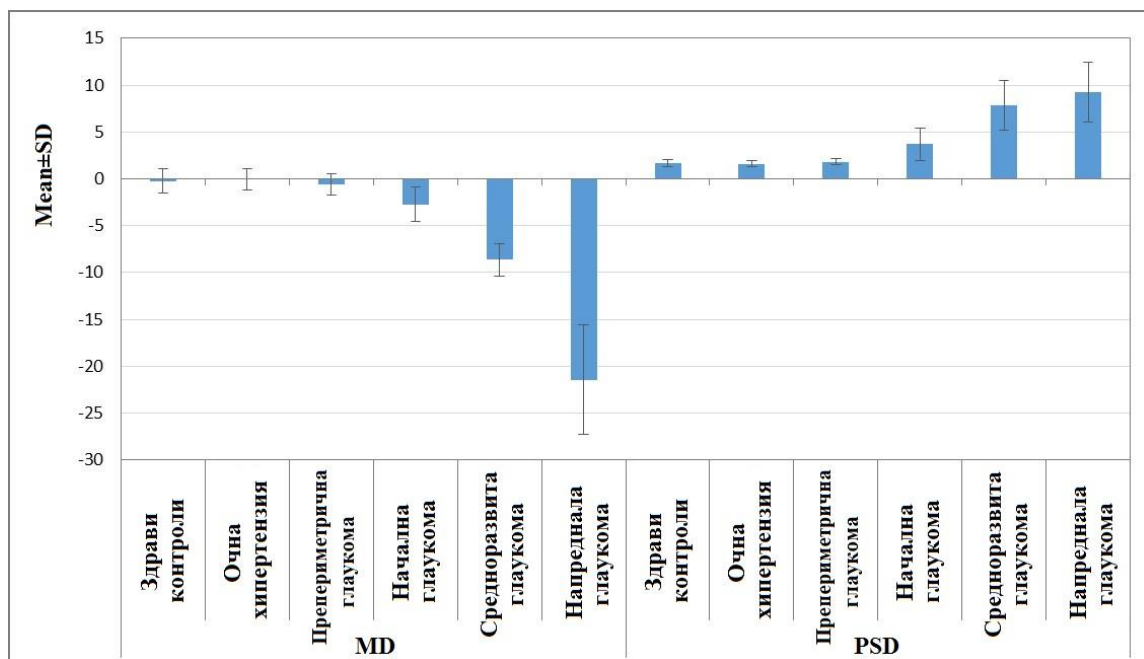
Дебелината на изследваните OCT показатели е най-голяма в контролната група и ОХ. От групата на ОХ през ППГ до напреднал стадий на периметрична глаукома, дебелината на pRNFL и mRNFL прогресивно намалява (**Табл. 4.1.3**).

4.2. Анализ на глобалните периметрични индекси MD и PSD

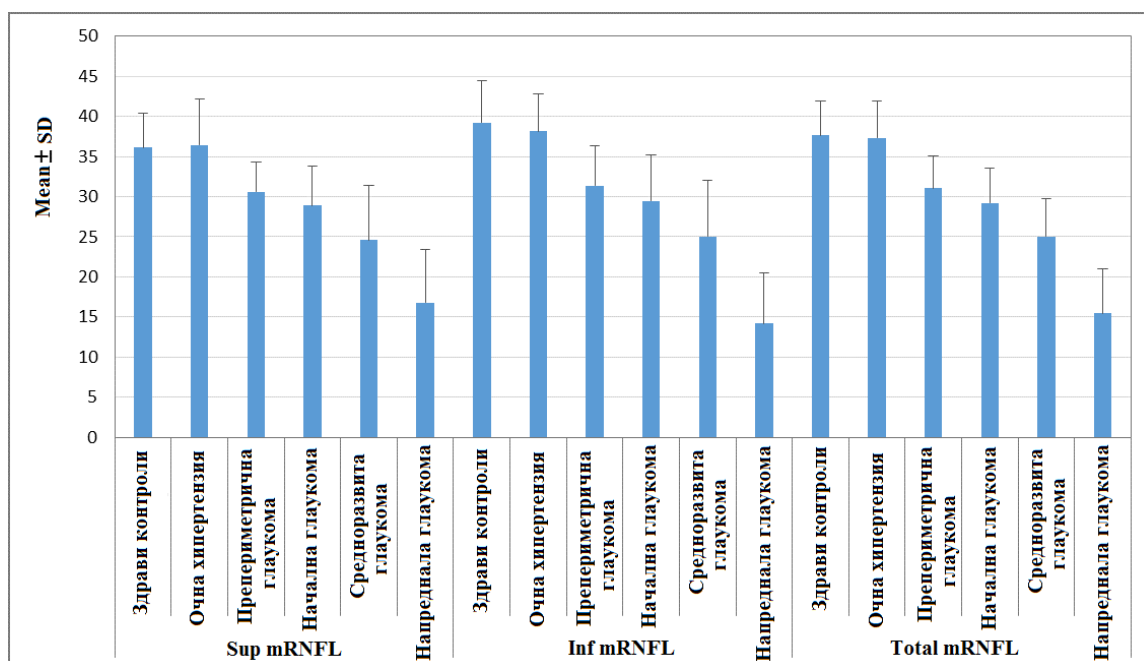
Средните стойности и стандартни отклонения на глобалните периметрични индекси - MD и PSD са показани на **таблица 4.1.3** и **фигура 4.2.1**, която отразява нагледно тяхното изменение по групи. Прави впечатление значителната им промяна в етапите на периметрична глаукома - MD прогресивно намалява, а PSD нараства.

4.3. Анализ на OCT параметрите - pRNFL и mRNFL

На **фигура 4.3.1** графично са представени промените в дебелината на Sup/Inf/Total mRNFL с напредване на глаукомните изменения в обособените групи. Наблюдава се прогресивно изтъняване дебелината и на трите OCT показателя след стадий на ОХ до напреднал стадий на периметрична глаукома.

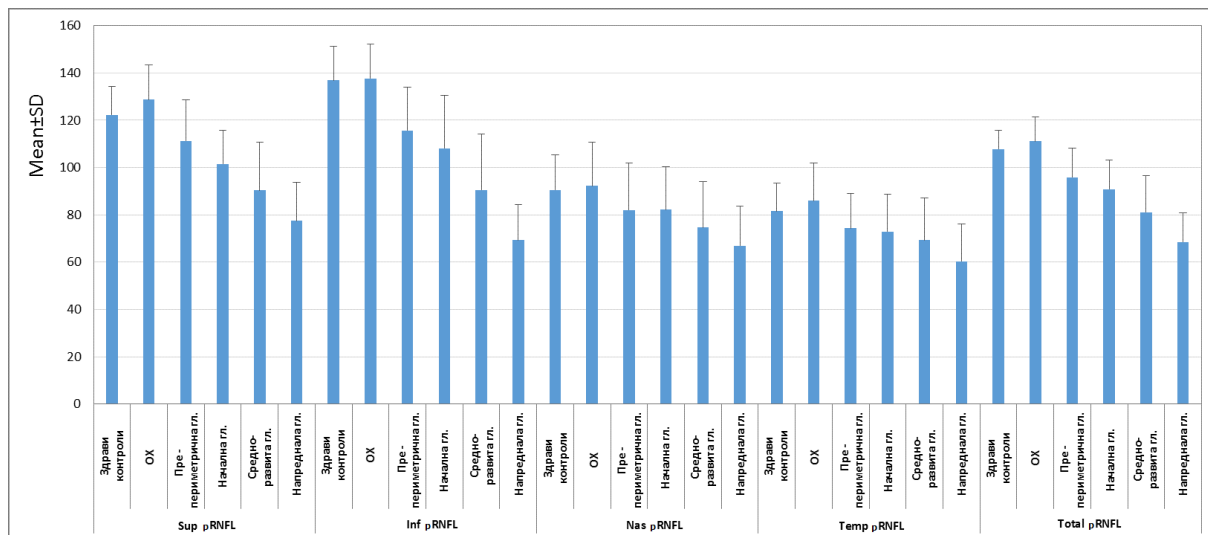


Фиг. 4.2.1. Средни стойности и стандартно отклонение на глобалните периметрични индекси - MD и PSD с напредване на глаукомата.



Фиг. 4.3.1. Промяна на Sup/Inf/Total mRNFL с напредване на глаукомата. Средни стойности и стандартно отклонение.

На **фигура 4.3.2** графично са представени промените в дебелината на Sup/Inf/Nas/Temp/Total pRNFL с напредване на ПОЪГ в изследваните групи. Както при предходната графика (**Фиг. 4.3.1**) и тук прави впечатление прогресивното изтъняване на pRNFL във всички негови параметри отразяващи дебелината му от Circle - протокола, след стадий на ОХ до напреднал стадий на периметрична глаукома.



Фиг. 4.3.2. Промяна на Sup/Inf/Total mRNFL с напредване на глаукомата. Средни стойности и стандартно отклонение.

4.4. Резултати по задача 1

За целите на задача 1 се приложи дисперсионен анализ, чрез който се потърси статистически значими различия в промените на средните стойности на изследваните ОСТ параметри между отделните групи.

Табл. 4.4.1. Резултати от ANOVA анализа.

Показател	F*	dfs*	p
Възраст	12.95	5;408	<0.001
MD	772.91	5;477	<0.001
PSD	288.00	5;477	<0.001
Sup mRNFL	174.46	5;477	<0.001
Inf mRNFL	239.07	5;477	<0.001
Total mRNFL	289.76	5;477	<0.001
Sup pRNFL	130.75	5;477	<0.001
Inf pRNFL	190.61	5;477	<0.001
Nas pRNFL	25.16	5;477	<0.001
Temp pRNFL	29.94	5;477	<0.001
Total pRNFL	168.53	5;477	<0.001

(F - критерий на Фишер, dfs - степени на свобода)

От направения анализ се установи $p < 0.001$ в промяната на стойностите при всички изследвани параметри (Табл. 4.4.1). За да се установи точно между кои групи е наблюдаваната разлика са приложени пост хок тестове (Post hoc tests - Dunnett и Tukey).

Табл. 4.4.2. Резултати от сравнителния анализ на контролната група с останалите изследвани групи.

Показател	Контроли vs.				
	ОХ	ППГ	Начална глаукома	Средноразвита глаукома	Напреднала глаукома
	р	р	р	р	р
Възраст	0.533	0.221	<0.001	<0.001	<0.001
MD	0.997	0.477	<0.001	<0.001	<0.001
PSD	0.270	0.594	<0.001	<0.001	<0.001
Sup mRNFL	1.000	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Inf mRNFL	0.944	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Total mRNFL	1.000	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sup pRNFL	0.105	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Inf pRNFL	1.000	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Nas pRNFL	1.000	0.044	0.003	<0.001	<0.001
Temp pRNFL	0.721	0.012	<0.001	0.002	<0.001
Total pRNFL	0.452	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

На **таблица 4.4.2** са показани подвойкови сравнения между контролната група и останалите групи (ОХ, ППГ и периметричните стадии на глаукома). От така представените резултати се забелязва липсата на статистически значима промяна при всички изследвани OCT и SAP параметри между контролната група и тази на ОХ. Тези резултати показват, че е необосновано да се насочват усилия за по-нататъшен анализ на промените между здрави и пациенти с ОХ в настоящата и последващите задачи от дисертационния труд и затова такъв анализ не се извършва. Втората колона от таблицата показва сравнението между контроли и ППГ - OCT показателите търпят значима промяна, докато MD и PSD остават непроменени. Между контролите и групите на периметрична глаукома всички показатели се изменят статистически значимо.

На **таблица 4.4.3** е показан сравнителния анализ на пациентите от групата на ОХ с групата на ППГ и стадията на периметрична глаукома. Глобалните периметрични индекси MD и PSD остават без статистически значима промяна в групата на ППГ, а от OCT параметрите не се променя значимо само Nas pRNFL. В стадията на периметрична глаукома всички изследвани параметри търпят значимо изменения в сравнение с групата на ОХ.

Табл. 4.4.3. Резултати от сравнителния анализ на ОХ с останалите изследвани групи.

Показател	ОХ vs.			
	ППГ	Начална глаукома	Средноразвита глаукома	Напреднала глаукома
	р	р	р	р
Възраст	0.028	<0.001	<0.001	<0.001
MD	0.168	<0.001	<0.001	<0.001
PSD	0.983	<0.001	<0.001	<0.001
Sup mRNFL	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Inf mRNFL	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Total mRNFL	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sup pRNFL	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Inf pRNFL	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Nas pRNFL	0.082	0.033	0.001	<0.001
Temp pRNFL	0.002	<0.001	<0.001	<0.001
Total pRNFL	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Табл. 4.4.4. Резултати от сравнителния анализ на ППГ, начална, средноразвита и напреднала глаукома.

Показател	ППГ vs.			Начална глаукома vs.		Средноразвита глаукома vs. Напреднала гл.
	Начална глаукома	Средноразвита глаукома	Напреднала глаукома	Средноразвита глаукома	Напреднала глаукома	
	р	р	р	р	р	
Възраст	0.251	0.279	0.391	0.999	1.000	0.994
MD	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
PSD	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sup mRNFL	0.209	<0.001	<0.001	0.010	<0.001	<0.001
Inf mRNFL	0.365	<0.001	<0.001	0.014	<0.001	<0.001
Total mRNFL	0.110	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sup pRNFL	0.004	<0.001	<0.001	0.038	<0.001	0.012
Inf pRNFL	0.254	<0.001	<0.001	0.002	<0.001	<0.001
Nas pRNFL	1.000	0.622	<0.001	0.403	<0.001	0.410
Temp pRNFL	1.000	0.893	<0.001	0.985	<0.001	0.120
Total pRNFL	0.167	<0.001	<0.001	0.011	<0.001	<0.001

При сравнителен анализ (табл. 4.4.4) на параметрите между ППГ и начална глаукома, прави впечатление, че от изследваните ОСТ показатели статистически се променя само Sup pRNFL ($p=0.04$). Останалите показатели също търпят промяна, но тя е незначима. При сравнение на групите ППГ и средноразвита глаукома, статистически непроменени остават само Nas pRNFL ($p=0.622$) и Temp pRNFL ($p=0.893$). А при сравнение на групите ППГ и напреднала глаукома всички параметри търпят статистическа промяна ($p<0.001$). При съпоставяне на групите начална и средноразвита глаукома, отново статистически незначими промени търпят Nas pRNFL ($p=0.403$) и Temp pRNFL ($p=0.985$). Установява се $p<0.001$ на всички изследвани показатели при съпоставяне на групите начална и напреднала глаукома. Когато се сравнят групите на средноразвита и напреднала глаукома отново само

назалният и темпорален pRNFL остават статистически значимо непроменени (съответно $p=0.410$ и $p=0.120$).

Таблица 4.4.5 е обобщена по отношение на междугруповия сравнителен анализ и таблично онаглеждава промените на изследваните параметри последователно при сравнение на две по две съседни групи. От нея могат да се направят следните изводи: между контролната група и групата на ОХ не се наблюдават статистически значими промени нито при общите индекси на SAP - MD и PSD, нито при OCT параметрите; MD и PSD остават значимо непроменени до стадий на начална глаукома; в стадий на ППГ настъпва промяна първо в OCT параметрите, което обуславя появата на структурните промени преди функционалните загуби в зрителното поле; единственият от изследваните показатели, който търпи статистически значима промяна във всеки стадий на глаукома е Sup pRNFL; показателят, който не търпи значима промяна в нито един стадий на глаукома е Nas pRNFL, а Temp pRNFL не се променя в периметричните стадии.

Табл. 4.4.5. Обобщена таблица.

Показател	Контроли vs ОХ	ОХ vs ППГ	ППГ vs Начална гл.	Начална гл. vs Средноразвита гл.	Средноразвита гл. vs Напреднала гл.
Възраст	0.533	0.028	0.251	0.999	0.994
MD	0.997	0.168	<0.001	<0.001	<0.001
PSD	0.270	0.983	<0.001	<0.001	<0.001
Sup mRNFL	1.000	<0.001	0.209	0.010	<0.001
Inf mRNFL	0.944	<0.001	0.365	0.014	<0.001
Total mRNFL	1.000	<0.001	0.110	<0.001	<0.001
Sup pRNFL	0.105	<0.001	0.004	0.038	0.012
Inf pRNFL	1.000	<0.001	0.087	0.002	<0.001
Nas pRNFL	1.000	0.082	1.000	0.403	0.410
Temp pRNFL	0.721	0.002	1.000	0.985	0.120
Total pRNFL	0.452	<0.001	0.061	0.011	<0.001

4.5. Резултати по задача 2

Възможностите на корелационния анализ се състоят в установяване наличие или липса на статистически значима корелационна връзка между два или повече показателя, както и степента на установената връзка, чрез допълнително изчислен коефициент на Пирсън (R). За изпълнението на тази задача се изследва наличие и степен на корелационна връзка на анализираният от нас OCT параметри - RNFL (mRNFL, pRNFL) с промените в глобалните индекси от SAP - MD и PSD.

Направи се корелационен анализ на всичките 483 очи включени в настоящото проучване без да се има предвид тяхното разпределение по групи. Установи се статистически значима положителна корелационна връзка на изследваните OCT

параметри с MD (Табл. 4.5.1). Това означава, че с напредване на глаукомните изменения RNFL изтънява, дебелината му в μm намалява, а също така и стойностите на MD в dB. Условно може да се каже, че степента на тази връзка варира от умерена (Nas pRNFL, Temp RNFL) и значителна (Sup pRNFL) до силна (Sup/Inf/Total mRNFL, Inf/Total pRNFL). Най-силна корелационна връзка с MD има Total mRNFL ($R=0.800$), а най-слаба Temp pRNFL (0.425). По отношение на втория анализ се установи статистически значима отрицателна корелационна връзка на всички изследвани OCT параметри с другия глобален показател - PSD. Това означава, че когато дебелината на RNFL намалява, стойностите на PSD растат. Степента на тази връзка е от умерена (Nas/Temp pRNFL) до значителна (Sup/Inf/Total mRNFL и Sup/Inf/Total pRNFL). Най-силна корелационна връзка с PSD има Total mRNFL ($R= -0.688$) и след него Inf mRNFL ($R= -0.687$), а най-слаба Nas pRNFL ($R= -0.323$).

Табл. 4.5.1. Корелационен анализ на RNFL с MD и PSD.

		Sup mRNFL	Inf mRNFL	Total mRNFL	Sup pRNFL	Inf pRNFL	Nas pRNFL	Temp pRNFL	Total pRNFL
MD	R	0.742	0.779	0.800	0.676	0.740	0.435	0.425	0.724
	p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	N	483	483	483	483	483	483	483	483
PSD	R	-0.619	-0.687	-0.688	-0.593	-0.662	-0.323	-0.381	-0.631
	p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	N	483	483	483	483	483	483	483	483

За да се определи наличие и степен на връзка между RNFL и MD в границите на дадена група се приложи вътрегрупов корелационен анализ (Табл. 4.5.2).

Табл. 4.5.2. Вътрегрупов корелационен анализ на RNFL с MD.

Група	MD ↔	Sup mRNFL	Inf mRNFL	Total mRNFL	Sup pRNFL	Inf pRNFL	Nas pRNFL	Temp pRNFL	Total pRNFL
Контролна група	R	0.001	0.090	0.022	0.026	0.117	0.135	0.039	0.137
	p	0.988	0.275	0.792	0.748	0.152	0.101	0.639	0.095
ОХ	R	0.032	0.329	0.190	0.387	0.373	0.164	-0.017	0.340
	p	0.828	0.020	0.187	0.006	0.008	0.257	0.906	0.016
ППГ	R	-0.140	-0.162	-0.172	-0.073	0.025	-0.183	0.064	-0.079
	p	0.279	0.208	0.181	0.573	0.849	0.155	0.624	0.542
Начална глаукома	R	-0.017	0.089	0.048	0.265	0.210	0.059	0.120	0.274
	p	0.870	0.391	0.640	0.009	0.040	0.570	0.246	0.007
Средноразвита глаукома	R	-0.181	0.489	0.238	0.042	0.324	0.050	0.123	0.189
	p	0.263	0.001	0.140	0.797	0.042	0.758	0.451	0.242
Напреднала глаукома	R	0.329	0.270	0.346	0.201	0.247	0.292	0.001	0.241
	p	0.002	0.012	0.001	0.065	0.023	0.007	0.994	0.026

Той показва, че статистически значимите връзки са малко и то предимно в стадий на напреднала глаукома, където всички OCT показатели освен Sup pRNFL ($p=0.065$) и Temp pRNFL ($p=0.994$) имат умерена степен на положителна корелационна връзка с

MD. В стадий на начална глаукома измененията на mRNFL не корелират с измененията на MD, корелира само pRNFL и то Sup pRNFL ($p=0.009$), Inf pRNFL ($p=0.040$) и Total pRNFL ($p=0.007$). И в трите стадия на периметрична глаукома, корелация с MD има само един OCT показател - Inf pRNFL. В контролната група и ППГ не се наблюдава значимост на връзката между RNFL и MD, за разлика от групата на ОХ, където такава значима връзка съществува.

Табл. 4.5.3. Вътрегрупов корелационен анализ на RNFL с PSD.

Група	PSD ↔	Sup mRNFL	Inf mRNFL	Total mRNFL	Sup pRNFL	Inf pRNFL	Nas pRNFL	Temp pRNFL	Total pRNFL
Контролна група	R	-0.058	0.013	0.002	0.041	-0.006	0.068	0.024	0.049
	p	0.477	0.878	0.976	0.619	0.947	0.411	0.774	0.555
ОХ	R	0.061	-0.100	0.003	-0.133	0.189	-0.003	0.102	0.058
	p	0.674	0.490	0.983	0.356	0.189	0.985	0.483	0.690
ППГ	R	0.005	0.095	0.047	0.010	0.126	0.195	0.115	0.162
	p	0.971	0.461	0.718	0.937	0.329	0.128	0.372	0.210
Начална глаукома	R	0.115	0.008	0.075	-0.169	0.009	0.023	0.069	-0.062
	p	0.267	0.935	0.466	0.099	0.933	0.823	0.503	0.546
Средноразвита глаукома	R	0.011	-0.279	-0.226	0.147	-0.092	0.093	-0.189	-0.018
	p	0.946	0.081	0.161	0.364	0.573	0.568	0.242	0.914
Напреднала глаукома	R	0.331	0.154	0.288	0.323	0.187	0.285	0.074	0.280
	p	0.002	0.159	0.008	0.003	0.086	0.008	0.504	0.009

Подобен вътрегрупов корелационен анализ се направи и за другия индекс на SAP - PSD. Установи се, че в границите на отделните обособени групи, статистически значима корелационна връзка се наблюдава само в стадий на напреднала глаукома (Табл. 4.5.3) в степен на слаба до умерена с OCT параметрите - Sup mRNFL ($R=0.331$), Total mRNFL ($R=0.288$), Sup pRNFL ($R=0.323$), Nas pRNFL ($R=0.285$) и Total pRNFL ($R=0.280$).

4.6. Резултати по задача 3

В тази задача се използват възможностите на корелационния анализ за установяване и онагледяване на най-значимите зависимости между параметрите изследващи дебелината на pRNFL (Sup/Inf/Nas/Temp/Total pRNFL) и mRNFL (Sup/Inf/Total mRNFL).

На таблица 4.6.1 е показан корелационния анализ между mRNFL и pRNFL при всичките 483 очи без да се има предвид тяхното разпределение по групи. Установи се

статистически значима положителна корелационна връзка между всички перипапиларни и макулни RNFL параметри ($p < 0.001$). Това означава, че с напредване на глаукомните изменения намалява дебелината на pRNFL, а заедно с нея и дебелината на mRNFL. Степента на корелационната връзка условно може да се определи от умерена и значителна до силна.

Умерена степен на корелационна връзка се наблюдава между Nas pRNFL и Sup/Inf/Total mRNFL (съответно $R=0.443$, $R=0.444$ и $R=0.463$), както и между Temp pRNFL и Inf mRNFL ($R=0.478$). Значителна е връзката между Temp pRNFL и Sup/Inf mRNFL (съответно $R=0.544$ и $R=0.533$), както и между Sup pRNFL и Inf mRNFL ($R=0.657$). Силна степен на корелация се наблюдава между останалите показатели от таблицата. Трите най-силни корелационни връзки се наблюдават между Total mRNFL и Inf pRNFL ($R=0.800$), между Inf mRNFL и Inf pRNFL ($R=0.799$), и между Total mRNFL и Total pRNFL ($R=0.787$).

Табл. 4.6.1. Корелационна зависимост между mRNFL и pRNFL.

Показател		Sup pRNFL	Inf pRNFL	Nas pRNFL	Temp pRNFL	Total pRNFL
Sup mRNFL	R	0.701	0.720	0.443	0.544	0.750
	p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	N	483	483	483	483	483
Inf mRNFL	R	0.657	0.799	0.444	0.478	0.752
	p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	N	483	483	483	483	483
Total mRNFL	R	0.708	0.800	0.463	0.533	0.787
	p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	N	483	483	483	483	483

За да се локализируют и разгледат по-подробно корелационните връзки се направи анализ за всяка една от изследваните групи. Таблиците 4.6.2/3, при които се онагледяват корелационните зависимости в контролната група и групата на ОХ, нямат клинично приложение при пациенти с глаукома за да се прави анализ на получените зависимости, поради факта, че разглежданите от нас OCT показатели не се променят статистически до стадий на ППГ. От горепосочените таблици се вижда, че при здрави индивиди и пациенти с ОХ съществува статистически значима корелация между Total mRNFL и Total pRNFL, т.е. при по-високи стойности в дебелината на тоталния pRNFL се очаква да има и по-големи стойности в дебелината на mRNFL.

На таблица 4.6.4 са показани връзките в стадий на ППГ. Единствената наблюдавана статистическа корелационна зависимост е между Temp pRNFL и mRNFL (Sup/Inf/Total mRNFL). Не се установи значима корелационна зависимост между тоталните стойности на mRNFL и pRNFL.

На **таблица 4.6.5** са показани корелационните зависимости в стадий на начална глаукома. Значимите зависимости тук са: умерена корелация между Sup mRNFL и Sup pRNFL ($R=0.403$), значителна между Inf mRNFL и Inf pRNFL ($R=0.576$), и умерена между Total mRNFL и Total pRNFL ($R=0.379$).

Корелационен анализ при mRNFL и pRNFL по групи:

Табл. 4.6.2. Контролна група

Здрави контроли		Sup mRNFL	Inf mRNFL	Total mRNFL
Sup pRNFL	R	0.035	-0.011	-0.006
	p	0.668	0.898	0.940
Inf pRNFL	R	0.255	0.256	0.279
	p	0.002	0.002	0.001
Nas pRNFL	R	0.116	0.182	0.157
	p	0.158	0.026	0.056
Temp pRNFL	R	0.343	0.275	0.344
	p	<0.001	0.001	<0.001
Total pRNFL	R	0.310	0.293	0.322
	p	<0.001	<0.001	<0.001

Табл. 4.6.3. Очна хипертензия

ОХ		Sup mRNFL	Inf mRNFL	Total mRNFL
Sup pRNFL	R	0.128	0.203	0.201
	p	0.375	0.157	0.162
Inf pRNFL	R	0.320	0.300	0.380
	p	0.023	0.034	0.006
Nas pRNFL	R	0.154	0.206	0.198
	p	0.286	0.152	0.169
Temp pRNFL	R	0.665	0.236	0.518
	p	<0.001	0.099	<0.001
Total pRNFL	R	0.483	0.359	0.493
	p	<0.001	<0.001	<0.001

Табл. 4.6.4. Препериметрична глаукома

ППГ		Sup mRNFL	Inf mRNFL	Total mRNFL
Sup pRNFL	R	0.186	-0.071	0.041
	p	0.148	0.584	0.752
Inf pRNFL	R	0.057	0.145	0.119
	p	0.660	0.260	0.359
Nas pRNFL	R	0.077	-0.060	-0.003
	p	0.550	0.645	0.983
Temp pRNFL	R	0.296	0.326	0.344
	p	0.019	0.010	0.006
Total pRNFL	R	0.198	0.101	0.156
	p	0.124	0.433	0.227

Табл. 4.6.5. Начална глаукома

Начална глаукома		Sup mRNFL	Inf mRNFL	Total mRNFL
Sup pRNFL	R	0.403	0.117	0.315
	p	<0.001	0.256	0.002
Inf pRNFL	R	0.156	0.576	0.480
	p	0.129	<0.001	<0.001
Nas pRNFL	R	0.188	0.200	0.240
	p	0.066	0.051	0.019
Temp pRNFL	R	0.251	-0.021	0.123
	p	0.014	0.839	0.231
Total pRNFL	R	0.304	0.302	0.379
	p	0.003	0.003	<0.001

Табл. 4.6.6. Средноразвита глаукома

Средноразв. глаукома		Sup mRNFL	Inf mRNFL	Total mRNFL
Sup pRNFL	R	0.617	0.268	0.566
	p	<0.001	0.095	<0.001
Inf pRNFL	R	0.161	0.463	0.416
	p	0.320	0.003	0.008
Nas pRNFL	R	0.126	0.056	0.105
	p	0.438	0.733	0.520
Temp pRNFL	R	0.443	0.252	0.472
	p	0.004	0.117	0.002
Total pRNFL	R	0.443	0.366	0.530
	p	0.004	0.020	<0.001

Табл. 4.6.7. Напреднала глаукома

Напреднала глаукома		Sup mRNFL	Inf mRNFL	Total mRNFL
Sup pRNFL	R	0.217	0.076	0.175
	p	0.046	0.488	0.109
Inf pRNFL	R	0.228	0.325	0.321
	p	0.036	0.002	0.003
Nas pRNFL	R	0.200	0.131	0.195
	p	0.066	0.232	0.074
Temp pRNFL	R	0.057	0.032	0.068
	p	0.604	0.774	0.536
Total pRNFL	R	0.232	0.182	0.248
	p	0.033	0.095	0.022

Като обобщение за най-значимите корелационни връзки, които се запазват в трите стадия на периметрична глаукома - начален, средноразвит и напреднал (Табл. 4.6.5 – 4.6.7) може да се каже, че това са:

1. Sup mRNFL със Sup pRNFL и Total pRNFL;
2. Inf mRNFL с Inf pRNFL;
3. Total mRNFL с Inf pRNFL и Total pRNFL.

4.7. Резултати по задача 4

За бързо и лесно определяне диагностичните възможности на различни показатели и методи на изследване, широко приложение в научната медицинска литература намира ROC анализът. Графично изобразяване върху координатната система на едновременно два, три или повече от изследваните променливи оформя ROC-крива и дава възможност за лесна визуализация и съпоставяне на площта под кривата - AUROC. Тя може да заема стойности между 0 и 1, които отразяват диагностичната точност и дава възможност за сравнителен анализ. Показател с AUROC=1.0 е идеалният вариант, при който се отчита най-висока диагностична точност и дискриминационна възможност между здрави и болни. Когато се установи $AUROC \leq 0.5$ за даден показател, то неговият диагностичен потенциал е слаб и не представлява интерес в клиничен аспект.

Табл. 4.7.1. AUROC и диагностични възможности на изследваните OCT параметри (mRNFL и pRNFL) при ОХ, ППГ и стадите на периметрична глаукома (начална, средноразвита и напреднала).

Показател	ОХ	ППГ	Начална глаукома	Средноразвита глаукома	Напреднала глаукома
	AUROC	AUROC	AUROC	AUROC	AUROC
Sup pRNFL	0.364	0.694	0.866	0.903	0.983
Inf pRNFL	0.472	0.820	0.867	0.957	0.999
Nas pRNFL	0.486	0.627	0.643	0.731	0.874
Temp pRNFL	0.428	0.678	0.687	0.719	0.893
Total pRNFL	0.412	0.791	0.900	0.947	0.993
Sup mRNFL	0.514	0.839	0.886	0.907	0.996
Inf mRNFL	0.563	0.864	0.907	0.951	0.997
Total mRNFL	0.535	0.879	0.929	0.989	1.000

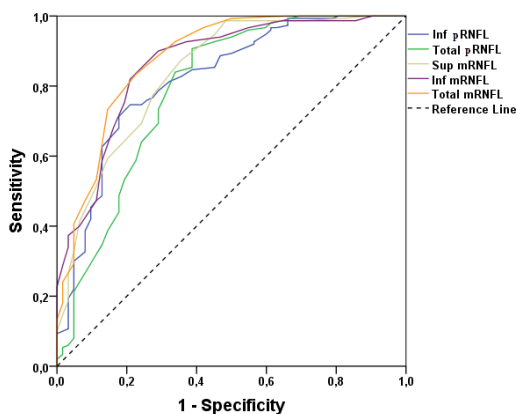
За изпълнение на така поставената задача, ние анализирахме диагностичната точност на 8 параметрични променливи (Sup pRNFL, Inf pRNFL, Nas pRNFL, Temp pRNFL, Total pRNFL, Sup mRNFL, Inf mRNFL, Total mRNFL). В таблица 4.7.1 са

показани стойностите на AUROC за изброените по-горе параметри, като всяка една група бе сравнена с контролната (*Приложение 5*).

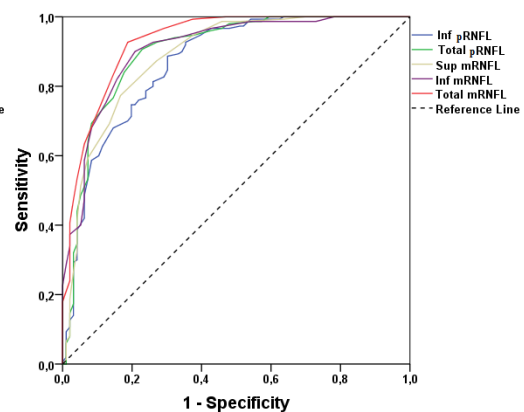
С най-голям диагностичен потенциал в групата на ОХ е Inf mRNFL (0.563) и тъй като резултатите от задача 1 показаха липса на статистически значима разлика в промяната на стойностите на RNFL параметрите между здрави и пациенти с ОХ, по-късно чувствителност, специфичност и диагностични възможности на показателите в тази група не се разглеждат, поради липсата на клиничното им приложение. С най-голям диагностичен потенциал в групата на ППГ (0.879) и трите стадия на периметрична глаукома (0.929, 0.989 и 1.000) е Total mRNFL, следван от Inf mRNFL и Inf pRNFL. С най-ниска диагностична точност при всички групи са Nas pRNFL, Temp pRNFL и Sup pRNFL.

Стойностите на AUROC определят диагностичния потенциал на Total mRNFL като по-висок от Total pRNFL в групите на ППГ и периметрична глаукома.

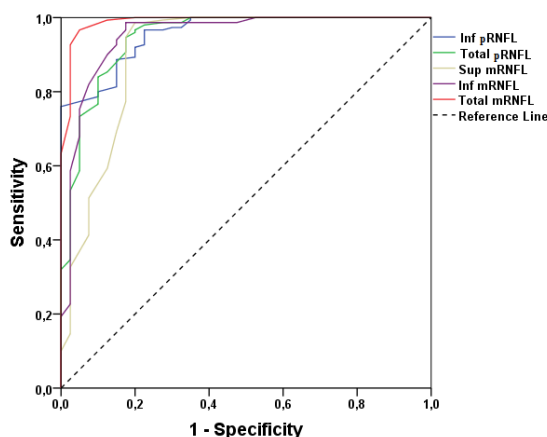
ROC - криви по групи:



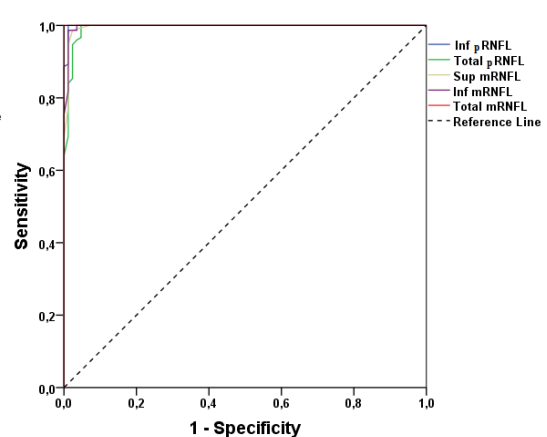
Фиг. 4.7.1. ППГ



Фиг. 4.7.2. Начална глаукома



Фиг. 4.7.3. Средноразвита глаукома



Фиг. 4.7.4. Напреднала глаукома

За 5-те показателя с най-големи диагностични възможности (**Табл. 4.7.1**) за стадияте на ППГ и периметрична глаукома (Inf pRNFL, Total pRNFL, Sup mRNFL, Inf

mRNFL и Total mRNFL) се построиха графики - ROC криви по групи (Фиг. 4.7.1 - 4.7.4). Представени по този начин графиките дават възможност за визуално съпоставяне на резултатите в границите на изследваната група.

Направи се сравнителен анализ на диагностичните възможности между 5-те показателя в изследваните групи с цел да се анализира наличието или липсата на статистически значима разлика. От таблица 4.7.2 се вижда, че има установени само две с значими различия между AUROC на Sup mRNFL (0.907) и Total mRNFL (0.989) в стадий на средноразвита периметрична глаукома. Другата значима разлика се открива в стадий на начална периметрична глаукома между AUROC на Total mRNFL (0.929) и Inf pRNFL (0.867). Независимо, че с най-големи диагностични възможности за препериметрична и периметрична глаукома е Total mRNFL резултатите не показват по-големи възможности от тези на другите показатели с изключение на двата споменати вече примера.

Табл. 4.7.2. Сравнителен анализ на 5-те показателя с най-голяма AUROC.

Сравнения на AUROC		Контроли vs.			
		ППГ	Начална глаукома	Средноразвита глаукома	Напреднала глаукома
		p	p	p	p
Sup mRNFL	Inf mRNFL	0.587	0.486	0.280	0.806
Sup mRNFL	Total mRNFL	0.339	0.136	0.019	0.238
Sup mRNFL	Inf pRNFL	0.680	0.571	0.178	0.469
Sup mRNFL	Total pRNFL	0.329	0.673	0.327	0.603
Inf mRNFL	Total mRNFL	0.702	0.410	0.115	0.275
Inf mRNFL	Inf pRNFL	0.315	0.204	0.832	0.601
Inf mRNFL	Total pRNFL	0.125	0.796	0.884	0.451
Total mRNFL	Inf pRNFL	0.172	0.041	0.050	0.339
Total mRNFL	Total pRNFL	0.062	0.296	0.068	0.132
Inf pRNFL	Total pRNFL	0.558	0.326	0.694	0.245

Изчислиха се чувствителност, специфичност и cut-off стойности за същите 5 показателя. В групата на ПППГ, има два показателя с най-високи и почти еднакви чувствителност и специфичност - това са Total mRNFL (чувств. - 0.83; специф. - 0.77) и Inf mRNFL (чувств. - 0.82; специф. - 0.79) (Табл. 4.7.3). Тези два показателя запазват високите си и близки стойности за чувствителност също така и в групата на начална глаукома: Total mRNFL - 0.93 и Inf mRNFL - 0.90. Показателят с най-висока специфичност в същата група е Total pRNFL - 0.89, като след него се подреждат с много близки стойности отново Total mRNFL - 0.81 и Inf mRNFL - 0.79 (Табл. 4.7.4). В групата на средноразвита глаукома с най-висока чувствителност и специфичност е Total mRNFL - 0.97 и 0.95, последван от Inf mRNFL - 0.94 и 0.85 (Табл. 4.7.5). Разликите в чувствителността и специфичността на показателите в групата на

напреднала глаукома намаляват и стойностите са много близки. С най-висока чувствителност и специфичност е Total mRNFL - 1.00, който се последва от Inf pRNFL (1.00; 0.99) и Inf mRNFL (0.99; 0.99) (Табл. 4.7.6).

Чувствителност и специфичност по групи:

Табл. 4.7.3. ППГ

Контролна група vs ППГ			
Показател	Cut-off	Чувств.	Специф.
Inf pRNFL	127.50	0.75	0.76
Total pRNFL	102.50	0.73	0.71
Sup mRNFL	32.50	0.77	0.73
Inf mRNFL	34.50	0.82	0.79
Total mRNFL	33.50	0.83	0.77

Табл. 4.7.4. Начална глаукома

Контролна група vs Начална глаукома			
Показател	Cut-off	Чувств.	Специф.
Inf pRNFL	124.50	0.79	0.76
Total pRNFL	102.50	0.73	0.89
Sup mRNFL	31.50	0.87	0.73
Inf mRNFL	33.50	0.90	0.79
Total mRNFL	32.50	0.93	0.81

Табл. 4.7.5. Средноразвита глаукома

Контролна група vs Средноразвита гл.			
Показател	Cut-off	Чувств.	Специф.
Inf pRNFL	119.50	0.85	0.85
Total pRNFL	99.50	0.85	0.88
Sup mRNFL	30.50	0.95	0.83
Inf mRNFL	31.50	0.94	0.85
Total mRNFL	31.50	0.97	0.95

Табл. 4.7.6. Напреднала глаукома

Контролна група vs Напреднала глаукома			
Показател	Cut-off	Чувств.	Специф.
Inf pRNFL	99.00	1.00	0.99
Total pRNFL	94.50	0.96	0.96
Sup mRNFL	29.00	0.99	0.98
Inf mRNFL	29.50	0.99	0.99
Total mRNFL	28.50	1.00	1.00

На таблица 4.7.7 е показана площта под кривата за перепериметрична и стадията на периметрична глаукома на показателите - Total mRNFL, Total GCL+ (слой на ганглийните клетки/GCL + вътрешен плексиформен слой/IPL) и Total GCL++ (GCL+IPL+mRNFL) от протокола Glaucoma Analysis - Macula. С най-ниска диагностична възможност за глаукома за всички изследвани групи е GCL+. С най-висока площ под кривата в стадий на перепериметрична и начална глаукома е GCL++

(0.919, 0.932), в стадий на средноразвита глаукома е mRNFL (0.989), а в стадий на напреднала глаукома двата показателя достигат максимална възможност за диагностика (1.000). За да се установи наличие на значима разлика в диагностичните възможности между показаните параметри се приложи сравнителен анализ и се изчисли коефициента на Пирсън.

Табл. 4.7.7. AUROC на параметрите от картата на GCL в различните групи.

Показател	Контроли vs.			
	ППГ	Начална глаукома	Средноразвита глаукома	Напреднала глаукома
	AUROC	AUROC	AUROC	AUROC
Total mRNFL	0.879	0.929	0.989	1.000
Total GCL+	0.839	0.858	0.939	0.993
Total GCL++	0.919	0.932	0.987	1.000

Табл. 4.7.8. Сравнителен анализ в диагностичните възможности между макулните параметри.

Сравнения на AUROC		Контроли vs.			
		ППГ	Начална глаукома	Средноразвита глаукома	Напреднала глаукома
		p	p	p	p
Total mRNFL	Total GCL+	0.336	0.022	0.024	0.034
Total mRNFL	Total GCL++	0.268	0.897	0.819	1.000
Total GCL+	Total GCL++	0.036	0.018	0.028	0.034

На **таблица 4.7.8** са показани разликите в диагностичните възможности между тоталните стойности на макулните параметри. Значима разлика в диагностичните възможности се наблюдава между Total mRNFL и Total GCL+, както и между Total GCL++ и Total GCL+. Не се наблюдава значима разлика между Total mRNFL и Total GCL++ в нито една от изследвани групи.

4.8. Резултати по задача 5

На част от контролите и пациентите с ПОЪГ (начален и напреднал стадий), се определиха плазмените концентрации на ET-1 и неговия рецептор ET_A като с последващо приложение на дисперсионен анализ се потърси наличие на статистически значима разлика, а посредством корелационен анализ - връзка между нивата на изследваните субстанции и дебелината на RNFL. Анализът на демографските характеристики е представен на **таблица 4.8.1**. От направения χ^2 - тест (Chi-Square = 2.14, df = 2, p=0.342) се установи, че значима връзка между пола и изследваните групи не се наблюдава (p=0.342).

Табл. 4.8.1. Анализ на демографските характеристики.

Група		Пол	N (%)	Средна възраст ± SD
<i>I^{ва}</i>	Контроли 45-71 години	m	6 (27.3)	56.5±8.8
		f	19 (35.8)	
		Общо	25 (33.3)	
<i>II^{ра}</i>	Начален стадий на ПОЪГ 45-82 години	m	5 (22.7)	66.9±8.5
		f	17 (32.1)	
		Общо	22 (29.3)	
<i>III^{та}</i>	Напреднал стадий на ПОЪГ 45-82 години	m	11 (50.0)	66.8±8.46
		f	17 (32.1)	
		Общо	28 (37.0)	
ОБЩО -75 (100%)		m	22 (100)	63.4±8.6
		f	53 (100)	

Максималните, минимални и средни стойности със стандартното отклонение на получените концентрации на хормона и неговия рецептор в трите изследвани групи могат да се видят на **таблица 4.8.2.**

Табл. 4.8.2. Средни стойности на ET-1 и неговия рецептор ET_A.

Група	Показател (pg/ml)	N	Mean	SD	Min	Max
Здрави контроли	ET-1	25	4.88	1.75	2.05	7.79
	ET _A -рецептор	25	1209.28	314.48	774.97	2276.34
Начална глаукома	ET-1	22	6.33	2.38	0.43	8.22
	ET _A -рецептор	22	673.44	283.02	261.24	1386.91
Напреднала глаукома	ET-1	28	6.34	1.56	3.34	8.44
	ET _A -рецептор	28	992.28	264.22	506.17	1501.27

Средната стойност на плазмените нива на ET-1 е по-голяма при пациентите с начална и напреднала глаукома (6.33 и 6.34 pg/ml) в сравнение с контролите (4.88 pg/ml). Плазмените концентрации в групите на начална и напреднала глаукома са почти еднакви. Най-голямата плазмена концентрация на ET-1 бе измерена 8.44 pg/ml в стадий на напреднала глаукома, а най-ниската - 0.43 pg/ml в стадий на начална глаукома. Средната плазмена концентрация на ET_A-рецептора е най-висока в групата на контролите (1209.28 pg/ml), а най-ниска в групата на началната глаукома (673.44 pg/ml). Максимална концентрация на ET_A-рецептор се измери 2276.34 pg/ml в контролната група, на минималната - 261.24 pg/ml в стадий на начална глаукома.

Направи се ANOVA дисперсионен анализ и се установи, че както хормонът така и неговия рецептор търпят статистически значима промяна (**Табл. 4.8.3.**)

Табл. 4.8.3. Резултати от дисперсионния анализ при ET-1 и ET_A-рецептор.

Показател	F	df	p
ET-1	4.90	2;74	0.010
ET _A рец.	20.48	2;74	<0.001

За да се локализира тази промяна, се приложи междугрупов сравнителен анализ, резултатите от който са систематизирани в **таблица 4.8.4** която показва, че има

статистически значима разлика в концентрациите на ET-1 между здрави и болни от глаукома, но не и между болни с начален и напреднал стадий на заболяването. Установи се също така статистически значима разлика в плазмените нива на ET_A рецептор както между здрави и болни, така и между болни с начална и напреднала глаукома.

Табл. 4.8.4. Междугрупов сравнителен анализ на ET-1 и ET_A рецептор в трите изследвани групи.

Показател	Здрави vs Начална гл.	Здрави vs Напреднала гл.	Начална гл. vs Напреднала гл.
	р	р	р
ET-1	0.029	0.018	0.998
ET _A рец.	<0.001	0.021	0.001

С помощта на корелационен анализ се изследва наличие и степен на връзка между изследваните OCT параметри и плазмените нива на ET-1 и ET_A рецептор (**Табл. 4.8.5**). Установи се статистически значима, отрицателна корелационна връзка между ET-1 и mRNFL (Inf mRNFL, Total mRNFL), както и между ET-1 и Inf pRNFL (много близко до статистически значима корелационна зависимост бе и Total pRNFL) Не се намери значима корелационна връзка между ET_A рецептор и RNFL.

Табл. 4.8.5. Корелационна връзка на mRNFL и pRNFL с ET-1 и ET_A рецептор.

Показател		ET-1	ET _A рецептор
Sup mRNFL	R	-0.211	0.136
	р	0.069	0.243
	N	75	75
Inf mRNFL	R	-0.291	0.119
	р	0.011	0.307
	N	75	75
Total mRNFL	R	-0.260	0.128
	р	0.024	0.274
	N	75	75
Sup pRNFL	R	-0.162	0.228
	р	0.165	0.05
	N	75	75
Inf pRNFL	R	-0.256	0.154
	р	0.027	0.187
	N	75	75
Nas pRNFL	R	-0.176	0.040
	р	0.131	0.731
	N	75	75
Temp pRNFL	R	-0.109	0.123
	р	0.354	0.294
	N	75	75
Total pRNFL	R	-0.225	0.172
	р	0.052	0.141
	N	75	75

4.9. Резултати по задача 6

Задачата цели създаването на клинично приложна система, която да дава възможност за бърз, лесен анализ и проследяване на пациенти с ПОЪГ базирана от получените данни на изследваните OCT показатели в настоящия дисертационен труд - mRNFL и pRNFL. За направата на тази система се определиха диагностичните възможности и гранични стойности на базата на cut-off стойностите на показателите чрез прилагане на втори ROC анализ като всяка от групите се съпостави не с контролната група, а с всяка предходна.

Табл. 4.9.1. Гранични стойности на RNFL във всяка изследвана група.

Показател [μm]	ОХ		Препериметрична глаукома		Начална глаукома		Средноразвита глаукома		Напреднала глаукома
	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
Sup mRNFL	35.50	32.50	32.50	29.50	29.50	26.50	26.50	19.50	< 19.50
Inf mRNFL	37.50	34.50	34.50	30.50	30.50	27.50	27.50	19.50	< 19.50
Total mRNFL	36.50	33.50	33.50	29.50	29.50	27.50	27.50	20.50	< 20.50
Inf pRNFL	135.50	127.50	127.50	112.50	112.50	97.50	97.50	76.50	< 76.50
Total pRNFL	108.50	102.50	102.50	93.50	93.50	86.50	86.50	72.50	< 72.50

На **таблица 4.9.1** са показани граничните стойности - max и min в границите на дадена група за петте от изследваните OCT показатели с най-голяма площ под кривата, като по този начин се създава възможност за класификация на структурните изменения при ПОЪГ по количествените стойности на изследваните параметри. Кой/кои показатели имат висока чувствителност и специфичност се вижда от **таблицы 4.9.2 - 4.9.6 (Приложение 6)**.

Чувствителност, специфичност, AUROC, cut-off стойности:

Табл. 4.9.2. Очна хипертензия.

Контроли vs. ОХ	Cut-off	Чувствителност	Специфичност	AUROC
Inf pRNFL	135.50	0.533	0.420	0.472
Total pRNFL	108.50	0.440	0.420	0.412
Sup mRNFL	35.50	0.513	0.560	0.514
Inf mRNFL	37.50	0.587	0.480	0.563
Total mRNFL	36.50	0.533	0.580	0.535

Табл. 4.9.3. Препериметрична глаукома.

ОХ vs ПППГ	Cut-off	Чувствителност	Специфичност	AUROC
Inf pRNFL	127.50	0.760	0.758	0.828
Total pRNFL	102.50	0.760	0.701	0.832
Sup mRNFL	32.50	0.760	0.726	0.823
Inf mRNFL	34.50	0.780	0.790	0.848
Total mRNFL	33.50	0.840	0.774	0.861

Табл. 4.9.4. Начална глаукома.

ППГ vs Начална гл.	Cut-off	Чувствителност	Специфичност	AUROC
Inf pRNFL	112.50	0.613	0.583	0.601
Total pRNFL	93.50	0.597	0.542	0.611
Sup mRNFL	29.50	0.484	0.542	0.612
Inf mRNFL	30.50	0.548	0.573	0.591
Total mRNFL	29.50	0.661	0.531	0.618

Табл. 4.9.5. Средноразвита глаукома.

Начална гл. vs Средноразвита гл.	Cut-off	Чувствителност	Специфичност	AUROC
Inf pRNFL	97.50	0.708	0.650	0.696
Total pRNFL	86.50	0.698	0.625	0.682
Sup mRNFL	26.50	0.698	0.650	0.710
Inf mRNFL	27.50	0.667	0.625	0.705
Total mRNFL	27.50	0.667	0.650	0.735

Табл. 4.9.6. Напреднала глаукома.

Средноразвита гл. vs Напреднала гл.	Cut-off	Чувствителност	Специфичност	AUROC
Inf pRNFL	76.50	0.700	0.647	0.762
Total pRNFL	72.50	0.675	0.647	0.732
Sup mRNFL	19.50	0.725	0.706	0.791
Inf mRNFL	19.50	0.800	0.765	0.873
Total mRNFL	20.50	0.800	0.812	0.901

На таблици 4.9.2 - 4.9.6 са показани чувствителност, специфичност и площ под кривата на петте OCT показателя на RNFL с най-големи диагностични възможности. От горепосочените таблици прави впечатление, че от показателите за pRNFL с най-високи стойности е Inf pRNFL с две изключения в стадий на ПППГ и начална глаукома по отношение площта под кривата, където Total pRNFL е с малко по-високи стойности съответно 0.832 и 0.611. От показателите за mRNFL с най-високи стойности е Total mRNFL с някои изключения, където по-високи, но статистически незначими стойности имат Inf mRNFL и Sup mRNFL.

За да се установи дали в случаите, при които различни от Total mRNFL и Inf pRNFL параметри с по-големи стойности за площ под кривата, чувствителност и специфичност се установява значима разлика се направи допълнителен анализ. При подвойкови сравнения между AUROC, резултатите, от които са представени в таблица 4.9.7 се вижда, че при нито едно не се установява значима разлика. Така параметрите с по-големи стойности на AUROC от Total mRNFL и Inf pRNFL нямат предимство по отношение на диагностичните си възможности, а оттам и за чувствителност и специфичност.

Табл. 4.9.7. Сравнителен анализ.

Група/ Сравнения		р
Очна хипертензия		
Inf mRNFL	Total mRNFL	0.668
Препериметрична глаукома		
Inf pRNFL	Total pRNFL	0.941
Inf mRNFL	Total mRNFL	0.792
Начална глаукома		
Inf pRNFL	Total pRNFL	0.877
Inf mRNFL	Total mRNFL	0.672
Средноразвита глаукома		
Sup mRNFL	Total mRNFL	0.725

За направата на тази система се избраха двата RNFL показателя - Inf pRNFL и Total mRNFL притежаващи най-висока или почти най-високата AUROC, чувствителност и специфичност във всички изследвани групи от протоколите - Circle и Glaucoma Analysis-Macula. Граничните им стойности във всяка група могат да се видят на **таблица 4.9.8.**

Табл. 4.9.8. Гранични стойности на Total mRNFL и Inf pRNFL във всеки стадий.

Показател (µm)	ОХ	ППГ	Начална глаукома	Средноразвита глаукома	Напреднала глаукома
Total mRNFL Glaucoma Analysis - Macula протокол	36.50-33.50	33.50-29.50	29.50-27.50	27.50-20.50	< 20.50
Inf pRNFL Circle - протокол	135.50-127.50	127.50-112.50	112.50-97.50	97.50-76.50	< 76.50

ГЛАВА V - ОБСЪЖДАНЕ

Настоящото проучване, в което бяха включени общо 414 участника разпределени в 6 групи в зависимост от степента на засягане от ПОЪГ (от доброволци с липса на заболяване до пациенти с напреднал стадий), за първи път даде възможност за пълно и обективно анализиране на неврофибрилерния слой на ретината сред българската популация със SD-OCT (Topcon 3D OCT 2000 FA+). Бяха изследвани mRNFL като самостоятелен признак от цялостния GCC и pRNFL чрез общо 8 OCT показателя. Целта на този подробен анализ на характеристиките на RNFL е да се установи до каква степен могат да се потвърдят ранните изменения на показателя в хода на глаукомни изменения в стадий на ППГ и до колко той е полезен в ранната диагностика на заболяването, наблюдава ли се закономерност в измененията с напредване стадия на заболяването и притежава ли потенциал да отразява тези патологични изменения.

5.1. Обсъждане на резултатите по задача 1

Настоящото изследване установи, че дебелината на pRNFL и mRNFL е най-голяма в контролната група и при пациентите с ОХ, като статистически значима разлика между двете групи не се наблюдава в нито един от изследваните осем RNFL параметри и глобалните периметрични индекси - MD и PSD. Според получените резултати в настоящата работа, двата диагностични метода - OCT и SAP не могат да разграничават пациенти с ОХ от здрави лица.

Şahli и съавтори през 2012 г. изследват дебелината на RNFL със SD-OCT при 135 пациента разпределени в три групи - 40 здрави доброволци, 55 пациента с ОХ и 40 пациента с ПОЪГ. Те анализират средната глобална дебелина перипапиларно, средната дебелина в четирите квадранта и часовите зони (на 1, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12 ч.), като установяват, че RNFL е сигнификантно по-тънък в групата на пациентите с ПОЪГ в сравнение с другите две групи. При нито един от тези OCT параметри, обаче, те не намират разлика между контролите и групата на ОХ [232].

Iester и съавтори изследват RNFL с CSLO при 62 контроли и 68 пациента с ОХ. Те също не намират сигнификантна разлика в дебелината между двете групи [233]. Lachkar и съавтори използват Glaucoma-score за да разграничат глаукомно болни от такива с ОХ и контроли И те не установяват сигнификантна разлика между контроли и пациенти с ОХ [234].

Проведени са и други проучвания, които доказват именно обратното становище. Така например Bowd и съавтори през 2000 г. изследват дебелината на RNFL с OCT

2000 при 87 лица - 30 контроли, 28 пациента с ОХ и 29 пациента с ПОЪГ. Средната дебелина на RNFL те намират сигнификантно по-малка при пациентите с ОХ в сравнение с контролната група и изтъняването те изчисляват на приблизително 15% [235].

Schwartz и Takamoto развиват стереофотограметричен метод за измерване дебелината на RNFL по границата на ДЗН. Наличието на перипапиларна атрофия/миопичен конус под формата на хало или полумесец на склерата според тях не оказва влияние във възпроизводимостта на измерванията. Те изследват RNFL при контроли, ОХ и пациенти с ПОЪГ - измерванията установяват, че в групата с ОХ дебелината на неврофибрилерния слой сигнификантно намалява с ~ 18% в сравнение с контролната група [236].

Използвайки SLP, Anton и съавт. отново установяват сигнификантно намаляване дебелината на RNFL при пациенти с ОХ с около 7% [237]. Подобни са резултатите при Tjon-Fo-Sang и съавтори, които също използват SLP [238].

Причини за тези противоречия в резултатите при отделните направени проучвания могат да се обособят като: вариации и особености в дебелината на RNFL при извадката в конкретното проучване, броя на очите в изследващите групи, различия във включващите и изключващи критерии както и коректност при тяхното спазване, а също така и чувствителност на използваните методи за изследване. Независимо от резултатите, които предоставят тези проучвания, в клиничен аспект, а това го доказва и настоящото изследване, все още не е възможно разграничаването на пациенти с ОХ посредством SAP и OCT от здрави индивиди.

Друг наш резултат показва, че от стадий на ОХ до напреднал стадий на периметрична глаукома, дебелината на всички изследвани RNFL показатели намаляват прогресивно. Ние доказваме изтъняването на RNFL с напредване на дегенеративния процес, което е установено от редица други автори без противоречие [232, 235, 239, 240].

Настоящото проучване намира, че глобалните периметрични показатели - MD и PSD се променят статистически в стадий на начална периметрична глаукома, а изследваните от нас RNFL параметри в стадий на ППГ, с което се доказва, че структурните изменения настъпват преди функционалните в зрителното поле. Други автори са получили резултати подобно на нашите [113, 207, 241-243]. Налице е следното обяснение на посочените по-горе резултати според някои автори: при глаукома загиват първо ганглийните клетки с по-големите тела и аксони, докато при исхемичните оптични невропатии загиват ганглийните клетки с по-малките тела и

аксони. Ретинните ганглийни клетки вероятно се свиват и променят морфологично преди да загинат. Превръщат се в дисфункционални в ранните стадии на глаукома. Съществува период на функционален резерв, който позволява загуба на нервни влакна без функционални промени в зрителното поле [65,66]. Съществуват данни за наличие на функционални изменения при липса на структурни такива при някои пациенти с глаукома, дължащи се вероятно на факта, че ганглийните клетки както бе споменато понижават своята функция преди да загинат, със засягане на зрителната им функция и отражения в зрителното поле [65, 66].

5.2. Обсъждане на резултатите по задача 2

Най-ранни сигнификантни промени в стойностите на периметричните показатели MD и PSD се наблюдават в стадий на начална глаукома. След тази степен на засягане с напредване на глаукомните изменения, двата показателя започват прогресивно да се изменят в противоположни посоки - стойностите на MD намаляват, а тези на PSD се увеличават. Тези резултати могат да се видят от **таблица 4.1.3** и **фигура 4.2.1**.

В настоящото проучване се установи статистически значима корелация между всички RNFL параметри и периметричните индекси - MD и PSD. Връзката се намери правопрпорционална за MD и обратнопропорционална за PSD. Най-силна корелационна зависимост с двата периметрични индекса проявява показателят - Total mRNFL ($R= 0.800$ за MD и $R= -0.688$ за PSD), а от показателите отразяващи pRNFL, това е Inf pRNFL ($R= 0.740$ за MD и $R= -0.662$ за PSD).

От съществено значение е да се установи дали съществува връзка между структурни (RNFL или конфигурация на ДЗН) и функционални (зрително поле) изменения при глаукома за поставяне на диагнозата, подход на лечение и проследяване на тези пациенти. Има редица проведени проучвания с тази цел. Някои от тях търсят корелация между локализиран дефект в RNFL установени с TD-OCT / SD-OCT / SLP и зрителното поле.

Капатогі и съавтори през 2008 г. изследват 213 очи с откритоъгълна глаукома и търсят връзка между структурни и функционални изменения. Те установяват, че секторни изменения в дебелината на RNFL сигнификантно се асоциират с такива от SAP [244]. Horn и съавтори също изследват корелация между локални периметрични дефекти и глаукома-индуцирана редукция в дебелината на RNFL измерена в перипапиларната зона със SLP и SD-OCT. И при двата метода се установява по-изразено намаляване дебелината на RNFL в долните и горни сектори в сравнение с назалните и темпорални. За разлика от измерванията с OCT, при които се наблюдава

редукция в темпоралните сектори, при SLP такава не се установява. Намерена е сигнификантна връзка между дефектите в зрителното поле и загубата в дебелината на RNFL при двата метода с изключение на папиломакулното снопче при SLP. Анализите при OCT установяват по-силна корелация между локалните RNFL дефекти и периметрично обусловените аркуатните дефекти в зрителното поле от тези при SLP [245]. El Beltagi и съавтори също изследват корелация между локални изменения в RNFL с OCT и такива в зрителното поле при 40 пациента с глаукома. И те установяват, че локализираните дефекти в RNFL топографски се асоциират с локализирана депресия в ретинната светлочувствителност при пациенти с глаукома [246]. Leite и колектив установяват, че структурните изменения (Cirrus HD-OCT) са сигнификантно свързани с функционалните във всички сектори, с изключение на назалния. Най-силна корелационна връзка те наблюдават между горнотемпорален RNFL и долноназално зрително поле [247].

Şahli и колектив намират статистически значима корелационна връзка между MD и глобалната средна стойност на RNFL, горна / долна / темпорална квадрантна средна стойност, както и в часовите зони на - 1, 2, 5, 6 ч. Установяват и негативна корелация между PSD и RNFL - глобална средна стойност, темпорален квадрант и в часовите зони на - 1 и 2 ч. при пациентите с глаукома. При здравите контроли корелация между RNFL и периметричните връзки не се наблюдава [232].

Ajtony и колектив не установяват корелация между MD и RNFL в групите на контролите и ППГ. Такава наблюдават в групата на очите с ПОЪГ ($R = 0.718$) [248].

Резултатите от много проучвания, вкл. и настоящото, доказват добрата корелация между структурните промени в дебелината на RNFL с функционалните изменения в зрителното поле. Петрова К. в своя дисертационен труд обстойно изследва GCC при пациенти с глаукома и установява статистически значима и висока корелация между глобалните индекси MD и PSD на зрителното поле и изследваните от нея OCT параметри, като най-висока тя е за два показателя, единият от които е RNFL - global loss volume (GLV - отразява общия обем на всяка загуба на дебелина за цялата измервана площ от GCC в %) и AvgRNFL (показва средната дебелина на слоя на 360° около ДЗН), като коефициентът на Пирсън с абсолютна стойност е съответно $R=0.675$ и $r=0.696$ за MD и $r=0.663$ и $r=0.654$ за PSD [249].

Не открихме проучвания, които насочено изследват корелационна зависимост между mRNFL и периметричните индекси - MD и PSD както ние. Фактът, че от всички изследвани RNFL показатели, ние установяваме най-силна корелационна връзка на MD и PSD именно с Total mRNFL изисква по-задълбочен анализ на отделните OCT

параметри от протокола на GCC. Има изследвания, които установяват сигнификантна корелация на цялата макулна дебелина с индексите на зрителното поле, а по-късно когато става ясно че глаукомата засяга вътрешните три слоя на ретината, проучванията установяват, че корелацията с тях е още по-добра.

5.3. Обсъждане на резултатите по задача 3

Като обобщение на резултатите от задача 3 за корелационните връзки между mRNFL и pRNFL, може да се каже, че тези които се запазват значими в трите стадия на периметрична глаукома - начален, средноразвит и напреднал (Табл. 4.6.5 - 4.6.7), са:

1. Sup mRNFL със Sup pRNFL и Total pRNFL
2. Inf mRNFL с Inf pRNFL
3. Total mRNFL и Total pRNFL

Корелационните зависимости са положителни, сигнификантни и показват, че измененията в дебелината на Sup mRNFL, Inf mRNFL и Total mRNFL в хода на глаукомните изменения се асоциират с изменения в стойностите съответно на Sup pRNFL, Inf pRNFL, Total pRNFL.

Добре известно е от много проведени проучвания до момента при пациенти с глаукома, че в хода на патологичния процес дебелината на ретинните слоеве изтъняват. Доказано е, че редукцията в дебелината се дължи на изтъняване на вътрешните слоеве на ретината [188]. Външните слоеве почти не се засягат от дегенеративния процес. Има и редица изследвания, които търсят корелационни зависимости между pRNFL и GCC, но почти липсват такива за pRNFL и mRNFL. Има заболявания и състояния, които оказват влияние върху измерванията на pRNFL и променят неговия профил (като високостепенна миопия, миопичен конус или ППА) а така също и на GCC (макулна дегенерация, витреоретинални взаимодействия). В редица случаи от клиничната практика, когато се изследват пациенти с миопичен конус и съмнение за глаукома, данните от измерванията на GCC могат да се приемат за по-достоверни, а при други пациенти с макулна дегенерация, съответно данните от измерванията на pRNFL. За да се установи дали в рамките на един глаукомен процес промените в GCC съответстват на промените в pRNFL е необходимо да се извърши корелационен анализ, който да ги докаже.

През 2005 г. Ishikawa и колектив развиват софтуерен алгоритъм за автоматична сегментация на ретинните слоеве за Stratus OCT и получените резултати от измерванията сравняват с дебелината на cpNFL (circumpapillary nerve fiber layer -

cpNFL). Те дефинират четири ретинни структурни слоя в макулата, единият от който е mNFL (macular nerve fiber layer - mNFL). Те установяват, че cpNFL и mNFL намаляват сигнификантно при пациентите с глаукома, изследват диагностичните им възможности, но не изследват корелация между тях [172].

Проучвания, чиито корелации се доближават в най-голяма степен на този етап до нашите са тези направени между pRNFL и GCC. Петрова К. (2016 г.) установява статистически значима силна корелация между AvgGCC (средна дебелина на GCC за цялата измервана площ) и AvgRNFL, засилваща се с напредване на глаукомните изменения и с коефициент на Пирсън от 0,566 при ОХ до 0,755 при напреднала глаукома [249].

Seong и колектив изследват корелационна зависимост между MIRL (macular inner retinal layer) и RNFL (от два протокола - RNFL и ONH) със SD-OCT RTVue-100 при пациенти с глаукома. Те установяват силна корелационна връзка между двата параметъра подобно на нашите: средната тотална дебелина на вътрешните макулни слоеве корелира сигнификантно със средната тотална дебелина на pRNFL от двата протокола; горна половина на макулните вътрешни слоеве корелира с горен pRNFL, а долна половина съответно с долен pRNFL от двата протокола [250]:

1. Avg MIRL - Avg RNFL₁ (R=0.773); Avg MIRL - Avg RNFL₂ (R=0.774)
2. Sup MIRL - Sup RNFL₁ (R=0.633); Sup MIRL - Sup RNFL₂ (R=0.638)
3. Inf MIRL - Inf RNFL₁ (R=0.797); Inf MIRL - Inf RNFL₂ (R=0.801)

5.4. Обсъждане на резултатите по задача 4

В настоящото проучване най-големи диагностични възможности от всички изследвани перипапиларни и макулни RNFL параметри за ППГ и трите стадия на периметрична глаукома показва Total mRNFL. При сравнителен анализ на 5-те показателя с най-голяма площ под кривата се установи, че само при две от сравненията mRNFL е със статистически значими по-големи диагностични възможности.

На този етап няма много информация за проучвания, които са насочени към изследване на mRNFL - негови характеристики, корелационни зависимости и диагностични възможности.

Както вече бе споменато през 2005 г. Ishikawa и колектив за първи път развиват софтуерен алгоритъм за автоматична сегментация на ретинните слоеве при Stratus OCT, с който успяват да дефинират четири слоя в макулата - mNFL (macular nerve fiber layer - mNFL); вътрешен ретинен комплекс (inner retinal complex – IRC) състоящ

се ганглийните клетки и вътрешен плексиформен слой и вътрешен нуклеарен слой; външен плексиформен слой (outer plexiform layer - OPL); външен ретинен комплекс (outer retinal complex - ORC), състоящ се от външния нуклеарен слой и вътрешните и външни сегменти на фоторецепторите. При изследване на диагностичните възможности, най-голяма те намират за mNFL+IRC (0.97), а най-малка за OPL (0.56). Диагностичните възможности на OPL и ORC били сигнификантно по-малки от mNFL, IRC, mNFL+IRC и cpNFL ($p \leq 0.01$). AUROC за IRC, mNFL+IRC и cpNFL те установили сигнификантно по-големи от цялата ретинна дебелина ($p \leq 0.049$). Между параметрите с най-добри диагностични възможности - mNFL, IRC, mNFL+IRC и cpNFL не се установили сигнификантни разлики ($p \geq 0.15$). Те открили също така, че дебелината на ORC и OPL почти не се променя при пациентите с глаукома в сравнение с контролите [172].

Още през 2005 г. mRNFL показва възможност за добри диагностични способности като самостоятелен показател. Площта под кривата му, в описаното проучване на Ishikawa, не се разграничава сигнификантно от другите три изследвани показателя с най-добри диагностични стойности (IRC, mNFL+IRC и cpNFL) [172].

В началото на ерата „ОСТ диагностика при глаукома” се установява, че дебелината на цялата ретина намалява. По-късно с въвеждането на SD-OCT в клиничната практика, вътрешните слоеве на макулата (mRNFL, слой на ганглийните клетки и вътрешният плексиформен слой) се обособяват като GCC, който съдържа аксоните, телата и дендритите на ретинните ганглийни клетки [188]. GCC е със сигнификантно по-големи диагностични възможности в сравнение с цялата макулна дебелина.

Според някои автори се предполага, че в хода на глаукомното увреждане, най-рано загиват дендритите на ганглийните клетки, след това са телата, а най-резистентни на увреда са техните аксони. И затова по-правилно е да се измерва GCL+IPL отделно от mRNFL. Други автори са на мнение, че по-точно е измерването на mRNFL+GCL, поради това, че IPL съдържа дендрити освен от ганглийните също и от биполярните клетки.

За да се установи какви са диагностичните възможности на mRNFL спрямо другите макулни параметри от протокола Glaucoma Macula – Analysis се съпоставиха техните резултати. С най-малка площ под кривата е GCL+ (GCL + IPL), а с най-голяма GCL++ (mRNFL+GCL+IPL). За да се разбере дали съществува сигнификантна разлика в площите под кривите за тези параметри, се направи сравнителен анализ, с който се доказа, че сигнификантно по-малки диагностични възможности има GCL+ ($p < 0.05$),

докато между mRNFL и целия ганглийно-клетъчен комплекс не се откри такава разлика.

Mwanza и колектив изследват диагностичните възможности на GCIPL (ganglion-cell+inner plexiform layer), RNFL и параметрите на ДЗН. За разлика от нас, те установяват, че способността на GCIPL за разграничаване на очи с глаукома от здрави очи е голяма (между 0.918 и 0.956) и сравнима с най-добрите параметри на RNFL (между 0.933 и 0.939) и ДЗН (0.910 и 0.962) и не намират значима разлика в диагностичните им възможности [251].

Настоящото проучване доказва, че mRNFL като самостоятелен параметър показва равностойни възможности за диагностика на глаукома в ранните етапи на нейното развитие в сравнение с останалите макулни параметри и показателите отразяващи дебелината на pRNFL.

5.5. Обсъждане на резултатите по задача 5

Получените от нас резултати при изследване плазмените концентрации на ET-1 и рецептор ET_A при здрави контроли и пациенти с ПОЪГ (начален и напреднал стадий) могат да се обобщят по следния начин: установи се значима разлика в концентрациите на ET-1 между контролната и двете глаукомни групи, не се установи такава разлика между двете групи с глаукома; средната стойност ET-1 расте в групите както следва: контролна група < пациенти с начален стадий < пациенти с напреднала глаукома; откри се статистически значима разлика в средната стойност на ET_A рецептор между трите изследвани групи; средната стойност на ET_A рецептор расте в групите както следва: пациенти с начална глаукома < пациенти с напреднала глаукома < контролна група; открива се слаба, но значима корелация между Inf mRNFL/Total mRNFL/Inf pRNFL и ET-1; не се открива значима връзка между ET_A рецептор и RNFL.

Повишеното ВОН е основен рисков фактор за развитие на глаукома, но последствията от заболяването зависят от много други фактори, чиито молекулярни механизми не са много добре дефинирани. Лечението на пациентите с глаукома цели понижаване на ВОН, но то не винаги е ефективно и се асоциира с редица локални и общи странични реакции. За да се подобри грижата за пациентите е необходимо адекватно лечение. Ключова стъпка към разработването на нов вид лечение е определянето на основните молекулярни механизми в патогенезата на глаукома [252].

Съществуват изкуствено създадени модели на глаукома при различни видове животни и представляват ефективен начин за разбиране патофизиологичните процеси на заболяването. Проучвания при човешки и нечовешки примати установяват, че

ранните увреждания на ретинните ганглийни клетки възникват на ниво аксони в ДЗН. Същото важи и за опитни модели мишки с глаукома, чиито аксони са атакувани в зрителния нерв [253]. Изследванията до момента показват, че аксоните на ганглийните клетки се увреждат директно при глаукома, но могат да се засегнат и други части на клетките като тялото, дендритите и синапсите. Не е съвсем изяснено дали ранните специфични промени в ретината са зависими или независими от началните увреждания в ДЗН.

През 2006 г. Kunimatsu S. et al. [254] съобщават техни резултати на плазмените концентрации на ET-1 при изследване на три групи: контроли - 19, ПОЪГ - 18 и NTG - 30 на възраст под 60 години. Получените от нас средни стойности на ET-1 са по-големи от тези на японските пациенти както в контролната така и в глаукомната група. И те установяват по-големи стойности на ET-1 при пациентите с ПОЪГ (1.58 ± 0.64 pg/ml) в сравнение с контролната група (1.33 ± 0.50 pg/ml), но без статистическа значимост (**Табл. 5.5.1**).

Друг авторски колектив начело с Chen през 2013 г. [255] публикува резултати от изследване на плазмените концентрации на ET-1 (контролна група - 37, ПОЪГ - 31, NTG - 18) и корелационна връзка между ET-1, промените в зрителното поле (MD) и дебелината на pRNFL. Въпреки значимо по-високите стойности на ендотелин в групите на ПОЪГ и NTG в сравнение с контролната група, статистическа значимост отново не се установява (**Табл. 5.5.1**), а така също и значима корелационна връзка със структурните (pRNFL) и функционални промени (MD).

Други два авторски колектива също не установяват значима разлика в плазмените нива на ET-1 между здрави и болни с ПОЪГ (**Табл. 5.5.1**) [218, 223]. Nicolela и колектив установяват значима разлика на ET-1 между контролната група и тази с глаукома, но след прилагане на „cooling test“, при който ET-1 при пациентите с глаукома нараства, а в контролната група почти не води до промяна [218].

Табл. 5.5.1. Проучвания изследващи нивата на плазмения ET-1 при боли от ПОЪГ.

Автор/Година	Плазмен ET-1		Статистическа разлика
	Контроли (pg/ml)	Глаукома (pg/ml)	
Kunimatsu S. [254]	1.33 ± 0.50 (19)	1.58 ± 0.64 - ПОЪГ (18)	Не
		1.49 ± 0.51 - NTG (30)	Не
Chen H. [255]	1.53 ± 1.49 (37)	3.27 ± 1.25 - ПОЪГ (31)	Не
		3.12 ± 1.46 - NTG (18)	Не
Cellini M. [256]	1.75 ± 0.25 (20)	2.83 ± 0.28 - ПОЪГ (20)	Да ($p < 0.001$)
Nicolela M. [218]	2.56 ± 1.36 (27)	2.81 ± 1.29 - ПОЪГ (43)	Не
Tezel G. [223]	-	-	Не ($p = 0.07$)

През 2012 г. Cellini M. et al. [256] изследват плазмените нива на ET-1 при 20 контроли и 20 пациенти с ПОЪГ. Също като нас, те не само установяват по-големи стойности на ET-1 при пациентите с глаукома, но също и значима статистическа разлика в концентрацията между здравите и болни - 1.75 ± 0.25 pg/ml vs. 2.83 ± 0.28 pg/ml ($p < 0.001$) (Табл. 5.5.1).

От проучените публикации, изследващи плазмените нива на ET-1, само при едно се установява значимост между здрави и пациенти с ПОЪГ. Тъй като нивата на плазмения ET-1 се влияе от редица заболявания касаещи ендокринната и сърдечно-съдовата система резултатите много лесно могат да се компрометират. Има данни, че за стойностите на ET-1 е от значение дори състоянието на пациента (спокойно или след физически усилия), както и положението на тялото при взимане на кръв - седнало или легнало.

Резултатите в настоящото проучване, показват че в контролната група нивата на ET-1 са най-ниски, а тези на ET_A рецептора най-високи и обратно, при напреднала глаукома нивата на ET-1 са най-високи, а тези на рецептора - по-ниски. Тази закономерност в промяната може да бъде обяснена по следния начин: за да осъществи действието си, ET-1 се нуждае от своя рецептор. Когато нивата на хормона са ниски, организмът се „презастрахова“ като компенсаторно повишава продукцията на рецепторите за да не се пропусне някоя от малкото молекули ендотелин в кръвта. Подобна обратна връзка се наблюдава при желязото и трансферина под формата на желязо-свързващ капацитет (ЖСК). Когато има желязонеодоимъчна анемия, ЖСК се повишава и организмът започва да продуцира повече от свързващия го белтък трансферин за да не изпусне малкото желязо в несвързано състояние.

И обратно, когато концентрацията на ET-1 е висока, възможните обяснения за реакция на организма са две: 1) той не е „стриктен“ и понижава производството на рецептора, чрез който става взаимодействието или 2) организмът не се нуждае от голямо количество ендотелин и нивата на рецептора да са механизма, чрез който се оказва контрол върху използването му - при хормоните, обратимата възможност за свързване с белтъци ги превръща в неактивни, но те продължават да циркулират в кръвта и се превръщат в депо за организма, като при необходимост чрез промяна в свързването отново се превръщат в активни. Ако те не са свързани бързо се катаболизират и излъчват.

За да определят функционално ролята на ендотелиновата система при глаукома, Howell et al. прилагат босентан - антагонист на ендотелиновия рецептор при DBA/2J - мишки. Избран е босентан тъй като е антагонист на двата вида рецептори и не променя

кръвното налягане. Освен това е показано, че той повишава очния кръвен ток при пациенти с глаукома [215]. Босентан, обаче, сигнификантно редуцира глаукома при 10.5 и 12.0 месечни мишки. Протекцията се установи особено силна при 10.5 месечни мишки, където в 80% от третираниите очи не е открита забележима глаукома в сравнение само с 39% от нелекуваните очи. Тези експерименти доказват ранното въвличане на ендотелиновата система в този модел глаукома. Ендотелиновите рецепторни антагонисти дават обещаващи данни на този етап от тяхното проучване за нов вид лечение на глаукома [253].

5.6. Обсъждане на резултатите по задача 6

За създаването на приложна система, която дава възможност за бърз анализ на резултатите и проследяване на пациентите с ПОЪГ на базата на структурни промени в RNFL бяха избрани два показателя - Total mRNFL и Inf pRNFL.

Тоталният mRNFL е показателят с най-висок диагностичен потенциал във всички изследвани групи, проявява най-силна статистически значима корелация с глобалните периметрични индекси - MD и PSD, и запазва значима корелационна зависимост в трите стадия на периметрична глаукома с Inf pRNFL. Този показател може да се ползва като универсален за направата на тази приложна система.

Както вече бе споменато, редица фактори могат да променят профила на mRNFL, което не винаги прави неговите измерени стойности достоверни. Затова бе избран втори показател, който отразява измененията в pRNFL. Inf pRNFL е сред най-добрите диагностични параметри от перипапиларните показатели. В групите с по-голяма диагностична точност на някой от другите изследвани перипапиларни показатели се направи сравнителен анализ, който доказва липса на всякаква сигнификантна разлика, което доказва, че Inf pRNFL не е по-слаб диагностичен параметър.

Вследствие на направения анализ се избраха най-добрият макулен и най-добрият перипапиларен RNFL показател. Когато профилът на единия е нарушен и получените резултати не са реални, то може да използваме данните от другия RNFL. Предложената от нас приложна система се базира на конкретни стойности, получени от изследването на голям брой пациенти във всяка група, а това я прави обективна.

Подобна методика за определяне стадия е направена от Петрова К. през 2016 г. за RTVue-100 SD-OCT. Избрани са двата показателя с най-голяма диагностична точност във всички изследвани групи, а именно GLV и AvgGCC. За разлика от нас са избрани два параметъра от картата на GCC [249].

Тошев А. 2014 г. разработва класификация на глаукомните стадии базирана на структурните промени в параметрите на ДЗН за HRT-II. Той не включва RNFL в

своята система, въпреки, че е един от показателите с доказани възможности в областта на ранната глаукомна диагностика, защото неговото измерване е приоритет на OCT апаратите, при които аксиалната разделителна способност позволява това да се извърши директно, за разлика от CSLO, където това е индиректно. Авторът намира смисъл да се комбинират двете технологии, с което ще се даде възможност показателят - дебелина на RNFL да се прибави към така разработената от него система [150].

Предложената от нас приложна система е изцяло клинично ориентирана и е създадена за улеснение на ежедневната дейност на офталмолога базирана на структурните изменения в дебелината на RNFL. Като нейн недостатък може да се посочи основно ограниченото ѝ приложение в границите на OCT изследване с Topcon 3D OCT апарат, тъй като отделните апарати са с различни софтуерни алгоритми за сегментация. И тези особености ще се отразяват върху съпоставянето на резултатите от различните апарати. Тази система с предложените гранични стойности на RNFL в отделните стадии не е прилагана при друг OCT апарат, затова при клиничната ѝ употреба трябва да се обърне внимание и на приложимостта.

5.7. Изводи

1. OCT е методика с доказани във времето възможности за оценка на ранните структурни изменения при глаукома. Разграничителната ѝ възможност за откриване на структурни изменения преди появата на вече функционални в зрителното поле я прави обещаващо образно-диагностично изследване за ежедневно приложение в клиничната практика.
2. Липса на сигнификантна разлика в стойностите на RNFL показателите установени с OCT и глобалните индекси от SAP - MD и PSD между здрави и пациенти с ОХ. Приложението на OCT при тази група пациенти е ценен метод за проследяване и ранно откриване на структурни изменения в RNFL.
3. Показателите - Nas pRNFL и Temp pRNFL не се променят сигнификантно с напредване на глаукомните изменения, не се установява сигнификантна корелационна зависимост между тях и mRNFL, притежават най-слаби диагностични възможности от всичките 8 изследвани RNFL - параметри. Тези показатели не показват значимост при диагностиката и проследяването на пациенти с ПОЪГ.

4. При всички RNFL - показатели се установява сигнификантно добра корелация с измененията в зрителното поле, но в най-голяма степен с MD и PSD корелира Total mRNFL.
5. От всички изследвани RNFL показатели с най-големи възможности за диагностика на ППГ и трите стадия на периметрична глаукома - начален, средноразвит и напреднал, се установи макулния параметър - Total mRNFL.
6. Измененията в mRNFL корелират значимо с тези на pRNFL и тази връзка се запазва значима във всички стадии на периметрична глаукома.
7. Доказва се ролята на ендотелиновата система в патогенезата на глаукомните изменения, но не и за степента на увреждане, като се установиха значимо по-високи плазмени нива на ET-1 и ET_A-рецептор при пациентите с глаукома в сравнение със здрави контроли, но не се установи такава разлика между пациентите с начален и напреднал стадий на заболяването.
8. Total mRNFL и Inf pRNFL са двата показателя избрани за създаването на приложна система за бърз анализ и проследяване на пациенти с ПОЪГ. Параметрите отразяват дебелината на RNFL в различни области на ретината - макулен и перипапиларен, в случай на компрометиране профила на единия с възможност за използване данните на другия.

ГЛАВА VI - ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Чрез настоящия дисертационен труд се анализираха подробно осем RNFL - параметри, три от които макулни - Sup mRNFL, Inf mRNFL, Total mRNFL и пет перипапиларни - Sup pRNFL, Inf pRNFL, Nas pRNFL, Temp pRNFL и Total pRNFL при 414 доброволци и пациенти от различен стадий на ПОЪГ на възраст от 45 до 84 години с ОСТ. За да се установи какви са възможностите за диагностика на ранните глаукомни промени на тези показатели, участниците в проучването се разпределиха в 6 групи в зависимост от степента на засягане - от липса на заболяване до напреднали изменения.

Резултатите от изпълнението на 6 поставени задачи показаха, че ОСТ е една обещаваща диагностична методика с много добри възможности за ранно откриване на глаукомните промени, която не спира своето развитие и усъвършенстване в посока на подобряване скоростта на изследване, резолюцията на образите, пенетрацията и т.н. ОСТ доказва своите възможности за откриване на ранни структурни изменения в дебелината на RNFL, преди те да са оказали ефект функционално с дефекти в зрителното поле. Освен това статистически се потвърдиха добрите и сравними с GCS, диагностични възможности на RNFL в макулата и перипапиларно.

В настоящото клинично проучване за първи път се изследва mRNFL като самостоятелен макулен показател за ранна диагностика на глаукома сред българската популация, като от всички анализирани RNFL параметри, той се оказа с най-големи диагностични възможности във всички изследвани групи. GCL+ се установи статистически, че е с по-слаби диагностични възможности от mRNFL, а GCL++ със статистически еднакви на mRNFL възможности. Total mRNFL като показател за дебелината на неврофибрилерния слой на макулата е носител на еднакво количество информация в сравнение с показателя GCL++, който отразява дебелината на трите вътрешни слоя на макулата (mRNFL, GCL, IPL) при пациенти с глаукома.

Само ОСТ не може да се разглежда като достатъчен диагностичен метод за глаукома. Изисква знания и опит от страна на изследващия за правилна интерпретация на получените стойности съвместно с резултатите от другите диагностични методи. Необходимо е ОСТ да бъде включен като задължителен елемент от цялостния диагностичен пакет за изследвания при пациенти с глаукома.

ГЛАВА VII – ПРИНОСИ

ПРИНОСИ С НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕН ХАРАКТЕР

1. Направи се детайлен обзор на литературата за морфологичните характеристики и патологичните промени на ретинния неврофибрилерен слой при глаукома.
2. Направи се обстоен обзор на литературата за методите на изследване на ретинния неврофибрилерен слой с акцент върху оптичната кохерентна томография.
3. Направи се подробен обзор на литературата за ролята на ендотелините в патогенезата на глаукомата.

ПРИНОСИ С НАУЧНО-ПРИЛОЖЕН ХАРАКТЕР

1. При голям брой контроли и пациенти от различни стадии на ПОЪГ се извърши оценка на промените при RNFL - определиха се диагностичните възможности, направи се сравнителен анализ с макулните параметри и се провери наличие на корелация с периметричните изменения.
2. За първи път се прави подробен анализ на mRNFL като самостоятелен макулен показател при пациенти с глаукома.
3. Извърши се сравнителен анализ на диагностичните възможности между mRNFL и pRNFL.
4. За първи път се изследваха плазмените нива на ендотелин-1 и неговия рецептор ендотелин-А при пациенти с глаукома с цел да се определи ролята им в патогенезата на глаукома.
5. Създаде се приложна система с клинична ориентация за бърз анализ на резултатите и проследяване на пациенти с ПОЪГ на базата на структурните изменения в RNFL за Topcon 3D OCT.

ПРИНОСИ С ПОТВЪРДИТЕЛЕН ХАРАКТЕР

1. Потвърди се значимостта на оптичната кохерентна томография като образно-диагностичен метод и RNFL като показател за доказване на ранните препериметрични промени в хода на глаукомното увреждане.
2. Получените резултати потвърдиха наличието на сигнификантна корелационна зависимост между структурните изменения установени с оптична кохерентна томография и промените в зрителното поле чрез стандартна автоматична периметрия.
3. Потвърди се ролята на ендотелиновата система в патогенезата на глаукома.
4. Потвърди се възможността за успешно създаване на приложна система за бърз анализ на резултатите и проследяване на пациенти с глаукома на базата на структурните изменения RNFL при пациенти с ПОЪГ.

ПРОТОКОЛ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ НА ПАЦИЕНТИ

Име: Пол: m/f Възраст: г.

Диагноза:

Придружаващи очни заболявания:

Придружаващи общи заболявания:

Анамнеза:

.....

Фамилна анамнеза:

.....

Провеждано лечение (общо и очно):

.....

Status ophthalmicus

OD	OS
AR _{OD} : VOD = TOD = mmHg (Goldmann) CCT _{OD} = μm (.....)	AR _{OS} : VOS = TOS = mmHg (Goldmann) CCT _{OS} = μm (.....)
ПОС -	ПОС -
Леща -	Леща -
Ст. Тяло -	Ст. тяло -
Фундус на широки зеници: Папила -	Фундус на широки зеници: Папила -
Макула - Съдове -	Макула - Съдове -

Компютърна периметрия:

.....

ОСТ:

.....

Бележки, препоръки:

.....



Circle Report OU

3D OCT-2000FA plus(Ver.8.11)

Print Date :



ID :

Ethnicity :

Technician :

Name:

Gender : Male
DOB :

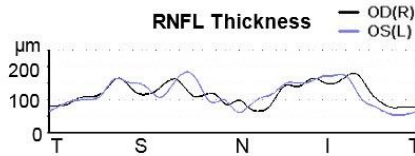
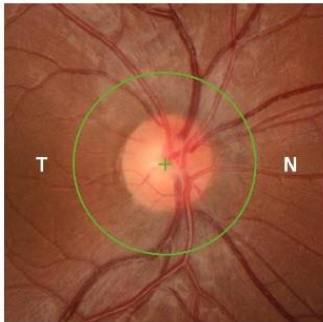
Fixation : OD(R) Disc / OS(L) Disc
Scan : Circle(Dia.3.4mm - 1024)

OD(R)

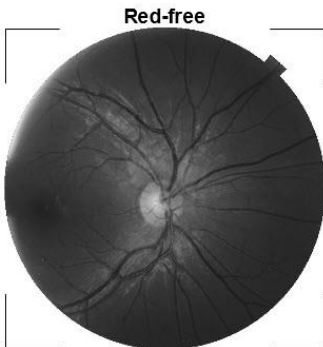
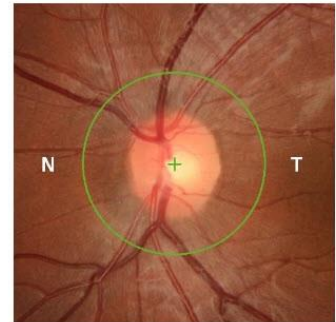
Image Quality : **58** mode : Fine(1.1.0)
Capture Date :

mode : Fine(1.1.0) Image Quality : **58**
Capture Date :

OS(L)

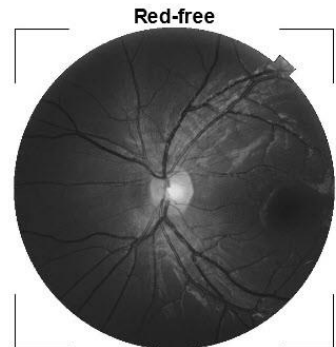


RNFL Symmetry **77%**

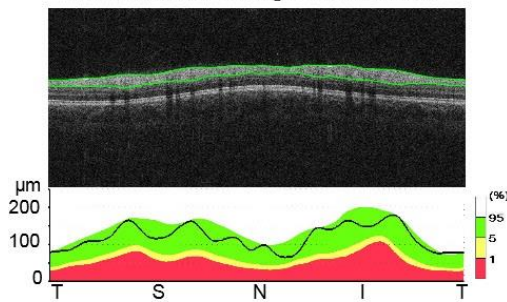


Average thickness RNFL(µm)

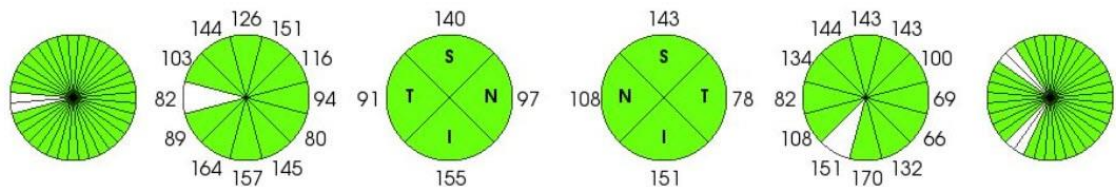
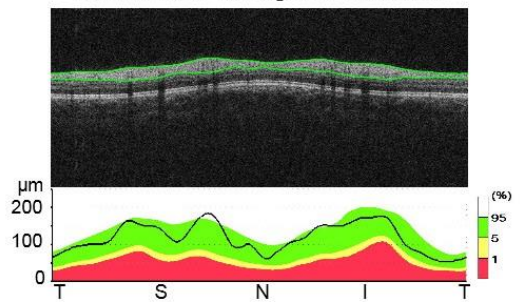
121	Total Thickness	120
140	Superior	143
155	Inferior	151



RNFL Circular Tomogram / Thickness



RNFL Circular Tomogram / Thickness



Comments :

Signature :

Date :

Glaucoma Analysis - Macula

3D OCT-2000FA plus(Ver.8.11)

Print Date :



ID :

Ethnicity :

Technician :

Name:

Gender :

Fixation : OD(R) Macula

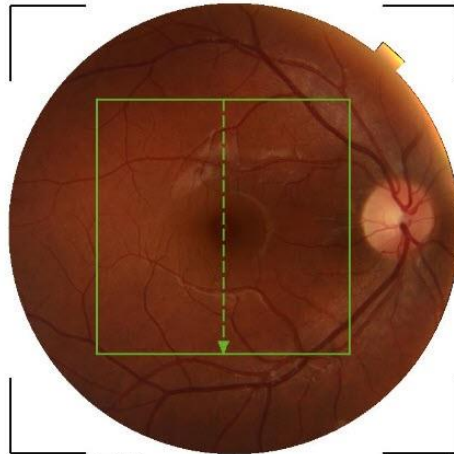
DOB :

Age :

Scan : 3D(V)(7.0 x 7.0mm - 512 x 128)

OD(R)

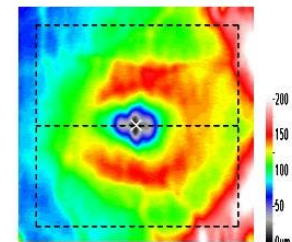
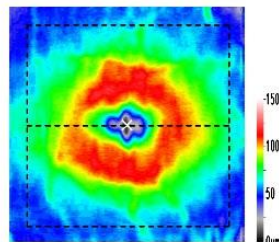
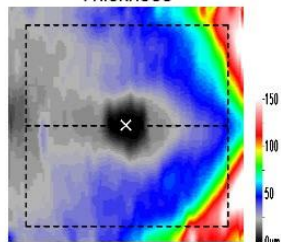
Image Quality : **58** mode : Fine(1.1.0)
Capture Date :



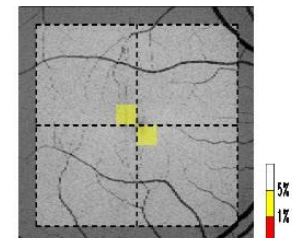
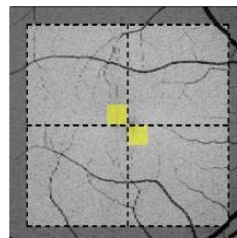
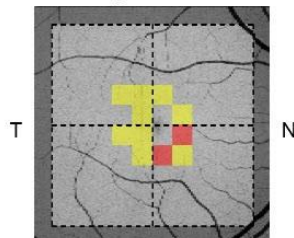
RNFL
Thickness

GCL+

GCL++



Significance



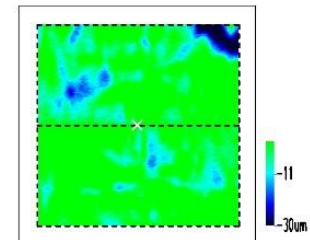
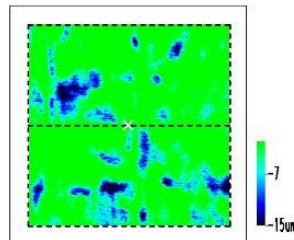
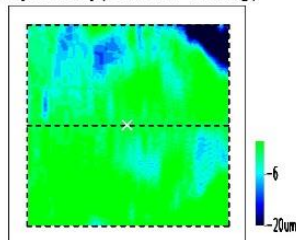
Average(6mm x 6mm)

Superior	35 um
Inferior	38 um
Total	37 um

Superior	79 um
Inferior	78 um
Total	79 um

Superior	114 um
Inferior	117 um
Total	115 um

Asymmetry(Relative Thinning)



Comments :

Signature :

Date :

Описательна статистика

Показател	Здрави контроли (n=150)				
	Mean	Median	SD	Min	Max
MD	-0,24	-0,20	1,30	-2,35	2,76
PSD	1,72	1,67	0,38	0,47	2,87
Sup mRNFL	36,09	36,00	4,30	27,00	49,00
Inf mRNFL	39,22	38,00	5,27	26,00	54,00
Total mRNFL	37,67	37,00	4,23	30,00	49,00
Sup pRNFL	122,31	122,00	12,09	91,00	151,00
Inf pRNFL	136,86	136,00	14,46	104,00	181,00
Nas pRNFL	90,55	89,00	14,73	59,00	128,00
Temp pRNFL	81,62	81,00	11,76	59,00	121,00
Total pRNFL	107,84	107,00	7,95	90,00	130,00

Показател	ОХ (n=50)				
	Mean	Median	SD	Min	Max
MD	-0,05	-0,15	1,15	-1,89	3,16
PSD	1,59	1,57	0,32	0,95	2,25
Sup mRNFL	36,46	35,00	5,77	26,00	56,00
Inf mRNFL	38,16	38,00	4,69	30,00	50,00
Total mRNFL	37,30	36,00	4,67	30,00	50,00
Sup pRNFL	128,70	129,00	14,86	96,00	186,00
Inf pRNFL	137,66	137,00	14,65	105,00	171,00
Nas pRNFL	92,24	90,00	18,47	60,00	147,00
Temp pRNFL	85,92	84,50	16,12	59,00	128,00
Total pRNFL	111,14	111,00	10,25	89,00	144,00

Показател	ППГ (n=62)				
	Mean	Median	SD	Min	Max
MD	-0,60	-0,83	1,13	-2,25	1,86
PSD	1,82	1,83	0,33	1,15	2,57
Sup mRNFL	30,58	29,00	3,75	24,00	41,00
Inf mRNFL	31,34	31,00	5,01	17,00	43,00
Total mRNFL	31,05	30,50	4,06	21,00	42,00
Sup pRNFL	111,34	110,00	17,17	80,00	154,00
Inf pRNFL	115,74	117,50	18,14	66,00	154,00
Nas pRNFL	81,98	81,00	19,99	44,00	126,00
Temp pRNFL	74,26	72,00	14,88	44,00	119,00
Total pRNFL	95,92	96,50	12,26	70,00	125,00

Показател	Начална глаукома (n=96)				
	Mean	Median	SD	Min	Max
MD	-2,73	-2,76	1,85	-6,00	2,32
PSD	3,72	3,25	1,73	1,72	11,23
Sup mRNFL	28,90	29,00	4,90	16,00	49,00
Inf mRNFL	29,44	30,00	5,81	5,00	43,00
Total mRNFL	29,21	29,00	4,37	18,00	41,00
Sup pRNFL	101,47	103,50	14,18	65,00	132,00
Inf pRNFL	108,05	110,00	22,62	58,00	174,00
Nas pRNFL	82,23	81,00	18,00	43,00	134,00
Temp pRNFL	72,98	70,00	15,62	34,00	130,00
Total pRNFL	90,81	92,00	12,48	63,00	136,00

Показател	Средноразвита глаукома (n=40)				
	Mean	Median	SD	Min	Max
MD	-8,65	-8,59	1,77	-11,87	-5,55
PSD	7,84	7,99	2,66	2,69	13,66
Sup mRNFL	24,60	24,50	6,85	13,00	41,00
Inf mRNFL	25,05	26,00	7,04	12,00	44,00
Total mRNFL	25,00	26,00	4,75	15,00	35,00
Sup pRNFL	90,38	89,00	20,29	50,00	129,00
Inf pRNFL	90,53	89,50	23,59	45,00	126,00
Nas pRNFL	74,58	71,50	19,36	34,00	110,00
Temp pRNFL	69,28	68,50	17,88	38,00	107,00
Total pRNFL	81,15	83,50	15,28	51,00	111,00

Показател	Напреднала глаукома (n=85)				
	Mean	Median	SD	Min	Max
MD	-21,44	-19,98	5,81	-31,87	-12,09
PSD	9,26	9,94	3,15	2,36	15,65
Sup mRNFL	16,78	17,00	6,58	4,00	33,00
Inf mRNFL	14,20	13,00	6,33	3,00	35,00
Total mRNFL	15,48	16,00	5,58	4,00	27,00
Sup pRNFL	77,47	76,00	16,26	39,00	120,00
Inf pRNFL	69,22	71,00	15,03	37,00	118,00
Nas pRNFL	66,99	65,00	16,63	32,00	134,00
Temp pRNFL	60,35	59,00	15,76	31,00	144,00
Total pRNFL	68,46	68,00	12,32	42,00	104,00

ROC - анализ от задача 4

0 - Здрави контроли 1 - ОХ 2 - ППГ 3 - Начална глаукома
4 - Средноразвита глаукома 5 - Напреднала глаукома

Показател	0-1				
	AUROC	SE	p	95% CI	
Sup pRNFL	0,364	0,046	0,004	0,273	0,454
Inf pRNFL	0,472	0,048	0,553	0,378	0,566
Nas pRNFL	0,486	0,049	0,762	0,390	0,581
Temp pRNFL	0,428	0,050	0,126	0,330	0,526
Total pRNFL	0,412	0,049	0,062	0,316	0,508
Sup mRNFL	0,514	0,049	0,771	0,418	0,610
Inf mRNFL	0,563	0,046	0,182	0,473	0,653
Total mRNFL	0,535	0,048	0,463	0,441	0,628

Показател	0-2				
	AUROC	SE	p	95% CI	
Sup pRNFL	0,694	0,044	0,000	0,608	0,780
Inf pRNFL	0,820	0,033	0,000	0,755	0,885
Nas pRNFL	0,627	0,047	0,004	0,535	0,718
Temp pRNFL	0,678	0,044	0,000	0,592	0,764
Total pRNFL	0,791	0,038	0,000	0,715	0,866
Sup mRNFL	0,839	0,032	0,000	0,777	0,901
Inf mRNFL	0,864	0,029	0,000	0,808	0,920
Total mRNFL	0,879	0,028	0,000	0,824	0,934

Показател	0-3				
	AUROC	SE	p	95% CI	
Sup pRNFL	0,866	0,023	0,000	0,821	0,912
Inf pRNFL	0,867	0,024	0,000	0,820	0,915
Nas pRNFL	0,643	0,037	0,000	0,570	0,716
Temp pRNFL	0,687	0,037	0,000	0,615	0,759
Total pRNFL	0,900	0,022	0,000	0,857	0,943
Sup mRNFL	0,886	0,023	0,000	0,842	0,931
Inf mRNFL	0,907	0,020	0,000	0,869	0,946
Total mRNFL	0,929	0,017	0,000	0,895	0,963

Показател	0-4				
	AUROC	SE	p	95% CI	
Sup pRNFL	0,903	0,030	0,000	0,843	0,962
Inf pRNFL	0,957	0,014	0,000	0,929	0,985
Nas pRNFL	0,731	0,052	0,000	0,628	0,833
Temp pRNFL	0,719	0,054	0,000	0,614	0,825
Total pRNFL	0,947	0,022	0,000	0,904	0,989
Sup mRNFL	0,907	0,034	0,000	0,840	0,974
Inf mRNFL	0,951	0,023	0,000	0,907	0,995
Total mRNFL	0,989	0,008	0,000	0,973	1,000

Показатель	0-5				
	AUROC	SE	p	95% CI	
Sup pRNFL	0,983	0,007	0,000	0,970	0,997
Inf pRNFL	0,999	0,001	0,000	0,996	1,000
Nas pRNFL	0,874	0,027	0,000	0,822	0,926
Temp pRNFL	0,893	0,024	0,000	0,846	0,939
Total pRNFL	0,993	0,004	0,000	0,985	1,000
Sup mRNFL	0,996	0,003	0,000	0,990	1,000
Inf mRNFL	0,997	0,003	0,000	0,992	1,000
Total mRNFL	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000

ROC-анализ от задача 6

0 vs 1

Показатель	AUROC	SE	p	95% CI	
Inf pRNFL	0,472	0,048	0,553	0,378	0,566
Total pRNFL	0,412	0,049	0,062	0,316	0,508
Sup mRNFL	0,514	0,049	0,771	0,418	0,610
Inf mRNFL	0,563	0,046	0,182	0,473	0,653
Total mRNFL	0,535	0,048	0,463	0,441	0,628

1 vs 2

Показатель	AUROC	SE	p	95% CI	
Inf pRNFL	0,828	0,039	<0,001	0,751	0,905
Total pRNFL	0,832	0,038	<0,001	0,758	0,906
Sup mRNFL	0,823	0,039	<0,001	0,747	0,899
Inf mRNFL	0,848	0,036	<0,001	0,777	0,919
Total mRNFL	0,861	0,035	<0,001	0,793	0,929

2 vs 3

Показатель	AUROC	SE	p	95% CI	
Inf pRNFL	0,601	0,045	0,033	0,512	0,689
Total pRNFL	0,611	0,047	0,019	0,520	0,702
Sup mRNFL	0,612	0,045	0,018	0,525	0,699
Inf mRNFL	0,591	0,046	0,054	0,501	0,681
Total mRNFL	0,618	0,045	0,012	0,530	0,706

3 vs 4

Показатель	AUROC	SE	p	95% CI	
Inf pRNFL	0,696	0,050	<0,001	0,598	0,794
Total pRNFL	0,682	0,053	0,001	0,578	0,786
Sup mRNFL	0,710	0,056	<0,001	0,600	0,819
Inf mRNFL	0,705	0,051	<0,001	0,604	0,805
Total mRNFL	0,735	0,047	<0,001	0,644	0,827

4 vs 5

Показатель	AUROC	SE	p	95% CI	
Inf pRNFL	0,762	0,050	<0,001	0,664	0,860
Total pRNFL	0,732	0,051	<0,001	0,632	0,832
Sup mRNFL	0,791	0,042	<0,001	0,710	0,873
Inf mRNFL	0,873	0,032	<0,001	0,809	0,937
Total mRNFL	0,901	0,028	<0,001	0,847	0,955

СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Ангелов Б, Михайлова Б. Влияние на естрогените за развитието и прогресията на глаукомата. Български форум глаукома 2013; 3(3):127-31.
2. Михайлова Б, Ангелов Б. Изследване на ретинния неврофибрилерен слой с оптична кохерентна томография при здрави очи. Български форум глаукома 2014; 4(1):30-5.
3. Михайлова Б, Тошев А, Костова Ст, и съавт. Изследване на макула и диск на зрителния нерв с Торсон 3D OCT при диагностициране на глаукома. Сравнителен анализ. Глаукоми 2015; 4(2):24-30.
4. Mihaylova B, Petkova I, Rankova-Yotova Ch, Dimitrova G, et al. Plasma endothelin-1 and endothelin-A receptor concentrations in patients with primary open-angle glaucoma. Biotechnology and Biotechnological Equipment 2016 - одобрена за публикация.

УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Михайлова Б, Ангелов Б. Изследване на симетрията в дебелината на ретинния неврофибрилерен слой между дясно и ляво око с RTVue-100 при здрави очи. VII международен симпозиум на Фондация „Национална Академия Глаукома”. София, Хотел Форум, 1.11.2014 г.
2. Тошев А, Михайлова Б, Бенова М, и колектив. Изследване на макула и диск на зрителния нерв с Торсон 3D OCT при диагностициране на глаукома. Сравнителен анализ. XIII Симпозиум на Национална Глаукомна Асоциация. София, хотел Шератон, 20-21.03.2015 г.
3. Михайлова Б. Изследване дебелината на ретинния неврофибрилерен слой и неговата физиологична асиметрия между двете очи при здрави деца и възрастни индивиди. XXXI Конференция Новости в Офталмологията. Правец, хотел Риу Правец, 27-29.11.2015 г. Презентацията печели наградата на млад учен за научен принос на името на Проф. Стоимен Дъбов.
4. Михайлова Б. Изследване на макулните параметри (mRNFL, GCL+, GCL++) при здрави деца и млади възрастни с Торсон 3D OCT. XIV Симпозиум на Национална Глаукомна Асоциация. София, хотел Шератон, 18-19.03.2016 г. Презентацията печели награда „Млад учен”.

УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЕКТИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Спечелен проект към Медицински Университет - София, конкурс „Млад изследовател - 2015”, на тема „Изследване на плазмените концентрации на Ендотелин-1 и неговия рецептор Ендотелин-А при пациенти с глаукома и оценка на промените в ретинния неврофбрилерен слой”, по Договор № 4-Д/2015 г., Проект № 236/14.01.2015 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. American Academy of Ophthalmology. BCSC 2015/2016. Glaucoma. Chapter 1 - Introduction to Glaucoma: Terminology, Epidemiology, and Heredity.
2. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020; Br J Ophthalmol 2006; 90:262-7.
3. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, et al. Global data on visual impairment in the year 2002. Bull World Health Organ 2004; 82:844-51.
4. Quigley HA, Sanchez RM, Dunkelberger GR, et al. Chronic glaucoma selectively damages large optic nerve fibers. Invest Ophthalmol Vis Sci 1987; 28(6):913-20.
5. Kyari F, Abdull MM, Bastawrous A, et al. Epidemiology of glaucoma in sub-saharan Africa: prevalence, incidence and risk factors. Middle East Afr J Ophthalmol 2013; 20(2):111-25.
6. Narayanaswamy A, Baskaran M, Zheng Y, et al. The prevalence and types of glaucoma in an urban Indian population: the Singapore Indian eye study. Invest Ophthalmol Vis Sci 2013; 54(7):4621-7.
7. Grant WM, Burke JF Jr. Why do some people go blind from glaucoma? Ophthalmol 1982; 89:991-8.
8. Leske MC, Heijl A, Hussein M, et al. Factors for glaucoma progression and the effect of treatment: The Early Manifest Glaucoma Trial. Arch Ophthalmol 2003; 121:48-56.
9. Burr JM, Mowatt G, Hernandez R, et al. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of screening for open-angle glaucoma: a systematic review and economic evaluation. Health Technol Assess 2007; 11:1-190.
10. Quigley HA. New paradigms in the mechanisms and management of glaucoma. Eye (Lond) 2005; 19(12):1241-8.
11. European Glaucoma Society. Terminology and Guidelines for Glaucoma. 4th Edition, 2014.
12. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, et al. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. Ophthalmol 2014; 121(11):2081-90.
13. Coleman AL, Miglior S. Risk factors for glaucoma onset and progression. Surv Ophthalmol 2008; 53(1):S3-10.
14. Le A, Mukesh BN, McCarty CA, et al. Risk factors associated with the incidence of open-angle glaucoma: the visual impairment project. Invest Ophthalmol Vis Sci 2003; 44(9):3783-9.

15. Czudowska MA, Ramadas WD, Wolfs RC, et al. Incidence of glaucomatous visual field loss: a ten-year follow-up from the Rotterdam Study. *Ophthalmol* 2010; 117(9):1705-12.
16. Leske MC, Wu SY, Hennis A, et al. Risk factors for incident open-angle glaucoma: the Barbados Eye Studies. *Ophthalmol* 2008; 115(1):85-93.
17. Jiang X, Varma R, Wu S, et al. Baseline risk factors that predict the development of open-angle glaucoma in a population: the Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmol* 2012; 119(11):2245-53.
18. Tielsch JM, Katz J, Singh K, et al. A population-based evaluation of glaucoma screening: the Baltimore Eye Survey. *Am J Epidemiol* 1991; 134(10):1102-10.
19. Klein BE, Klein R, Sponsel WE, et al. Prevalence of glaucoma. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmol* 1992; 99(10):1499-504.
20. Dielemans I, Vingerling JR, Wolfs RC, et al. The prevalence of primary open-angle glaucoma in a population-based study in The Netherlands. The Rotterdam Study. *Ophthalmol* 1994; 101(11):1851-5.
21. Varma R, Ying-Lai M, Francis BA, et al. Prevalence of open-angle glaucoma and ocular hypertension in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmol* 2004; 111(8):1439-48.
22. Mitchell P, Smith W, Attebo K, Healey PR. Prevalence of open-angle glaucoma in Australia. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmol* 1996; 103: 1661-9.
23. Javitt J, Tielsch J, Sommer A, et al. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *JAMA* 1991; 266(3):369-74.
24. Nouri-Mahdavi K, Hoffman D, Coleman AL, et al. Predictive factors for glaucomatous visual field progression in the Advanced Glaucoma Intervention Study. *Ophthalmol* 2004; 111(9):1627-35.
25. Mason RP, Kosoko O, Wilson MR, et al. National survey of the prevalence and risk factors of glaucoma in St. Lucia, West Indies. Part I. Prevalence findings. *Ophthalmol* 1989; 96(9):1363-8.
26. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, et al. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *JAMA* 1991; 266(3):369-74.
27. Quigley HA, West SK, Rodriguez J, et al. The prevalence of glaucoma in a population-based study of Hispanic subjects: Proyecto VER. *Arch Ophthalmol* 2001; 119(12):1819-26.

28. Dandona L, Dandona R, Srinivas M, et al. Open-angle glaucoma in an urban population in Southern India: the Andhra Pradesh eye disease study. *Ophthalmol* 2000; 107(9):1702-9.
29. Iwase A, Suzuki Y, Araie M, et al. The prevalence of primary open-angle glaucoma in Japanese: The Tajimi Study. *Ophthalmol* 2004; 111(9):1641-8.
30. Miglior S, Pfeiffer N, Torri V, et al. European Glaucoma Prevention Study Group. Predictive factors for open-angle glaucoma among patients with ocular hypertension in the European Glaucoma Prevention Study. *Ophthalmol* 2007; 114(1):3-9.
31. Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, et al. The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002; 120(6):714-20.
32. Foster PJ, Baasanhu J, Alsbirk PH, et al. Glaucoma in Mongolia. A population-based survey in Hovsgol province, northern Mongolia. *Arch Ophthalmol* 1996; 114:1235-41.
33. Foster PJ, Machin D, Wong TY, et al. Determinants of intraocular pressure and its association with glaucomatous optic neuropathy in Chinese Singaporeans: the Tanjong Pagar Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44(9):3885-91.
34. Leske MC, Connell AM, Schachat AP, et al. The Barbados Eye Study. Prevalence of open angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1994; 112:821-9.
35. Esterman B. Grid for scoring visual fields. I. Tangent screen. *Arch Ophthalmol* 1967; 77:780-6.
36. Bengtsson B, Leske MC, Hyman L, et al. Early Manifest Glaucoma Trial Group. Fluctuation of intraocular pressure and glaucoma progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmol* 2007; 114(2):205-9.
37. Heijl A, Leske MC, Bengtsson B; Early Manifest Glaucoma Trial Group. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. *Arch Ophthalmol* 2002; 120(10):1268-79.
38. Kim M, Kim DM, Park KH, et al. Intraocular pressure reduction with topical medications and progression of normal-tension glaucoma: a 12-year mean follow-up study. *Acta Ophthalmol* 2013; 91(4):e270-5.
39. Wilenski T, Gieser K, Dietshe L. Individual variability in the diurnal intraocular pressure curve. *Ophthalmol* 1993; 100:940-4.
40. Wolfs RC, Klaver CC, Ramrattan RS, et al. Genetic risk of primary open-angle glaucoma. Population-based familial aggregation study. *Arch Ophthalmol* 1998; 116(12):1640-5.

41. Leske MC, Nemesure B, He Q, et al. Patterns of open-angle glaucoma in the Barbados Family Study. *Ophthalmol* 2001; 108(6):1015-22.
42. Wu J, Hewitt AW, Green CM, et al. Disease severity of familial glaucoma compared with sporadic glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2006; 124(7):950-4.
43. Leske MC, Heijl A, Hyman L, et al. Predictors of long-term progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmol* 2007; 114(11):1965-72.
44. Nemesure B, Wu S, Hennis A, et al. Corneal thickness and intraocular pressure in Barbados eye study. *Arch Ophthalmol* 2003; 121(2):240-4.
45. Topouzis F, Wilson MR, Harris A, et al. Risk factors for primary open-angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma in the Thessaloniki eye study. *Am J Ophthalmol* 2011; 152(2):219-28 e1.
46. Kuzin AA, Varma R, Reddy HS, et al. Ocular biometry and open-angle glaucoma: the Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmol* 2010; 117(9):1713-9.
47. Perera SA, Wong TY, Tay WT, et al. Refractive error, axial dimensions, and primary open-angle glaucoma: the Singapore Malay Eye Study. *Arch Ophthalmol* 2010; 128(7):900-5.
48. Glaucoma Laser Trial Research Group. The Glaucoma Laser Trial (GLT): Subgroup differences at enrollment. *Ophthalmic Surg* 1993; 24:232-41.
49. The AGIS Investigators. The Advanced Glaucoma Investigation Study: The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. *Am J Ophthalmol* 2000; 130:429-40.
50. Leske MC, Connell AM, Wu SY, et al. Risk factors for open-angle glaucoma. The Barbados Eye Study. *Arch Ophthalmol* 1995; 113(7):918-24.
51. Hulsman CA, Vingerling JR, Hofman A, et al. Blood pressure, arterial stiffness, and open-angle glaucoma: the Rotterdam Study. *Arch Ophthalmol* 2007; 125(6):805-12.
52. Memarzadeh F, Ying-Lai M, Chung J, et al. Blood pressure, perfusion pressure, and open-angle glaucoma: the Los Angeles Latino Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(6):2872-7.
53. Zheng Y, Wong TY, Mitchell P, et al. Distribution of ocular perfusion pressure and its relationship with open-angle glaucoma: the Singapore Malay Eye Study. *Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(7):3399-404.
54. Gherghel D, Orgul S, Gugleta K, et al. Relationship between ocular perfusion pressure and retrobulbar blood flow in patients with glaucoma with progressive damage. *Am J Ophthalmol* 2000; 130(5):597-605.

55. Flammer J, Orgul S, Costa VP, et al. The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 2002; 21(4):359-93.
56. Grieshaber MC, Mozaffarieh M, Flammer J, et al. What is the link between vascular dysregulation and glaucoma? *Surv Ophthalmol* 2007; 52 Suppl 2:S144-54.
57. Tielsch J, Katz J, Sommer A, et al. Hypertension, perfusion pressure and primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1995; 113:216-21.
58. Jonas JB, Gusek GC, Naumann GOH. Optic disk, cup and neuroretinal rim size, configuration, and correlations in normal eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29:1151-8.
59. Panda-Jonas S, Jonas JB, Jakobczyk M, et al. Retinal photoreceptor count, retinal surface area, and optic disc size in normal human eyes. *Ophthalmol* 1994; 101:519-23.
60. Танев В, Танев И. Възможности за визуализация на неврофибрилерния слой на ретината. *Глаукоми* 2006; 99-112.
61. Hood DC, Raza AS, de Moraes CG, et al. Glaucomatous damage of the macula. *Prog Retin Eye Res* 2013; 32:1-21.
62. Quigley HA. Quantitative studies of retinal nerve fiber layer loss in monkey and human glaucoma. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1987; 84:920-66.
63. Самсонова Б, Гугучкова-Янчулева Пр. Анализ на фактори, от които зависи дебелината на ретинния неврофибрилерен слой и ширината на невроретиналния пръстен (част II). *Български форум глаукома* 2014; 4(5):201-7.
64. Самсонова Б, Гугучкова-Янчулева Пр. Анализ на фактори, от които зависи дебелината на ретинния неврофибрилерен слой и ширината на невроретиналния пръстен (част I). *Български форум глаукома* 2014; 4(4):161-8.
65. Samsonova B. Curious discrepancies between functional and structural findings in patients with glaucoma and suspicious for glaucoma (part 1). *Bul Forum Gl* 2013; 3(1):10-4.
66. Samsonova B. Curious discrepancies between functional and structural findings in patients with glaucoma and suspicious for glaucoma (part 2). *Bul Forum Gl* 2013; 3(2):60-72.
67. Budenz DL, Anderson DR, Varma R, et al. Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by Stratus OCT. *Ophthalmol* 2007; 114:1046-52.
68. Dolman CL, McCormik AQ, Drance SM. Ageing and the optic nerve. *Arch Ophthalmol* 1980; 98:2053-8.
69. Balazi AG, Rootman J, Drance SM, et al. The effect of age on the nerve fiber population of the optic nerve. *Am J Ophthalmol* 1989; 97:760-6.

70. Johnson BM, Miao M, Sadun AA. Age-related decline of human optic nerve axon populations. *AGE* 1987; 10(1):5-9.
71. Repka MX, Quigley HA. The effect of age on normal human optic nerve fiber number and diameter. *Ophthalmol* 1989; 96:26-32.
72. Balazsi AG, Rootman J, Drance SM, et al. The effect of age on the nerve fiber population of the human optic nerve. *Am J Ophthalmol* 1984; 97:760-6.
73. Mikelberg FS, Drance SM, Schuler M, et al. The normal human optic nerve. *Ophthalmol* 1989; 96:1325-8.
74. Jonas JB, Muller-Berg JA, Schlotzer-Schrehardt UM, et al. Histomorphometry of the human optic nerve. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31:736-44.
75. Jonas JB, Schmidt AM, Muller-Berg JA, et al. Human optic nerve fibre count and optic disc size. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33:2012-8.
76. Tjon-Fo-Sang MJ, de Vries J, Lemij HG. Measurement by nerve fiber analyzer of retinal nerve fiber layer thickness in normal subject and patients with ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 1996; 122:220-7.
77. Poinoosawmy D, Fontana L, Wu JX, et al. Variation of nerve fiber layer thickness measurements with age and ethnicity by scanning laser polarimetry. *Br J Ophthalmol* 1997; 81:350-4.
78. Da Pozzo S, Iacono P, Marchesan R, et al. The effect of aging on retinal nerve fiber layer thickness: an evaluation by scanning laser polarimetry with variable corneal compensation. *Acta Ophthalmol Scand* 2006; 84:375-9.
79. Toprac B, Yilmaz F. Relation of optic disc topography and age to thickness of retinal nerve fiber layer as measured using scanning laser polarimetry in normal subjects. *Br J Ophthalmol* 2000; 84:473-8.
80. Budenz DL, Anderson DR, Varma R, et al. Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by Stratus OCT. *Ophthalmol* 2007; 114:1046-52.
81. Quigley HA, Dunkelberger GR, Green WR. Retinal ganglion cell atrophy correlated with automated perimetry in human eyes with glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1989; 107:453-64.
82. Varma R, Bazzaz S, Lai M. Optical tomography-measured retinal nerve fiber layer in normal Latinos. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44:3369-73.
83. 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; 113:586-96.

84. Kerrigan-Baumrind LA, Qiugley HA, Pease ME, et al. Number of ganglion cells in glaucoma eyes compared with treshold visual field tests in the same persons. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(3):741-8.
85. Parikh RS, Parikh SR, Sekhar GC, et al. Normal age-related decay of retinal nerve fiber layer thickness. *Ophthalmol* 2007;114:921-6.
86. Feuer WJ, Budenz DL, Anderson DR, et al. Topographic differences in the age-related changes in the retinal nerve fiber layer of normal eyes measured by Stratus optical coherence tomography. *J Glaucoma* 2011; 20:133-8.
87. Sung KR, Wollstein G, Bilonick RA, et al. Effects of age on optical coherence tomography measurements of healthy retinal nerve fiber layer, macula, and optic nerve head. *Ophthalmol* 2009; 116:1119-24.
88. Alasil T, Wang K, Keane P, et al. Analysis of normal retinal nerve fiber layer thickness by age, sex, and race using spectral domain optical coherence tomography. *J Glaucoma* 2013; 22(7):532-41.
89. Xu L, Chen PP, Chen YY, et al. Quantitative nerve fiber layer measurement using scanning laser polarimetry and modulation parameters in the detection of glaucoma. *J Glaucoma* 1998; 7:270-7.
90. Михайлова Б. Изследване дебелината на ретинния неврофибрилерен слой и неговата физиологична асиметрия между двете очи при здрави деца и възрастни индивиди с Торсон ОСТ. *Български офталмологичен преглед* 2016; 1:3-15;
91. Savini G, Zanini M, Carelli V, et al. Correlation between retinal nerve fiber layer thickness and optic nerve head size: an optical coherence tomography study. *Br J Ophthalmol* 2005; 89:489-92.
92. Dichtl A, Jonas JB, Naumann G. Retinal nerve fiber layer in human eyes. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237:474-9.
93. Leunq CK, Mohamed S, Leung KS, et al. Retinal nerve fiber measurements in myopia: An optical coherence tomography study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47(12):5171-6.
94. El-Dairi MA, Asrani SG, Enyedi LB, et al. Optical coherence tomography in eyes of normal children. *Arch Ophthalmol* 2009; 127(1): 50-8.
95. Hirasawa H, Tomidokoro A, Araie M, et al. Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness determined by spectral-domain optical coherence tomography in ophthalmologically normal eyes. *Arch Ophthalmol* 2010; 128:1420-6.
96. Cohen MJ, Kaliner E, Frenkel S, et al. Morphometric analysis of human peripapillary retinal nerve fiber layer thickness. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49:941-4.

97. Apple DJ, Fabb MF. Clinicopathologic correlation of ocular disease: a text and stereoscopic atlas. 1978; 39-44.
98. Yanoff M, Fine BS. Ocular Pathology: A Text and Atlas. Harper & Row Philadelphia. 1982; 513-4.
99. Bozkurt B, Irkeç M, Gedik S, et al. Effect of peripapillary chorioretinal atrophy on GDx parameters in patients with degenerative myopia. *Clin Exp Ophthalmol* 2002; 30:411-4.
100. Hood DC, Fortune B, Arthur SN, et al. Blood vessel contributions to retinal nerve fiber layer thickness profiles measured with optical coherence tomography. *J Glaucoma* 2008; 17(7):519-28.
101. Rader J, Feuer WJ, Anderson DR. Peripapillary vasoconstriction in the glaucomas and the anterior ischemic optic neuropathies. *Am J Ophthalmol* 1994; 117:72-80.
102. Hood DC, Salant JA, Arthur SN, et al. The location of the inferior and superior temporal blood vessels and interindividual variability of the retinal nerve fiber layer thickness. *J Glaucoma*. 2010; 19:158-66.
103. Resch H, Brelva B, Resch-Wolfslehner C, et al. Position of retinal blood vessels correlates with retinal nerve fibre layer thickness profiles as measured with GDx VCC and ECC. *Br J Ophthalmol* 2011; 95:680-4.
104. Stone J, Itin A, Alon T, et al. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci* 1995; 15:4738-47.
105. Stalmans I, Ng YS, Rohan R, et al. Arteriolar and venular patterning in retinas of mice selectively expressing VEGF isoforms. *J Clin Invest* 2002; 109:327-36.
106. Berry M, Butt AM, Wilkin G. Structure and function of glia. *Greenfield's Neuropathology*, 7th edition, 2002; pp 75-122.
107. Qu S, Sun XT, Xu W, et al. Analysis of peripapillary retinal nerve fiber layer thickness of healthy Chinese from northwestern Shanghai using Cirrus HD-OCT. *Int J Ophthalmol* 2014; 7(4):654-8.
108. Wang YX, Pan Z, Zhao L, et al. Retinal nerve fiber layer thickness. The Beijing Eye Study 2011. *PLOS One* 2013; 8(6):e66763.
109. Wollstein G, Beaton S, Paunescu A, et al. Optical coherence tomography in glaucoma. In: Schuman JS, Puliafito CA, Fujimoto JG, eds. *Optical coherence tomography of ocular diseases*. Thorofare, NJ: SLACK Inc. 2004; 483-610.

110. Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, et al. Use of progressive glaucomatous optic disk change as the reference standard for evaluation of diagnostic tests in glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2005; 139:1010-8.
111. Blumenthal EZ, Weinreb RN. Assessment of the retinal nerve fiber layer in clinical trials of glaucoma neuroprotection. *Surv Ophthalmol* 2001; 45(Suppl 3):S305-S312; S332-S334.
112. Wu H, De Boer J, Chen T. Diagnostic capability of spectral-domain optical coherence tomography for glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2012; 153(5):815-26.
113. Sommer A, Katz J, Quigley HA, et al. Clinically detectable nerve fiber atrophy precedes the onset of glaucomatous field loss. *Arch Ophthalmol* 1991; 109(1):77-83.
114. Harwerth RS, Carter-Dawson L, Shen F, et al. Ganglion cell losses underlying visual field defects from experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40:2242-50.
115. Krader CG. Pre-perimetric glaucoma: To treat or not to treat? *Ophthalmology times* 2011.
116. Lleó-Pérez A, Ortuño-Soto A, Rahhal, Sanchis-Gimeno JA. Relationship between visual field sensitivity and retinal nerve fiber layer thickness measured by scanning laser polarimetry and optical coherence tomography in normal, ocular hypertensive and glaucomatous eyes. *J Optom* 2009; 2:39-50.
117. Weinreb RN, Friedman DS, Fechtner RD, et al. Risk assessment in the management of patients with ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 2004; 138:458-67.
118. Jonas JB, Budde WM, Panda-Jonas S. Ophthalmoscopic evaluation of the optic nerve head. *Surv Ophthalmol* 1999; 43:293-320.
119. Jonas JB, Nguyen NX, Naumann GO. The retinal nerve fiber layer in normal eyes. *Ophthalmol* 1989; 96:627-32.
120. Airaksinen PJ, Drance SM, Douglas GR, et al. Diffuse and localized nerve fiber loss in glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1984; 98:566-71.
121. Tuulonen A, Airaksinen PJ. Initial glaucomatous optic disk and retinal nerve fiber layer abnormalities and their progression. *Am J Ophthalmol* 1991; 111:485-90.
122. Jonas JB, Schiro D. Localized wedge shaped defects of the retinal nerve fibre layer in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1994; 78:285-90.
123. Lee J, Kim J, Kee C. Characteristics of patients with a localized retinal nerve fiber defects and normal optic disc appearance. *Eye* 2012; 26:1473-8.

124. Leung CK, Choi N, Weinreb RN, et al. Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical coherence tomography: pattern of RNFL defects in glaucoma. *Ophthalmol* 2010; 117:2337-44.
125. Suh MH, Kim DM, Kim YK, et al. Patterns of progression of localized retinal nerve fiber layer defect on red-free fundus photographs in normal-tension glaucoma. *Eye* 2010; 24:857-63.
126. Hasnain SS. The missing piece in glaucoma? *Open J Ophthalmol* 2016; 6:56-62.
127. Владимирова З, Чернинкова С. Оптично-кохерентна томография при пациенти с множествена склероза с остър оптичен неврит. *Българска Неврология* 2013; 14(1):25-30.
128. Demir MN, Eksioglu U, Altay M, et al. Retinal nerve fiber layer thickness in chronic renal failure without diabetes mellitus. *Eur J Ophthalmol* 2009; 19:1034-8.
129. Park KA, Oh SY. Retinal nerve fiber layer thickness in prematurity is correlated with stage of retinopathy of prematurity. *Eye* 2015; 29:1594-602.
130. Rhee DJ. Color atlas & synopsis of clinical ophthalmology. Wills Eye Institute. Glaucoma. 2nd edition 2012. Chapter 6 - Optic nerve imaging; 64-81. Chapter 7 - Evaluation of the optic nerve and nerve fiber layer; 82-98.
131. Fingeret M, Medeiros FA, Susanna R, et al. Five rules to evaluate the optic disc and retinal nerve fiber layer for glaucoma. *Optom* 2005; 76:661-8.
132. Trobe JD, Glaser JS, Cassady J, et al. Nonglaucomatous excavation of the optic disc. *Arch Ophthalmol* 1980; 98:1046.
133. Dreher AW, Reiter K. Retinal laser ellipsometry: A new method for measuring the retinal nerve fiber layer thickness distribution? *Clin Vision Sci* 1992; 7:481-8.
134. Dreher AW, Reiter K. Scanning laser polarimetry of the retinal nerve fiber layer. *SPIE* 1992; 1746:34-41.
135. Dreher AW, Bailey ED. Assessment of the retinal nerve fiber layer by scanning-laser polarimetry. *SPIE* 1993; 1877:266-71.
136. Knighton RW, Huang X, Zhou Q. Microtubule contribution to the reflectance of the retinal nerve fiber layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39:189-93.
137. Alberts B, Bray D, Lewis J, et al. The cytoskeleton. *Molecular biology of the cell*, Second edition. New York, United States of America: Garland Publishing, Inc., 1989; chap. 11.
138. Knighton RW, Huang XR. Analytical methods for scanning laser polarimetry. *Opt Exp* 2002; 10:1179-89.

139. Weinreb RN, Dreher AW, Coleman A, et al. Histopathologic validation of Fourier-ellipsometry measurements of retinal nerve fiber layer thickness. *Arch Ophthalmol* 1990; 108:557-60.
140. Zhou Q, Reed J, Betts RW, et al. Detection of glaucomatous retinal nerve fiber layer damage by scanning laser polarimetry with custom corneal compensation. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng* 2003; 4951:32-41.
141. Colen TP, Lemij HG. Sensitivity and specificity of the GDx: clinical judgment of standard printouts versus the number. *J Glaucoma* 2003; 12:129-33.
142. Brink HB, van Blokland GJ. Birefringence of the human foveal area assessed in vivo with Mueller-matrix ellipsometry. *J Opt Soc Am A* 1988; 5:49-57.
143. Van Blokland GJ, Verhelst SC. Corneal polarization in the living human eye explained with a biaxial model. *J Opt Soc Am A* 1987; 4:82-90.
144. Brink HB. Birefringence of the human crystalline lens in vivo. *J Opt Soc Am A* 1991; 8:1788-93.
145. Greenfield DS, Knighton RW, Huang XR. Effect of corneal polarization axis on assessment of retinal nerve fiber layer thickness by scanning laser polarimetry. *Am J Ophthalmol* 2000; 129:715-22.
146. Weinreb RN, Bowd C, Greenfield DS, Zangwill LM. Measurement of the magnitude and axis of corneal polarization with scanning laser polarimetry. *Arch Ophthalmol* 2002; 120:901-6.
147. Knighton RW, Huang XR, Greenfield DS. Analytical model of scanning laser polarimetry for retinal nerve fiber layer assessment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43:383-92.
148. Laser Diagnostic Technologies I. RNFL analysis with GDx VCC: a primer and clinical guide, 251-0083B ed. San Diego, CA, United States of America: Laser Diagnostic Technologies, Inc., 2004.
149. Weinreb RN, Dreher AW, Bille JF. Quantitative assessment of the optic nerve head with the laser tomographic scanner. *Int Ophthalmol* 1989; 13:25-9.
150. Тошев А. Определяне стадия на структурните изменения при първична откритоъгълна глаукома с Хайделберг ретинен томограф II (3.1.2) на базата на някои топографски параметри на диска на зрителния нерв. Дисертационен труд 2014.
151. Carg A. Anterior and posterior OCT. Current technology and future applications. 1 ed., 2014. Jaypee-Highlights, Medical Publishers, Inc.; pp 1-30.

- 152.Green DG, Frueh BR, Shapiro JM. Corneal thickness measured by interferometry. *Journal of the Optical Society of America* 1975; 65:119-123.
- 153.Fercher AF, Mengedoht K, Werner W. Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. *Optics Letters* 1988; 13(3):186-8.
- 154.Schuman JS. Spectral domain optical coherence tomography for glaucoma (AN AOS Thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc* 2008; 16:426-58.
- 155.Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254:1178-81.
- 156.Fercher AF, Hitzenberg CK, Drexler W, et al. In vivo optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 1993; 116:113-4.
- 157.Swanson EA, Izatt JA, Hee RM, et al. In vivo retinal imaging by optical coherence tomography. *Optics Info Base, Optics Letters* 1993; 18(21):1864-6.
- 158.Lumbroso B, Rispoli M. Guide to interpreting spectral domain optical coherence tomography. Second edition 2011. Jaypee-Highlights, Medical Publishers, Inc. pp 3-7.
- 159.Fujimoto JG. Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging. *Nat Biotechnol* 2003; 21:1361-7.
- 160.Wojtkowski M, Leitgeb R, Kowalczyk A, et al. In vivo human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2002; 7:457-63.
- 161.Wojtkowski M, Srinivasan V, Ko T, et al. Ultrahigh-resolution, high-speed, Fourier domain optical coherence tomography and methods for dispersion compensation. *Optics Express* 2004; 12:2404-22.
- 162.Drexler W. Ultra-high resolution optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2004; 9:47-74.
- 163.Wojtkowski M. Phase sensitive interferometry in optical coherence tomography. *Proc SPIE* 2001; 4515.
- 164.Izatt JA, Hee MR, Swanson EA, et al. Micrometer-scale resolution imaging of the anterior eye in vivo with optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 1994; 112:1584-9.
- 165.Srinivasan VJ, Adler DC, Chen Y, et al. Ultrahigh-speed optical coherence tomography for three-dimensional and en face imaging of the retina and optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49:5103-10.
- 166.Gabriele ML, Wollstein G, Ishikawa H, et al. Optical coherence tomography: history, current status, and laboratory work (review). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(5):2425-36.

167. Potsaid B, Gorczynska I, Srinivasan VJ, et al. Ultrahigh speed spectral/Fourier domain OCT ophthalmic imaging at 70 000 to 312 000 axial scans per second. *Opt Express* 2008; 16:15149-69.
168. Hood D, Raza A. On improving the use of OCT imaging for detecting glaucomatous damage. *Br J Ophthalmol* 2014; 98:ii1-ii9.
169. Puliafito CA, Hee MR, Schuman JS, et al. Optical coherence tomography of ocular diseases. 1 ed. 1995. Chapter 1 - Principles of operation and technology.
170. Hoerauf H and Birngruber R. Handbook of optical coherence tomography. Editors Tearney GJ and Bouma BE. New York: Marcel Dekker 2002; pp 487-503.
171. Ishikawa H, Piette S, Liebman JM, et al. Detecting the inner and outer borders of the retinal nerve fiber layer using optical coherence tomography. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240:362-71.
172. Ishikawa H, Stein DM, Wollstein G, et al. Macular segmentation with optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46(6):2012-7.
173. Chauhan DS, Marshall J. The interpretation of optical coherence tomography images of the retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(10):2332-42.
174. Sung KR, Kim DY, Park SB, et al. Comparison of retinal nerve fiber layer thickness measured by Cirrus HD and Stratus optical coherence tomography. *Ophthalmol* 2009; 116(7):1264-70.
175. Vizzeri G, Weinreb RN, Gonzalez-Garsia AO, et al. Agreement between spectral-domain and time-domain OCT for measuring RNFL thickness. *Br J Ophthalmol* 2009; 93(6):775-81.
176. Gonzalez-Garsia AO, Vizzeri G, Bowd C, et al. Reproducibility of RTVue retinal nerve fiber layer thickness and optic disc measurements and agreement with Stratus optical coherence tomography measurements. *Am J Ophthalmol* 2009; 147(6):1067-74.
177. Seibold LK, Mandava N, Kahook MY. Comparison of retinal nerve fiber layer thickness in normal eyes using time-domain and spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2010; 150(6):807-14.
178. Михайлова Б, Ангелов Б. Изследване на ретинния неврофибрилерен слой с оптична кохерентна томография при здрави очи. *Български форум глаукома* 2014; 4(1):30-5.
179. Михайлова Б, Димитрова Г, Тошев А и съавт. Изследване на перипапиларния ретинен неврофибрилерен слой при здрави деца с оптична кохерентна томография. *Глаукоми* 2016; 5(1):12-8.

180. Yang B, Ye C, Yu M, et al. Optic disc imaging with spectral-domain optical coherence tomography: variability and agreement study with Heidelberg retinal tomograph. *Ophthalmol* 2012; 119(9):1852-7.
181. Ангелов Б, Петрова К. Оценка на глаукомните макулни промени с оптична кохерентна томография. *Български форум глаукома* 2012; 2(6): 26-31.
182. Zeimer R, Asrani S, Zou S, et al. Quantitative detection of glaucomatous damage at the posterior pole by retinal thickness mapping: a pilot study. *Ophthalmol* 1998; 105:224-31.
183. Bagga H, Greenfield DS, Knighton RW. Macular symmetry testing for glaucoma detection. *J Glaucoma* 2005; 14:358-63.
184. Greenfield DS, Bagga H, Knighton RW. Macular thickness changes in glaucomatous optic neuropathy detected using optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 2003; 121(1):41-6.
185. Medeiros F, Zangwill LM, Bowd C, et al Evaluation of retinal nerve fiber layer, optic nerve head, and macular thickness measurements for glaucoma detection using optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2005; 139 (1): 44-55.
186. Wollstein G, Ishikawa H, Wang J, et al. Comparison of three optical coherence tomography scanning areas for detection of glaucomatous damage. *Am J Ophthalmol* 2005; 139:39-43.
187. Wollstein G, Schuman JS, Price L, et al. Optical coherence tomography (OCT) macular and peripapillary retinal nerve fiber layer measurements and automated visual fields. *Am J Ophthalmol* 2004; 138(2):218-25.
188. Tan O, Li G, Lu A, Varma R, Huang D. Advanced Imaging for Glaucoma Study Group. Mapping of macular substructures with optical coherence tomography for glaucoma diagnosis. *Ophthalmol* 2008; 115:949-56.
189. Mori S, Hangai M, Sakamoto A, et al. Spectral-domain optical coherence tomography measurement of macular volume for diagnosing glaucoma. *J Glaucoma* 2010; 19(8):528-34.
190. Wang M, Hood DC, Cho JS, et al. Measurement of local retinal ganglion cell layer thickness in patients with glaucoma using frequency-domain optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 2009; 127:875-81.
191. Hood DC, Raza AS, de Moraes CG, et al. Glaucomatous damage of the macula. *Prog Retin Eye Res* 2013; 32:1-21.
192. Frenkel S, Morgan JE, Blumenthal EZ. Histological measurement of retinal nerve fiber layer thickness. *Eye* 2005; 19:491:8.

193. Essock EA, Sinai MJ, Fechtner RD, et al. Fourier analysis of nerve fiber layer measurements from scanning laser polarimetry in glaucoma: emphasizing shape characteristics of the 'double-hump' pattern. *J Glaucoma* 2000; 9:444-52.
194. Dichtl A, Jonas JB, Naumann G. Retinal nerve fiber layer in human eyes. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237:474-9.
195. Schuman JS, Hee MR, Arya AV, et al. Optical coherence tomography: a new tool for glaucoma diagnosis. *Curr Opin Ophthalmol* 1995; 6(2):89-95.
196. Schuman JS, Pedut-Kloizman T, Hertzmark E, et al. Reproducibility of nerve fiber layer thickness measurements using optical coherence tomography. *Ophthalmol* 1996; 103(11):1889-98.
197. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, et al. The ocular hypertension treatment study: a randomized trial determines that topical ocular hypertensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002; 120:701-13.
198. Zangwill L, Medeiros F, Weinreb R. Optic discs and ocular hypertension treatment study. *Am J Ophthalmol* 2011; 17-9.
199. Na J, Lee Y, Sung K, et al. Glaucoma detection capability of optic disc, peripapillary retinal nerve fiber layer, and macular thickness with RTVue spectral-domain optical coherence tomography in pre-perimetric glaucoma. Association for research in vision & ophthalmology. Fort Lauderdale, Florida, 02 May, 2010.
200. Tuulonen A, Lehtola J, Airaksinen PJ. Nerve fiber layer defects with normal visual fields. Do normal optic disc and normal visual field indicate absence of glaucomatous abnormality? *Ophthalmol* 1993; 100:587-97.
201. Hoh ST, Greenfield DS, Mistlberger A, et al. Optical coherence tomography and scanning laser polarimetry in normal, ocular hypertensive, and glaucomatous eyes. *Am J Ophthalmol* 2000; 129:129-35.
202. Pons ME, Ishikawa H, Gurses-Ozden R, et al. Assessment of retinal nerve fiber layer internal reflectivity in eyes with and without glaucoma using optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 2000; 118:1044-7.
203. Kiernan DF, Hariprasad SM, Chin EK, et al. Prospective comparison of Cirrus and Stratus optical coherence tomography for quantifying retinal thickness. *Am J Ophthalmol* 2009; 147:267-75.
204. Sehi M, Grewal G, Sheets C, et al. Diagnostic ability of Fourier-domain vs Time-domain optical coherence tomography for glaucoma detection. *Am J Ophthalmol* 2009; 148:597-605.

- 205.Vana R, Skaf M, Barron E. Retinal nerve fiber layer thickness in normal human eyes. *Ophthalmol* 1996; 103:2114-9.
- 206.Jeoung JW, Choi YJ, Park KN, et al. Macular ganglion cell imaging study: glaucoma diagnostic accuracy of spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54:4422-9.
- 207.Medeiros F, Alencar L, Zangwill LM, et al. Detection of glaucoma progression with Stratus OCT retinal nerve fiber layer, optic nerve head and macular thickness measurements. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 15(15):5741-8.
- 208.Schulze A, Lamparter J, Pfeiffer N, et al. Diagnostic ability of retinal ganglion cell complex, retinal nerve fiber layer and optic nerve head measurements by Fourier-domain optical coherence tomography. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2011; 249(7):1039-45.
- 209.Zangwill LM, Weinreb RN, Williams JM, et al. A comparison of optical coherence tomography and retinal nerve fiber layer photography for detection of nerve fiber layer damage in glaucoma. *Ophthalmol* 2000; 107(7):1309-15.
- 210.Choritz L, Machert M, Thieme H. Correlation of endothelin-1 concentration in aqueous humor with intraocular pressure in primary open angle glaucoma and pseudoexfoliation glaucoma. *IOVS* 2012; 53(11):7336-42.
- 211.Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332:441-5.
- 212.Lüscher TF, Wenzel RR. Endothelin and endothelin antagonists: pharmacology and clinical implications. *Agents Actions Suppl*, 1995; 45:237-53.
- 213.Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, et al. The human endothelial family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86:2863-7.
- 214.Jain SK, Yadava RK, Raikar R. Role of endothelins in health and disease. *J Indian Acad Clin Med* 2002; 3:59-64.
- 215.Resch H, Karl K, Weigert G, et al. Effect of dual endothelin receptor blockade on ocular blood flow in patients with glaucoma and healthy subjects. *IOVS* 2009; 50(1):358-63.
- 216.Shah R. Endothelins in health and disease. *Eur J Intern Med* 2007; 18:272-82.
- 217.Кирилов Г, Томова А, Даковска Л, и съавт. Плазмени нива на ендотелин-1 при болни със синдрома на Кушинг. *Ендокринология* 2001; 6(1):35-41.
- 218.Nicolela MT, Ferrier SN, Morrison ChA, et al. Effects of cold-induced vasospasm in glaucoma: the role of endothelin-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44(6):2565-72.

219. Lepple-Wienhues A, Becker M, Stahl F, et al. Endothelin-like immunoreactivity in the aqueous humor and in conditioned medium from cultured ciliary epithelial cells. *Curr Eye Res* 1992; 11:1041-6.
220. Fernández-Durango R, Rollín R, Medeiro A, et al. Localization of endothelin-1 mRNA expression and immunoreactivity in the anterior segment of human eyes: expression of ETA and ETB receptors. *Mol Vis* 2003; 9:103-9.
221. Prasanna G, Krishnamoorthy R, Clark AF, et al. Human optic nerve head astrocytes as a target for endothelin-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43:2704-13.
222. Rao VR, Krishnamoorthy RR, Yorio T. Endothelin-1, endothelin A and B receptor expression and their pharmacological properties in GFAP negative human lamina cribrosa cells. *Exp Eye Res* 2007; 84:1115-24.
223. Tezel G, Kass MA, Kolker AE, et al. Plasma and aqueous humor endothelin levels in primary open angle glaucoma. *J Glaucoma*, 1997; 6:83-9.
224. Stokely ME, Brady ST, Yorio T. Effects of endothelin-1 on components of anterograde axonal transport in optic nerve. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43:3223-30.
225. Taniguchi T, Shimazawa M, Sasaoka M, et al. Endothelin-1 impairs retrograde axonal transport and leads to axonal injury in rat optic nerve. *Curr Neurovasc Res* 2006; 3:81-8.
226. Lau J, Dang M, Hockmann K, Ball AK. Effects of acute delivery of endothelin-1 on retinal ganglion cell loss in the rat. *Exp Eye Res* 2006; 82:132-45.
227. Brooks DE, Källberg ME, Cannon RL, et al. Functional and structural analysis of the visual system in the rhesus monkey model of optic nerve head ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45:1830-40.
228. Sasaoka M, Taniguchi T, Shimazawa M, et al. Intravitreal injection of endothelin-1 caused optic nerve damage following to ocular hypoperfusion in rabbits. *Exp Eye Res*, 2006; 83:629-37.
229. Prasanna G, Krishnamoorthy R, Yorio T. Endothelin, astrocytes and glaucoma. *Exp Eye Res* 2011; 93:170-77.
230. Emre M, Orgül S, Haufschild T, et al. Increased plasma endothelin-1 levels in patients with progressive open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2005; 89:60-3.
231. Choritz L, Rosenthal R, Fromm M, et al. Pharmacological and functional characterization of endothelin receptors in bovine trabecular meshwork and ciliary muscle. *Ophthalmic Res* 2005; 37:179-87.

- 232.Şahli E, Tekeli O. Evaluation of retinal nerve fiber layer thickness with spectral domain OCT in primary open angle glaucoma and ocular hypertension. *J Clin Exp Ophthalmol* 2012; 3(8) doi:10.4172/2155-9570.1000247.
- 233.Iester M, Broadway DC, Mikelberg FS, et al. A comparison of healthy, ocular hypertensive, and glaucomatous optic disc topographic parameters. *J Glaucoma* 1997; 6(6):363-70.
- 234.Lachkar Y, Cohn H. Nerve fiber analysis and optic disc parameters with the glaucoma-scope. *Int Ophthalmol* 1996; 20(1):33-38.
- 235.Bowd C, Weinreb R, Williams J, et al. The retinal nerve fiber layer thickness in ocular hypertensive, normal, and glaucomatous eyes with optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 2000; 118(1):22-26.
- 236.Schwartz B, Takamoto T. Measurement of retinal nerve fiber layer thickness and its functional correlations with the visual field. *Bull Soc Belge Ophtalmol* 1992; 244:61-72.
- 237.Anton A, Zangwill L, Emdadi A, Weinreb RN. Nerve fiber layer measurements with scanning laser polarimetry in ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 1997; 11(5):331-4.
- 238.Tjon-Fo-Sang MJ, de Vries J, Lemij HG. Measurement by nerve fiber analyzer of retinal nerve fiber layer thickness in normal subjects and patients with ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 1996; 12(2):220-7.
- 239.Kim NR, Lee ES, Seong GJ, et al. Structure-function relationship and diagnostic value of macular ganglion cell complex measurement using Fourier-domain OCT in glaucoma. *Inv Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(9):4646-51.
- 240.Medeiros F, Zangwill LM, Bowd C, et al. Influence of disease severity and optic disc size on the diagnostic performance of imaging instruments in glaucoma. *Inv Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47:1008-15.
- 241.Harwerth RS, Carter-Dawson L, Smith EL 3rd, et al. Neural losses correlated with visual losses in clinical perimetry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(9):3152-60.
- 242.Felipe A, Medeiros FA, Alencar LM, Zangwill LM, et al. Prediction of functional loss in glaucoma from progressive optic disc damage. *Arch Ophthalmol* 2009; 127(10):1250-6.
- 243.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; 100:135-46.

244. Kanamori A, Naka M, Nagai-Kusuhara A, et al. Regional relationship between retinal nerve fiber layer thickness and corresponding visual field sensitivity in glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol* 2008; 126(11):1500-6.
245. Horn FK, Mardin CY, Laemmer R, et al. Correlation between local glaucomatous visual field defects and loss of nerve fiber layer thickness measured with polarimetry and spectral domain OCT. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50:1971-7.
246. El Beltagi TA, Bowd C, Boden C, et al. Retinal nerve fiber layer thickness measured with optical coherence tomography is related to visual function in glaucomatous eyes. *Ophthalmol* 2003; 110(11):2185-91.
247. Leite MT, Zangwill LM, Weinreb RN, et al. Structure-Function relationships using the Cirrus Spectral Domain Optical Coherence Tomograph and Standard Automated Perimetry. *J Glaucoma* 2012; 21(1): 49-54.
248. Ajtony C, Balla Z, Somoskeoy S, et al. Relationship between visual field sensitivity and retinal nerve fiber layer thickness as measured by optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007 Jan; 48(1):258-63.
249. Петрова К. Оптична кохерентна томография при диагностика и проследяването на глаукомите. Дисертационен труд 2016. Глава V - Обсъждане; стр. 72-78.
250. Seong M, Sung KR, Choi EH, et al. Macular and peripapillary retinal nerve fiber layer measurements by spectral domain optical coherence tomography in normal-tension glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51:1446-52.
251. Mwanza JC, Durbin MK, Budenz DL, et al. Glaucoma diagnostic accuracy of ganglion cell-inner plexiform layer thickness: comparison with nerve fiber layer and optic nerve head. *Ophthalmol* 2012; 119(6):1151-8.
252. Howell GR, Macalinao DG, Sousa GL, et al. Molecular clustering identifies complement and endothelin induction as early events in a mouse model of glaucoma. *J Clin Inv* 2011; 121(4):1429-44.
253. Howell GR, Libby RT, Jakobs TC, et al. Axons of retinal ganglion cells are insulted in the optic nerve early in DBA/2J glaucoma. *J Cell Biol* 2007; 179(7):1523-37.
254. Kuniatsu S, Mayama C, Tomidokoro A, et al. Plasma endothelin-1 level in Japanese normal tension glaucoma patients. *Curr Eye Res* 2006; 31(9):727-31.
255. Chen HY, Chang YC, Chen WC, et al. Association between plasma endothelin-1 and severity of different types of glaucoma. *J Glaucoma* 2013; 22(2):117-22.
256. Cellini M, Strobbe E, Gizzi C, et al. Endothelin-1 plasma levels and vascular endothelial dysfunction in primary open angle glaucoma. *Life Sciences* 2012; 91:699-702.