

**Lucas Antonio de Almeida Torres**

**Impacto do ajuste da medida da rima neuroretiniana dada pelo tomógrafo  
de coerência óptica no diagnóstico de glaucoma**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências

Programa de Oftalmologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Hatanaka

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011.

A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo**

**2021**

**Lucas Antonio de Almeida Torres**

**Impacto do ajuste da medida da rima neuroretiniana dada pelo tomógrafo  
de coerência óptica no diagnóstico de glaucoma**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências

Programa de Oftalmologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Hatanaka

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011.

A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo**

**2021**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Torres, Lucas Antonio de Almeida  
Impacto do ajuste da medida da rima  
neurorretiniana dada pelo tomógrafo de coerência  
óptica no diagnóstico de glaucoma / Lucas Antonio de  
Almeida Torres. -- São Paulo, 2021.  
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Oftalmologia.  
Orientador: Marcelo Hatanaka.

Descritores: 1.Glaucoma 2.Glaucoma/diagnóstico  
3.Tomografia de coerência óptica 4.Nervo óptico  
5.Cabeça do nervo óptico 6.Parâmetros neurorretinianos  
7.Minimum Rim Width

USP/FM/DBD-447/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

## **AGRADECIMENTOS**

A concretização desta produção se deu através de um trajeto longo, com momentos de retidão e outros tortuosos, igualmente importantes. Meus agradecimentos vão as pessoas que contribuíram indiretamente ou diretamente para este processo que agora tem este ponto final.

Balwantray Chauhan, Marcelo Nicolela e Jayme Vianna; mestres com quem pude compartilhar três anos, pude aprofundar meu conhecimento em ciência e pesquisa, e estabelecer amizades para uma vida. Marcelo Hatanaka; meu orientador, fundamental para esta produção e a quem dedico grande admiração. As figuras fortes e referenciais desta Universidade: os Professores Remo Susanna e Mario Monteiro, os quais inspiram os mais jovens, como eu, em seus caminhos científicos.

Pude chegar até estas pessoas devido ao suporte incondicional de uma rede resiliente que é minha família; principalmente meus pais, Rogério e Graziela, e meu irmão Emilio.

Agradeço a estas pessoas, a elas dedico esta produção, juntamente à todos aqueles que um dia possam ler este material.



## NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação: Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	6
3.1 Avaliação diagnóstica em glaucoma com TCO .....	6
3.1.1 Região peripapilar .....	6
3.1.2 Região macular .....	7
3.1.3 Região da cabeça do nervo óptico .....	8
3.2 Parâmetros de medida de rima neuroretiniana na região da cabeça do nervo óptico.....	10
4. MÉTODOS .....	16
4.1 Participantes .....	16
4.2 Imagens obtidas com TCO .....	17
4.3 Segmentação das imagens obtidas com TCO.....	17
4.4 Análise de dados .....	17
5. RESULTADOS .....	19
6. DISCUSSÃO .....	21
7. CONCLUSÕES .....	26
8. ANEXOS .....	27
9. REFERÊNCIAS .....	34

Apêndice

## LISTA DE ABREVIATURAS

BMO	<i>Bruch's Membrane Opening</i>
CCG	Camada de Células Ganglionares
CFNR	Camada de Fibras Nervosas da Retina
CFNRp	Camada de Fibras Nervosas da Retina Peripapilar
CPI	Camada Plexiforme Interna
CRPs	Camadas Retinianas Protrusas
foBMO	Eixo entre fóvea macular e o centro da BMO
GHT	<i>Glaucoma Hemifield Test</i>
mmHg	Milímetros de Mercúrio
MD	<i>Mean Deviation</i>
MLI	Membrana Limitante Interna
MRW	<i>Minimum Rim Width</i>
MRWa	<i>Minimum Rim Width</i> ajustada
TCO	Tomografia de Coerência Óptica
ROC	<i>Receiver Operating Characteristics</i>
PIO	Pressão Intraocular

## RESUMO

Torres LA. *Impacto do ajuste da medida da rima neuroretiniana dada pelo tomógrafo de coerência óptica no diagnóstico de glaucoma* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

**Introdução:** Foi demonstrado recentemente que as medidas de espessura da rima neuroretiniana através do parâmetro *minimum rim width (MRW)* da tomografia de coerência óptica (TCO) inclui componentes como a extensão da camada de fibras nervosas da retina (CFNR) e das camadas retinianas externas.

**Objetivo:** Determinar se a subtração dos componentes de retina externa, denominados camadas retinianas protrusas (CRPs), das medidas de *MRW* está associada à melhora da capacidade diagnóstica de glaucoma pela TCO.

**Métodos:** Estudo transversal com 123 pacientes diagnosticados com glaucoma de ângulo aberto e 123 controles normais, com idade semelhante, dos quais foram obtidas imagens de TCO da cabeça do nervo óptico (24 varreduras) na região peripapilar (varredura circular). Quando presentes, as CRPs foram segmentadas manualmente e as medidas de *MRW* ajustada (*MRWa*, gerada pela subtração da espessura das CRPs do total da medida de *MRW*) foram calculadas. Foi comparada a capacidade diagnóstica dos parâmetros *MRW* e *MRWa* e foi determinado se o parâmetro *MRWa* se correlaciona melhor com o parâmetro de espessura da CFNRp em comparação com a correlação de *MRW* com o parâmetro de espessura da CFNRp. **Resultados:** Nas 5.904 varreduras obtidas com TCO, as CRPs foram identificadas com menos frequência em pacientes com glaucoma (448, 7,6%) em comparação com os controles (728, 12,3%;  $P < 0,01$ ), e estavam presentes com mais frequência no setor temporal de ambos os grupos. Áreas sob as curvas ROC e valores de sensibilidade à uma especificidade de 95% indicaram que o ajuste de *MRW* para as CRPs não melhorou a capacidade diagnóstica de *MRW*, global ou setorialmente. Além disso, a geração do parâmetro *MRWa* através do ajuste de *MRW* para as CRPs não melhorou a correlação com o parâmetro de espessura da CFNRp em nenhum dos grupos. **Conclusão:** Embora camadas retinianas externas, às

vezes, estejam incluídas nas medições de MRW com TCO, a subtração dessas camadas não melhora a utilidade clínica de MRW.

**Descritores:** Glaucoma; Glaucoma/diagnóstico; Tomografia de coerência óptica; Nervo óptico; Cabeça do nervo óptico; Parâmetros neurorretinianos; *Minimum Rim Width*

## ABSTRACT

Torres LA. *Adjustment impact of the minimum rim width measurement provided by the optical coherence tomography for glaucoma diagnosis* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

**Introduction:** Recent studies have demonstrated that measurements of the neuroretinal rim thickness with the minimum rim width (MRW) parameter of the optical coherence tomography (OCT) may include components such as the extension of the retinal nerve fiber layers (RNFLs) and of the outer retinal layers.

**Objective:** Determine whether the subtraction of the outer retinal components, the protruded retinal layers (PRLs), from the MRW measurement given by OCT is associated with an improvement in the diagnostic capability of this parameter.

**Methods:** A transversal study with 123 open-angle glaucoma patients and 123 similar-age control patients, whose images of the optic nerve head (ONH) (24 scans) in the peripapillary region (circular scan) were acquired with OCT. When present, the PRLs were manually segmented and the measurements of the adjusted MRW (MRWa, determined by the subtraction of PRLs thickness from total MRW) were obtained. The diagnostic capability of MRW and MRWa parameters was compared, and it was determined whether the MRWa parameter would correlate better with the peripapillary RNFL (pRNFL) than MRW correlates.

**Results:** In the 5,904 individual B-scans acquired with OCT, PRLs were less frequently identified in glaucomatous patients (448, 7.6%) when compared to controls (728, 12.3%;  $P < 0.01$ ), and were more frequently found in the temporal sector of both groups. Areas under the receiver operating characteristic (ROC) curve and sensitivity value at 95% specificity indicated that the subtraction of PRL did not improve the diagnostic capacity of MRW, either totally or sectorally. Additionally, the MRW adjustment for PRL did not improve its correlation with the pRNFL thickness in either group. **Conclusion:** Although the outer retinal layers were sometimes included in the MRW measurement with OCT, the subtraction of these layers did not improve the MRW clinical use.

**Descriptors:** Glaucoma; Glaucoma/diagnosis; Optical coherence tomography; Optic nerve; Optic nerve head; Neuroretinal parameters; Minimum Rim Width

## 1. INTRODUÇÃO

O glaucoma é uma doença que causa dano nos axônios e células ganglionares, sendo responsável pela maior incidência de perda irreversível da visão no mundo.<sup>1</sup> Em 2010, 60,5 milhões de pessoas foram acometidas por esta doença, e há previsão de que em 2040 este número alcance 110 milhões.<sup>2</sup>

O dano glaucomatoso está relacionado a múltiplos fatores, sendo a pressão intraocular (PIO) o principal fator identificável e tratável. Há indícios de que este dano deve ocorrer diretamente nas células ganglionares da retina.<sup>3,4</sup> Entretanto, acredita-se que o principal local onde o processo glaucomatoso acontece é na cabeça do nervo óptico<sup>5,6</sup> (nome que se dá a parte intraocular do nervo óptico), com interrupção de fluxo axonal, alterações na região da lâmina cribiform e suas adjacências, inclusive na esclera peripapilar, resultando em apoptose das células ganglionares da retina.<sup>6</sup>

A perda visual resultante, na maioria dos casos, não é percebida pela pessoa nos estágios iniciais da doença. A assimetria do acometimento entre os olhos e a tendência de início da perda de visão mais periférica são alguns dos motivos para isso.<sup>7,8</sup> A progressão da doença, ou seja, a perda progressiva da visão, habitualmente segue o seu curso até que seja instituído tratamento adequado para reduzir a taxa de progressão ao mínimo.<sup>9</sup> Devido a estas características do glaucoma, é fundamental que a doença seja identificada precocemente.

Atualmente, não há método diagnóstico para visualização *in vivo* de alterações no fluxo axonal ou morte celular,<sup>10,11</sup> exigindo que se utilize outros métodos para estimar se o processo glaucomatoso está em curso. Um dos principais métodos utilizados para o diagnóstico de glaucoma é a avaliação clínica do aspecto frontal, bidimensional, do nervo óptico (disco óptico ou papila), seja através de exame de fundoscopia ou fotografias (retinografia e estereofoto),<sup>12,13</sup> uma vez que a existência de alterações características no aspecto do disco óptico auxiliam na suspeição e diagnóstico da doença.<sup>14,15</sup>

Embora fundamental, a avaliação estrutural do disco óptico está relacionada com a grande variabilidade de interpretação entre oftalmologistas para quantificar a rima neuroretiniana<sup>16,17</sup> e também para descrever se há dano



glaucomatoso, principalmente quando discreto ou inicial.<sup>16</sup> Sabe-se que o treinamento e a experiência proporcionam melhora da habilidade diagnóstica dos oftalmologistas.<sup>18</sup> Entretanto, a impossibilidade de se determinar com precisão os limites externo e interno da rima neuroretiniana em 360° do disco óptico demonstra limitação relacionada ao próprio método de exame.<sup>19,20</sup>

O exame de tomografia de coerência óptica (*optical coherence tomography* ou TCO) é também peça fundamental para a detecção de alterações estruturais glaucomatosas.<sup>21</sup> Este exame proporciona imagens tridimensionais da cabeça do nervo óptico, da região peripapilar (ao redor ou adjacente à papila ou disco óptico) e também da região macular retiniana. As suas principais características são a obtenção de medidas com alta reprodutibilidade e independentes da estimativa do examinador, além da geração de classificação de normalidade de acordo com comparação estatística das medidas de um paciente com um banco de dados normativos.<sup>22</sup> Esta tecnologia proporcionou que o exame estrutural no glaucoma ganhasse em objetividade e precisão. Com a evolução deste método, e mudança da tecnologia *time-domain* para a *spectral-domain*,<sup>23,24</sup> houve melhora significativa das imagens adquiridas, possibilitando identificação nítida e *in vivo* de estruturas, que, antes, só eram visualizadas histologicamente.<sup>25,26</sup> Diversos parâmetros podem ser gerados pela TCO nas topografias descritas, sendo que os principais utilizados clinicamente são: 1) medida da espessura da camada de fibras nervosas da retina (CFNR) na região peripapilar (CFNRp); 2) medida da espessura das camadas de retina interna na região macular; e 3) medida da espessura da rima neuroretiniana na região da cabeça do nervo óptico com o parâmetro chamado de *MRW* (do inglês, *minimum rim width*), (Anexo, Figura 1).<sup>21,27</sup>

A função visual é testada através da campimetria computadorizada, exame fundamental para o diagnóstico e seguimento do glaucoma. Através de estímulo luminoso em regiões específicas da retina, predominantemente temporal ao nervo óptico, a campimetria identifica se há perda visual e qual a sua extensão.<sup>28-30</sup> Por ser um teste psicofísico, ou seja, que depende da resposta subjetiva do paciente ao estímulo luminoso, a campimetria está relacionada a grande variabilidade de resultados de acordo com a experiência do paciente em realizar o exame, fadiga do paciente, dentre outros.<sup>31,32</sup> O caráter

deste teste é um dos motivos para que a campimetria habitualmente detecte alterações somente após morte de aproximadamente 25 a 30% das células ganglionares (Anexo, Figura 1).<sup>33</sup>

O diagnóstico de glaucoma é feito através da interpretação dos exames de estrutura (exame clínico e TCO) e função (campimetria computadorizada), bem como pela associação entre eles, seja através da avaliação transversal (única), como por avaliações longitudinais (múltiplas). Enquanto o diagnóstico longitudinal depende da detecção da progressão da doença através de avaliações seriadas, o diagnóstico transversal permite diagnóstico em avaliação única, sendo bastante desafiador principalmente quando a doença está em estágio inicial. Recentemente, Vianna demonstrou a extensão deste desafio em um estudo que incluiu 36 especialistas de glaucoma de múltiplos países avaliando 30 casos clínicos com retinografia, com TCO de nervo óptico (com medida da rima neuroretiniana), de região peripapilar e de mácula, além da campimetria computadorizada. Enquanto em casos avançados houve consenso importante entre os examinadores sobre a presença de glaucoma, nos casos em que havia suspeita de glaucoma, ou potencialmente glaucoma inicial, houve variabilidade extrema na opinião dos especialistas para descrever a presença da doença, indicando a necessidade de melhoria na diagnose da doença.<sup>34</sup>

As diferentes características das três principais modalidades descritas para o diagnóstico de glaucoma tornam a associação entre as informações obtidas em cada modalidade estrutural e funcional bastante complexa, imperfeita, porém necessária.<sup>35,36</sup> Alguns sistemas como os mapas de Garway-Heath,<sup>37</sup> e mais recentemente, de Hood,<sup>38</sup> guiam as associações de acordo com topografia e são referências para auxiliar na interpretação dos resultados de múltiplos exames. Recentemente, Torres, em um estudo de revisão de literatura abordou o benefício das associações topográficas entre exames estruturais e funcionais de glaucoma e a busca em melhorar o diagnóstico e detecção de progressão da doença.<sup>39</sup> A melhoria de cada um dos métodos e parâmetros diagnósticos de glaucoma, o desenvolvimento de mapas de correlação que considerem características anatômicas individuais e finalmente, a criação de um índice único que combine informações estruturais e funcionais têm sido alguns dos principais objetos de interesse de diversos autores.<sup>39</sup>

Nesta tese, descreveremos a nossa busca em melhorar a capacidade diagnóstica dos métodos até então estabelecidos, especificamente a TCO de nervo óptico para medida de rima neuroretiniana. Nossa hipótese começou a se construir após a descrição de Fortune, em um estudo experimental com macacos, de que a rima neuroretiniana era constituída sabidamente não apenas de axônios (ou extensão da camada de fibras nervosas), mas também de outras camadas retinianas externas que se protruem dentro do espaço da cabeça do nervo óptico, e na rima neuroretiniana.<sup>40</sup> As camadas retinianas externas são pouco ou não são afetadas diretamente por glaucoma quando avaliadas em topografia macular.<sup>41-43</sup> Por isso, atualmente, os parâmetros maculares para avaliação diagnóstica de glaucoma são compostos especificamente por camadas retinianas internas, como a camada de células ganglionares, a camada com seus dendritos (plexiforme interna) e a camada com os axônios (camada de fibras nervosas),<sup>44,45</sup> com melhor capacidade diagnóstica em relação aos parâmetros que incluem todas as camadas da retina.<sup>46</sup> Consideramos, portanto, que se estas camadas retinianas externas estivessem protrusivas (CRPs) na cabeça do nervo óptico de olhos humanos e incluídas nas medidas da rima neuroretiniana através do parâmetro *MRW*, como descrito por Fortune<sup>40</sup> em macacos, poderíamos gerar um parâmetro de medida da rima neuroretiniana subtraindo as CRPs das medidas (*MRWa*<sup>47</sup>).

O objetivo desta tese foi avaliar se o parâmetro *MRWa* seria um melhor representante do conteúdo axonal e se ele teria uma melhor capacidade diagnóstica que o parâmetro *MRW* atualmente estabelecido.

## 2. OBJETIVOS

1. Comparar a capacidade diagnóstica do parâmetro de medida de rima neuroretiniana ajustada ( $MRWa$ )<sup>47</sup> com o parâmetro atual de medida da rima neuroretiniana ( $MRW$ )<sup>27</sup>, ambos gerados pela TCO.
2. Comparar a correlação de cada um destes parâmetros da rima neuroretiniana com o parâmetro de medida da espessura da camada de fibras nervosas peripapilar, ambos gerados pela TCO.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

Para auxiliar e aprofundar o entendimento do leitor sobre a relevância e aplicabilidade do nosso trabalho, iniciamos esta sessão com a descrição do cenário atual da avaliação, com a TCO das regiões peripapilar, macular, e da cabeça do nervo óptico, e, a seguir, abordamos o processo de desenvolvimento dos parâmetros de medida da rima neuroretiniana na região da cabeça do nervo óptico (*MRW* e *MRWa*).

#### 3.1 Avaliação diagnóstica em glaucoma com TCO

Atualmente, a principal contribuição diagnóstica da TCO se dá através das imagens obtidas em três topografias: região peripapilar, região macular e cabeça do nervo óptico. As imagens são analisadas por *softwares* que identificam as estruturas anatômicas específicas e geram parâmetros de medida absoluta e relativa à normalidade (ou de desvio) altamente reprodutíveis e independente do examinador. Habitualmente, para uso clínico, estes parâmetros são gerados de acordo com a média das medidas em determinada topografia, e de acordo com a divisão setorial de interesse desenvolvida para aumentar a identificação de alterações estruturais discretas, localizadas ou iniciais.<sup>37</sup>

##### 3.1.1 Região peripapilar

Historicamente, o primeiro parâmetro estrutural obtido com a TCO foi a medida da espessura das fibras nervosas da retina peripapilar (CFNRp), ou seja, a espessura medida entre a borda da camada de fibras nervosas da retina e a camada de células ganglionares até a membrana limitante, na região peripapilar.<sup>48,49</sup> Este parâmetro se estabeleceu como referência devido à sua alta capacidade de detecção transversal e longitudinal de dano glaucomatoso, proporcionada pela sua topografia peripapilar privilegiada (por onde passam todos os axônios para formar o nervo óptico) e pela alta reprodutibilidade de suas medidas.<sup>40,50</sup> Além disso, Fortune demonstrou, em estudo experimental com

macacos, que a espessura da CFNRp foi o parâmetro da TCO que apresentou melhor correlação com a perda axonal na região retrolaminar.<sup>40</sup>

Os índices globais de espessura da CFNRp têm capacidade de diagnosticar glaucoma demonstrada por diversos estudos com diferentes critérios, alcançando valores de sensibilidade de até 97%.<sup>51</sup> Em estudo incluindo pacientes glaucomatosos com dano da CFNRp identificados à retinografia, Hwang demonstrou a acurácia de a TCO identificar alterações localizadas ou discretas da CFNRp. Em gráfico ou mapa de espessura absoluta em região peripapilar, a sensibilidade foi de 100%, com 6% de falsos positivos, enquanto o mapa de desvio apresentou 9.2% de falsos negativos e 15% de falsos positivos.<sup>52</sup> Os valores setoriais mais altos de sensibilidade são descritos nos setores ou regiões superior e inferior, temporalmente,<sup>53,54</sup> devido principalmente à continuidade das fibras nervosas nestas regiões, com áreas do nervo óptico de maior susceptibilidade ao dano glaucomatoso.<sup>55</sup> A alta capacidade do parâmetro de espessura da CNFRp pode auxiliar nos frequentes casos em que a coloração da retina impossibilita a identificação dos defeitos peripapilares ao exame clínico. Estas alterações estruturais tendem a preceder o aparecimento de alterações funcionais correspondentes.<sup>54</sup>

### 3.1.2 Região macular

A avaliação da região macular da retina com TCO é de grande relevância, já que, nesta região, estão localizadas aproximadamente 50% de todas as células ganglionares da retina.<sup>56</sup> O dano glaucomatoso nesta região leva à perda visual na parte central da visão, trazendo limitações que comprometem a qualidade de vida do paciente.<sup>57,58</sup> As primeiras imagens e *softwares* da TCO permitiam a medida da espessura total da retina. Embora esta forma de análise inclui estruturas retinianas que não são ou são pouco afetadas diretamente pelo glaucoma,<sup>41-43</sup> ainda assim, ela proporcionava alguma utilidade no diagnóstico de glaucoma, através das análises de assimetria. Isso se deve ao fato de, habitualmente, a doença afetar de forma assimétrica as células ganglionares e os axônios na retina superior em relação à inferior, e também de haver preferência de acometimento de um olho antes do outro.<sup>59</sup>

Com a melhoria das imagens e *softwares*, se tornou possível visualizar, segmentar e analisar individualmente as camadas retinianas, ou seja, as camadas internas da retina (camada de fibras nervosas, de células ganglionares e plexiforme interna), de maior interesse para o diagnóstico e monitoramento de glaucoma.<sup>45</sup> Xu demonstrou, através de diversos índices, tais como o coeficiente de variação, que medidas da retina interna com TCO apresentavam excelente reprodutibilidade.<sup>60</sup> Vianna demonstrou, em análise de simetria em hemirretina superior e inferior, que as camadas retinianas internas apresentavam menor espessura significativa nas regiões que apresentavam alterações campimétricas do que naquelas regiões sem alterações campimétricas, indicando a evolução diagnóstica com parâmetro de medida especificamente das camadas retinianas internas<sup>44</sup> Ainda, diversos autores demonstraram que alterações estruturais glaucomatosas da retina interna tendem a preceder as alterações campimétricas ou funcionais, corroborando o que já era descrito sobre a relação estrutura-função<sup>61</sup> e indicando que a avaliação estrutural desta região pode auxiliar em prever a perda visual central, de impacto significativo na vida do paciente.<sup>62-64</sup> Em análises regionais ou setoriais, a macula inferior, principalmente temporal, apresenta melhor capacidade diagnóstica,<sup>65-67</sup> sendo que um dos motivos para isso é a correlação topográfica das células ganglionares nesta região com os axônios da região temporal-inferior peripapilar e rima neuroretiniana que transitam por área de maior susceptibilidade ao dano glaucomatoso no nervo óptico.<sup>5,68</sup>

### 3.1.3. Região de cabeça do nervo óptico

A avaliação da cabeça do nervo óptico com TCO é, desde a sua origem, bastante promissora. É nesta região que se inicia o dano glaucomatoso e onde, mesmo previamente a TCO, já era possível identificar os primeiros sinais da doença pelos exames fundoscópicos ou fotográficos.<sup>5,6</sup> Além disso, devido ao gradiente de tensão nesta região (determinado pela pressão intraocular e pressão intracraniana), as estruturas que compõem o nervo óptico, em seu aspecto superficial, profundo e suas adjacências, sofrem alterações biomecânicas ou conformacionais não observadas nas outras topografias

avaliadas com TCO. Ou seja, em adição à identificação de perda axonal, a avaliação do nervo óptico pode também proporcionar identificação de mudanças estruturais conformacionais da rima neuroretiniana e estruturas profundas como o canal óptico, a lâmina cribiforme e suas inserções, e a esclera peripapilar. Fortune explorou a relevância deste aspecto único relacionado à avaliação de rima neuroretiniana ao demonstrar, em estudo experimental de hipertensão ocular em macacos, uma mudança ou redução maior e mais precoce da espessura de rima neuroretiniana medida através da TCO em relação à mudança observada por parâmetro de espessura da CFNRp de TCO.<sup>69</sup>

Para a avaliação do aspecto profundo do nervo óptico ainda não existem parâmetros disponíveis clinicamente. Um dos desafios é a sombra projetada por vasos sanguíneos e tecido ou rima neuroretiniana, o que limita a visualização de algumas estruturas profundas de forma consistente, na maioria dos indivíduos.<sup>26,70</sup> Loureiro demonstrou, em 33 pacientes portadores de glaucoma, que a taxa de detecção da inserção da lâmina cribiforme variou de 42% a 73%.<sup>26</sup> Entretanto, um corpo importante de estudos demonstra a relevância clínica futura em avaliar esta região. You reportou que sinais clínicos de glaucoma, como alterações ou perda de rima neuroretiniana e fosseta de lâmina cribiforme, estavam associados à deformação na lâmina observada pela TCO, sendo que a extensão do dano era melhor observada através das imagens com TCO.<sup>70</sup> Sharpe demonstrou, ainda, que a presença de hemorragia de disco óptico ao exame clínico, caracterizada como fator de risco importante de progressão glaucomatosa, apresentava associação estreita com as desinserções de lâmina cribiforme.<sup>71</sup>

A avaliação do aspecto superficial do nervo óptico com TCO pode ser realizada através de parâmetros de quantificação da rima neuroretiniana e escavação. Entretanto, apenas recentemente, os avanços no método de medida da rima neuroretiniana permitiram que esta apresentasse capacidade semelhante aos demais parâmetros dados pela TCO, como o parâmetro de espessura da CFNRp e das camadas internas da retina macular para o diagnóstico e a detecção de progressão de glaucoma.<sup>72-74</sup>



### 3.2 Parâmetros de medida da rima neuroretiniana na região da cabeça do nervo óptico

No início do desenvolvimento da tecnologia da TCO, a quantificação da rima neuroretiniana e da escavação do nervo óptico eram realizadas de acordo com os limites interno e externo do nervo óptico, e o vetor de medida considerado era aproximadamente horizontal à superfície do disco óptico, de forma análoga ao método de análise do disco óptico ao exame clínico, bidimensional, fundoscópico ou fotográfico.<sup>75,76</sup> Entretanto, sabe-se que a determinação dos limites do disco óptico ao exame clínico carece de alicerces anatômicos, e esta limitação proporciona grande variabilidade entre os examinadores na identificação destes limites e conseqüentemente na quantificação da rima neuroretiniana.<sup>77</sup> Ao exame clínico, o limite externo do disco óptico ou da rima neuroretiniana é definido de acordo com a identificação do anel escleral ou de Elschnig. Entretanto, o anel escleral não pode ser visualizado com precisão em 360° ao redor do disco óptico,<sup>19,20</sup> e na maioria dos casos, não corresponde à estrutura anatômica única, mas à até três estruturas anatômicas em diferentes localizações do nervo óptico e indivíduos.<sup>78</sup> O limite interno da rima neuroretiniana, o qual a separaria da região de escavação, também não apresenta fundações anatômicas sólidas.

Com a evolução da tecnologia de TCO, especialmente com a transição do método *time-domain* para *spectral-domain*, se tornou possível a visualização nítida das estruturas anatômicas no nervo óptico *in-vivo*, e a determinação de um novo método para a medida da rima neuroretiniana com TCO baseado em referências concretas, reproduzíveis, com impacto clínico significativo.<sup>78-80</sup>

O primeiro passo fundamental nesta evolução foi a identificação de que a abertura da membrana de Bruch (do inglês, *Bruch's Membrane Opening* ou *BMO*) determinava o limite externo por onde os axônios convergiam para formar o nervo óptico. Desta forma, esta estrutura anatômica estabeleceu-se como o limite externo da rima neuroretiniana e referência objetiva para a medida da rima neuroretiniana. O limite interno para a medida da rima neuroretiniana se tornou a membrana limitante interna (MLI), que divide o espaço da rima neuroretiniana do espaço vítreo.<sup>78-80</sup> Ainda, o entendimento de que a variação na inclinação

de entrada dos axônios para formar o nervo óptico influenciaria nas medidas da rima neuroretiniana obtidas, indicou a problemática em medir a rima neuroretiniana com vetor aproximadamente horizontal à superfície do disco óptico ou à BMO.<sup>79</sup> Se a orientação utilizada para a medida da rima neuroretiniana fosse aproximadamente horizontal à BMO, esta medida seria significativamente maior em regiões do nervo óptico em que a entrada dos axônios é inclinada do que em regiões do nervo óptico em que a entrada dos axônios é mais vertical. Sendo assim, foi proposto que a medida de rima neuroretiniana fosse realizada de acordo com a mínima distância entre a BMO e a membrana limitante interna (MLI), e assim perpendicular à superfície MLI.<sup>78-80</sup> (Figura 2) Este mesmo método de medida perpendicular à superfície interna é utilizado para medida de outros parâmetros neuroretinianos com TCO na região peripapilar (espessura da CFNRp) e macular (espessura da CFNR, da camada de células ganglionares [CCG] e da camada plexiforme interna [CPI]).

Desta forma, Chauhan demonstrou a adequabilidade anatômica e geométrica deste novo parâmetro de rima neuroretiniana, chamado de *MRW*.<sup>80</sup> Além disso, o mesmo grupo de pesquisa contribuiu para que este novo parâmetro se estabelecesse na prática clínica ao demonstrar que o parâmetro de *MRW* apresentava sensibilidade diagnóstica de 80% à especificidade de 95%, enquanto que parâmetro de medida da rima neuroretiniana horizontal, previamente utilizado para uso clínico, apresentou sensibilidade de 51%.<sup>27</sup>

Ao correlacionar o *MRW* e também os parâmetros de medida da rima neuroretiniana horizontal com os parâmetros de espessura da CFNRp ( $r = 0.68$  e  $r = 0.48$ , respectivamente), e parâmetros funcionais ( $r = 0.54$  e  $r = 0.40$ , respectivamente), Gardiner demonstrou a superioridade de *MRW*.<sup>81</sup> Danthurebandara obteve resultados semelhantes em outra população para índices globais (média de espessura obtida em cada uma das localizações de cada parâmetro) de *MRW* e espessura da CFNRp, e para índices setoriais. As melhores correlações foram encontradas no setores ou regiões superior-temporal e inferior-temporal,<sup>82</sup> sendo uma das principais explicações para isso a relação anatômica dos axônios com as regiões da lâmina cribriforme mais susceptíveis ao dano glaucomatoso.<sup>53-55</sup>

Alguns estudos compararam a capacidade diagnóstica de MRW com os outros principais parâmetros neurorretinianos de região peripapilar e macular e obtiveram resultados variáveis.<sup>72-74</sup> Estes resultados em populações diferentes sugerem que alguns pacientes com glaucoma podem ser identificados por um dos parâmetros à despeito de não serem identificados por outro(s) parâmetro(s),<sup>83</sup> e que ao invés de questionarmos qual é o melhor, deveríamos entender como utilizá-los da melhor forma em conjunto.<sup>61,74</sup> Além disso, é importante notar que cada parâmetro neurorretiniano avalia o dano glaucomatoso em topografia diferente, e que a confirmação das alterações sugestivas de glaucoma em múltiplos testes aumenta a confiabilidade de que, de fato, existe o dano glaucomatoso. Sendo assim, a avaliação de rima neurorretiniana com a TCO se estabeleceu como parte do arsenal de exames em glaucoma, em conjunto com os outros parâmetros neurorretinianos de região peripapilar e macular, a campimetria computadorizada e o exame clínico do disco óptico e região peripapilar.<sup>80</sup>

Esta mudança de paradigma foi articulada por Chauhan, principalmente no que se refere à relevância da utilização do parâmetro *MRW* em conjunto com a avaliação clínica do disco óptico.<sup>80</sup> Enquanto nesta, a avaliação é bidimensional, com a TCO pode-se ter avaliação tridimensional do nervo óptico. Durante o exame clínico, faz-se a primeira suspeição de glaucoma ou outra neuropatia óptica, através do aspecto do disco óptico, sua coloração, e avaliação da região peripapilar.<sup>15</sup> Este exame é acessível a qualquer oftalmologista treinado, porém está sujeito a grande variabilidade de interpretação.<sup>17</sup> Em casos suspeitos ou presença de discos ópticos com aspecto ou fenótipo que desafia a avaliação fundoscópica, a TCO auxilia na diferenciação entre normalidade e glaucoma por proporcionar medidas de rima mais acuradas e classificação de normalidade objetiva e independente do examinador.<sup>27</sup> Torres corroborou esta argumentação em análise de casos de discos ópticos com crescente cinza, nos quais o limite e parte da rima neurorretiniana, não podem ser claramente identificados ao exame clínico. Com o parâmetro *MRW*, pode-se quantificar a rima neurorretiniana com precisão e auxiliar na estimativa do nível de suspeita inclusive destes casos.<sup>84</sup>

Após o desenvolvimento do parâmetro neurorretiniano *MRW*, com suas medidas baseadas em referências anatômicas e respeitando conceitos geométricos, algumas linhas de pesquisa buscaram melhorar ainda mais a capacidade diagnóstica deste parâmetro.

A identificação da BMO, além de servir como referência para as medidas de *MRW*, também proporcionou estimativa do tamanho do disco óptico, de acordo com a área interna à BMO (por onde passam os axônios para formar o nervo óptico).<sup>85,86</sup> A medida da área do disco óptico, ou a área da BMO com a TCO, é relevante pois sabe-se que a variação do tamanho de disco óptico está relacionada à diferente quantificação da rima neurorretiniana ao exame clínico e às medidas de *MRW*. Discos ópticos grandes tem espessura de *MRW* mais fina, e as medidas de espessura da CFNRp mais espessas; enquanto o oposto é notado para discos ópticos pequenos.<sup>87,88</sup> Acredita-se que este achado não se relaciona à quantidade diferente de axônios em discos ópticos de tamanhos diferentes, já que discos ópticos maiores tenderiam a ter maior quantidade de axônios que os discos menores,<sup>83,89,90</sup> Ao exame clínico, é possível estimar o diâmetro do disco óptico e fazer ajuste aproximado da espessura de rima neurorretiniana, já sujeita à alta variação de estimativa entre examinadores. Com a medida da área da BMO com TCO, tornou-se possível o ajuste estatístico das medidas reprodutíveis e acuradas de *MRW* e espessura da CFNRp, de acordo com a BMO, e assim gerar classificação objetiva de normalidade independente do examinador com grande impacto clínico.<sup>83</sup>

Além disso, o eixo entre a fóvea macular e o centro da BMO (*foBMO*) passou a ser utilizado para determinar a divisão setorial de parâmetro neurorretinianos como o *MRW* e a espessura da CFNRp.<sup>80</sup> Os axônios desta região entre a fóvea e a BMO, chamada de feixe papilo-macular, determinam o trajeto dos demais axônios periféricos à esta região, da retina ao nervo óptico, e a utilização do eixo *foBMO* tornaria as medidas de *MRW* e da espessura da CFNRp mais comparáveis entre diferentes indivíduos.<sup>91,92</sup> Danthurebandara demonstrou que, de fato, a utilização do eixo *foBMO* reduziu de forma significativa a variabilidade interindividual das medidas de *MRW*.<sup>82,93</sup> Atualmente, *softwares* disponíveis comercialmente consideram a classificação de normalidade da rima neurorretiniana com TCO já ajustada para a área da BMO

e também o eixo FoBMO para gerar os parâmetro de MRW e de espessura da CFNRp.<sup>22</sup>

Nosso grupo de pesquisa também buscou melhorar a capacidade diagnóstica do parâmetro neurorretiniano de medida da rima neurorretiniana, o *MRW*. A nossa investigação foi motivada pelo estudo de Fortune, realizado em macacos, que identificou que a rima neurorretiniana era composta não apenas pelos axônios das células ganglionares, vasos, células glias e tecido conectivo, mas também por camadas retinianas externas protrusas no espaço do nervo óptico.<sup>40</sup> Sabe-se que as camadas retinianas externas sofrem pouco ou nenhum dano direto pelo glaucoma,<sup>41-43</sup> e por isso foram excluídas ou subtraídas dos parâmetros neurorretinianos maculares para estimativa do dano glaucomatoso. Houve melhora significativa da capacidade diagnóstica dos parâmetros maculares com a utilização dos parâmetros de retina interna somente (CFNR, CCG e CPI). Por isso, ao notarmos a presença de camadas retinianas externas protrusas dentro do espaço do nervo óptico, mais precisamente nas medidas de rima neurorretiniana com *MRW*, acreditamos que a exclusão ou subtração destas proporcionaria parâmetro neurorretiniano (*MRWa*) mais específico e que mais precisamente avaliaria o dano glaucomatoso. Ou seja, acreditamos que, com a subtração da espessura das CRPs das medidas de rima neurorretiniana com *MRW*, contribuiríamos ainda mais com a evolução deste parâmetro e, conseqüentemente, com a capacidade diagnóstica em glaucoma.

Antes, porém, de buscarmos determinar o impacto clínico deste ajuste métrico, nosso primeiro passo foi investigar a prevalência deste achado (CRPs) em população multiétnica ou racial composta por indivíduos saudáveis (sem glaucoma) e assim estimar a relevância em seguir com o estudo de análise de capacidade diagnóstica de *MRW* após subtração das CRPs. Ainda, precisávamos estimar a reprodutibilidade de um examinador treinado para identificar as CRPs e medi-la.<sup>94</sup>

Em um primeiro estudo, demonstramos que era possível identificar e medir as CRPs com precisão e alta reprodutibilidade. Ainda, notamos que as CRPs eram predominantemente encontradas em rima neurorretiniana temporal (utilizando sistema de divisão setorial baseado no eixo foBMO) e em mais de 70% dos nervos ópticos avaliados.<sup>94</sup> Assim, tendo sido demonstrada a alta

prevalência setorial das CRPs, corroboramos a relevância em seguirmos nossa investigação (e foco desta tese) sobre o impacto diagnóstico em gerarmos um parâmetro de medida de rima neuroretiniana (*MRWa*) em que as CRPs fossem subtraídas da medida total de MRW.

## 4. MÉTODOS

### 4.1 Participantes

Os participantes foram pacientes com glaucoma de ângulo aberto em tratamento, e controles em igual número em cada década de faixa etária entre os 50 a 90 anos de idade. Esses indivíduos foram recrutados do *Eye Care Centre, Nova Scotia Health Authority* e do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. O estudo recebeu aprovação dos Comitês de Ética e Pesquisa (CEP) locais e foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (Apêndice, Aprovação do CEP). Todos os participantes forneceram espontaneamente consentimento informado após esclarecimentos sobre o estudo.

Os critérios de inclusão para pacientes com glaucoma foram: (1) fotografias do disco óptico documentando alterações glaucomatosas como afinamento ou perda localizada da rima neuroretiniana do disco óptico; (2) defeitos campimétricos compatíveis com glaucoma e com GHT (do inglês, *Glaucoma Hemifield Test*, referindo-se ao parâmetro de comparação de sensibilidade retiniana em hemirretina superior e inferior) indicando anormalidade; e (3) ângulos abertos ao exame de gonioscopia. Os critérios de inclusão dos controles foram: (1) exame oftalmológico normal com ausência de doença ocular ou cirurgia intraocular prévia (exceto catarata ou cirurgia refrativa); (2) pressão intraocular de 21 milímetros de mercúrio (mmHg) ou menos; e (3) campimetria normal, com GHT e MD (do inglês, *Mean Deviation*, referindo-se ao valor médio de sensibilidade retiniana em relação ao valor esperado para população normal de mesma idade) dentro dos limites normais. Todos os indivíduos deveriam apresentar melhor acuidade visual corrigida de 20/40 ou melhor, erro esférico refrativo de até 6 dioptrias (D) e astigmatismo de até 3D.

Indivíduos foram excluídos quando qualquer um dos seguintes fatores fosse encontrado: (1) campimetria não confiável (determinado por exame com taxa de falsos negativos e falsos positivos  $\geq 33\%$ , perda de fixação  $\geq 20\%$ ), (2) imagens de TCO de qualidade insuficiente (varreduras truncadas e/ou de qualidade de imagem  $<20$ ). Quando ambos os olhos de um sujeito eram elegíveis, um olho foi selecionado aleatoriamente para análise.

## 4.2 Imagens obtidas com TCO

As imagens do nervo óptico e da retina peripapilar foram obtidas com TCO (Spectralis; versão de software 6.7; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Alemanha), utilizando um *software* que considera o eixo entre a região central da mácula (fóvea) ao centro da abertura da membrana de Bruch (BMO).<sup>80</sup> O padrão de aquisição das imagens do nervo óptico consistia em 24 imagens obtidas com varreduras (imagem bidimensional demonstrando a anatomia da região) equidistantes passando pelo centróide da BMO. Cada imagem era composta por 768 *A-scan* (imagem unidimensional, axial) e derivada de uma média de 25 varreduras na mesma localização. Cada varredura continha 2 pontos de BMO e conseqüentemente 2 pontos de medida *MRW*, totalizando 48 medidas de *MRW* por olho. As medidas de espessura da CFNRp foram adquiridas em arco com diâmetro de 3,5 mm a partir do centróide da BMO, contendo uma média de 100 varreduras, e 1536 *A-scans* por varredura.

## 4.3 Segmentação das imagens obtidas com TCO

Em cada ponto de medida da *MRW* foi determinado se havia CRPs, definidas como qualquer camada retiniana incluída no *MRW* diferente da extensão da camada de fibras nervosas.<sup>94</sup> Um examinador treinado (FJ) descreveu se as CRPs estava presente, ausente ou indeterminada. Quando as CRPs estavam presentes, sua espessura era medida ao longo do vetor *MRW* com uma ferramenta do *software* da TCO (Anexo, Figura 2). Este método de identificação e quantificação das CRPs foi demonstrado anteriormente, e com alta reprodutibilidade intraindividual.<sup>94</sup>

## 4.4 Análise de dados

A frequência das CRPs nos grupos glaucoma e controle foi comparada. Para cada ponto de medida de *MRW* em que as CRPs estavam presentes, um valor *MRWa* foi calculado subtraindo-se a espessura das CRPs do valor total de



MRW. Para os pontos de medida de MRW onde as CRPs foram classificadas como ausentes ou indeterminadas, a espessura das CRPs foi considerada como sendo 0  $\mu\text{m}$ . Para cada olho, o valor global dos *MRW* e *MRWa* foi calculado como a média de todos os 48 pontos de medição *MRW*. A média de todos os pontos de medida *MRW* dentro de cada setor<sup>37</sup> também foi usada para calcular parâmetros de *MRW* e *MRWa* setorial. O desempenho diagnóstico dos parâmetros *MRW* e *MRWa* foi conduzido com análise da área sob a curva ROC (do inglês, *receiver operating characteristics*) e com a análise de sensibilidade em especificidade fixa. O teste DeLong<sup>95</sup> foi usado para comparar a área sob a curva ROC dos parâmetros de *MRW* e *MRWa*, enquanto o teste de McNemar foi usado para comparar a sensibilidade à 95% de especificidade. A correlação entre a espessura da CFNRp com *MRW* e *MRWa* foi avaliada com análise de regressão linear.

A análise dos dados foi realizada com o *software* R (versão 3.3.1) e o pacote pROC (versão 1.9.1). As variáveis descritivas foram resumidas com medianas e intervalos interquartílicos (IQR); os intervalos de confiança à 95% foram utilizados. Os testes de Mann-Whitney e chi-quadrado foram usados, respectivamente, para comparação das variáveis contínuas e categóricas.

## 5. RESULTADOS

Neste estudo, foram incluídos 123 pacientes com glaucoma de ângulo aberto e 123 indivíduos saudáveis como controle (Anexo, Tabela 1). A metodologia aplicada determinou que os dois grupos tivessem idade semelhante. No entanto, o grupo glaucoma teve uma área de BMO ligeiramente, mas estatisticamente significativa, maior em comparação com o grupo controle (1,9 mm<sup>2</sup> versus 1,7 mm<sup>2</sup>, respectivamente). Como esperado, o grupo glaucoma também apresentou *MRW* e espessura da CFNRp globais mais finos e MD da campimetria computadorizada mais negativo (Anexo, Tabela 1; Apêndice, Artigo).

Houve 5.904 pontos de medida *MRW* (2 pontos por 24 varreduras radiais em 123 indivíduos) analisados em cada grupo. As CRPs foram identificadas com menor frequência no grupo glaucoma em comparação com o grupo controle (448 [7,6%] em comparação com 728 [12,3%] pontos de medida, respectivamente;  $P < 0,01$ ). As CRPs foram classificadas como indeterminadas em 24 (0,4%) e 43 (0,7%) pontos de medida nos grupos glaucoma e controle, respectivamente. Dos 48 pontos de medida de *MRW* avaliados em cada indivíduo, as CRPs foram encontradas em uma mediana de 2 pontos (4,2 [0,1 a 12,5] %) por indivíduo no grupo glaucoma e em 4 pontos (8,3 [2,1 a 18,7] %) por indivíduo no grupo controle. Essas diferenças de proporção foram estatisticamente significativas ( $P < 0,01$ ). Além disso, o grupo glaucoma teve menos indivíduos com pelo menos um ponto de medida de *MRW* com CRPs em comparação com o grupo controle (79 [64,2%] e 107 [87,0%]), respectivamente,  $P < 0,01$ ).

As CRPs estavam frequentemente presentes em localizações temporais de ambos os grupos glaucoma e controle, com frequências mais altas no grupo controle (Anexo, Figura 3). No setor temporal (de acordo com as definições do setor Garway-Heath),<sup>37</sup> as CRPs foram encontradas em uma mediana de 1 dos 13 pontos de medida naquele setor (7,7 [0,0 - 38,5] %) no grupo glaucoma e em uma mediana de 4 pontos de medida (30,8 [7,7 - 61,5] %) no grupo controle. Nos outros setores<sup>37</sup>, esses valores não foram maiores que 0. Devido à baixa frequência das CRPs em todos os outros setores, o efeito do

ajuste de MRW para as CRPs na capacidade diagnóstica e sua correlação com espessura da CFNRp foi realizado globalmente e apenas para o setor temporal.

As curvas ROC para valores globais de *MRW* e *MRWa* foram altamente semelhantes em forma (Anexo, Figura 4). As áreas sob as curvas ROC para valores globais de *MRW* e *MRWa* foram semelhantes ( $P = 0,07$ ). A sensibilidade com especificidade de 95% indicou que o ajuste para as CRPs não alterou significativamente a capacidade diagnóstica ( $P = 1,00$ ). No setor temporal, as curvas ROC também foram semelhantes (Anexo, Figura 4), no entanto, a área sob a curva ROC foi marginalmente menor após o ajuste para as CRPs ( $P = 0,04$ ), com uma sensibilidade menor, porém não estatisticamente significativa, à 95% de especificidade ( $P = 0,56$ ).

O ajuste da métrica de MRW de acordo com a espessura das CRPs não proporcionou melhora significativa da sua correlação com o parâmetro de espessura da CFNRp, seja globalmente ou no setor temporal, e tanto no grupo glaucoma quanto no grupo controle (Anexo, Figura 5).

## 6. DISCUSSÃO

Com os avanços na tecnologia da TCO, houve melhora importante no método de avaliação da rima do nervo óptico ou rima neuroretiniana.<sup>78-80</sup> A medida da rima neuroretiniana passou a ser baseada em referências anatômicas *BMO* (que determina a entrada de axônios para formar o nervo óptico) e a *MLI*, e também de acordo com a mínima distância entre estas estruturas, para contemplar as diferentes inclinações de entrada axonal no nervo óptico. Este parâmetro neuroretiniano chamado de *MRW*,<sup>78-80</sup> mostrou ser anatômica e geometricamente acurado, com capacidade diagnóstica semelhante a de outros parâmetros neuroretinianos da TCO de região peripapilar e macular;<sup>72-74</sup> e superior ao parâmetro prévio da TCO de rima neuroretiniana.<sup>27</sup> Esta evolução proporcionou que a avaliação bidimensional do nervo óptico ao exame clínico (disco óptico) pudesse ser complementada pela avaliação tridimensional com TCO com alta precisão e reprodutibilidade das medidas de rima neuroretiniana.<sup>80</sup>

Recentemente, porém, identificamos que a rima neuroretiniana era composta não somente pela extensão dos axônios, mas também pelas camadas externas da retina protrusas, fato que sugeriu que o parâmetro *MRW* poderia ter uso diagnóstico subestimado.<sup>40,94</sup> Em um primeiro estudo de prevalência, observamos que as camadas retinianas externas protrusas no nervo óptico estavam sistematicamente presentes nas medidas de *MRW* temporal de indivíduos saudáveis.<sup>94</sup> Nossa hipótese de que a subtração destas CRPs das medidas neuroretinianas com a TCO proporcionaria um parâmetro axonal mais específico e que teria uma melhor capacidade de diagnosticar glaucoma foi o próximo passo e objeto de estudo descrito nesta tese de doutorado.<sup>47</sup>

Nossos resultados demonstraram, porém, que não houve melhora da capacidade diagnóstica de *MRW* após subtração das CRPs. Os valores de sensibilidade à especificidade 95%, de *MRW* e *MRWa* foram respectivamente de 0.80 e 0.80 para parâmetros globais, e 0.71 e 0.59 para o parâmetro setorial temporal. A correlação de *MRW* com o parâmetro de espessura da CFNRP ficou praticamente inalterada após o ajuste para as CRPs, com discreta melhora

apenas do coeficiente de determinação (de 0.01 para 0.15) para parâmetro setorial temporal de indivíduos saudáveis.<sup>47</sup>

Inicialmente, estes resultados preponderantemente negativos pareceram surpreendentes, principalmente considerando a *rationale* sólida que suportou a nossa investigação. Entretanto, consideremos, primeiramente alguns aspectos metodológicos que guiaram nosso estudo e que fortalecem a acurácia de nossos resultados, para que então possamos compreendê-los, bem como suas potenciais interpretações.

Consideramos ser relevante discutir quatro aspectos metodológicos fundamentais deste estudo. Primeiramente, deve-se observar que foram incluídos apenas indivíduos que se autodescreviam como pertencentes à uma determinada origem étnica ou racial. Em estudo prévio para estimar prevalência das CRPs, havíamos investigado diferenças étnicas das CRPs, e somente um grupo com maior prevalência de CRPs foi incluído no estudo desta tese.<sup>94</sup> Esta estratégia se deu para estimarmos o efeito máximo do ajuste de MRW para as CRPs, que tinha potencial de favorecer o aparecimento de alguma melhoria diagnóstica, se houvesse alguma. Outro aspecto metodológico fundamental foi a inclusão de um número igual de indivíduos para cada década de vida em cada um dos grupos. Esta decisão reduziu a influência da idade nos resultados, e se justifica pela literatura robusta que reporta que o MRW é negativamente influenciada pelo envelhecimento.<sup>92,96</sup> Um terceiro aspecto a ser considerado é que, para cada olho de cada indivíduo incluído no estudo, a divisão setorial de MRW e espessura da CNFRp se baseou no eixo entre fóvea e BMO (foBMO). A utilização deste eixo foBMO reduz de forma significativa a variabilidade interindividual e reduz as chances de resultados falsos.<sup>82</sup> O setor temporal foi o único que apresentou CRPs com prevalência relevante, portanto foi o único avaliado em termos de capacidade diagnóstica e correlação com parâmetro neurorretiniano de espessura da CNFRp. Finalmente, é importante enfatizar que a identificação e medição das CRPs foi realizada manualmente por examinador treinado, e que demonstrou reprodutibilidade de 0.82 (considerada como “quase perfeita” de acordo com classificação de Landis & Koch)<sup>97</sup> para categorizar a presença ou ausência de CRPs.<sup>94</sup> O cumprimento destes aspectos

metodológicos reduziu a chance de achados ao acaso e sustentou a confiabilidade dos nossos resultados.<sup>47</sup>

Para que possamos compreender os principais resultados diagnósticos deste estudo é importante que consideremos a prevalência global e temporal das CRPs nos grupos controle (12.3% e 30.8%) e glaucoma (7.6% e 7.7%), respectivamente. Ainda, é importante que enfatizemos o processo até a geração dos parâmetros MRWa globais e setoriais: após a identificação e medição das CRPs foi feita a subtração da espessura das CRPs da espessura total de MRW em cada uma das 48 imagens da rima neuroretiniana de cada indivíduo. Desta forma, a maior frequência das CRPs no grupo controle em relação ao grupo glaucoma proporcionou uma maior quantidade de imagens de indivíduos do grupo controle que teve a medida de MRW subtraída devido à presença das CRPs. Como consequência deste ajuste métrico, os grupos controle e glaucoma passaram a apresentar valores de *MRWa* mais próximos ou semelhantes em relação aos valores de MRW. Como a capacidade diagnóstica de determinado parâmetro é mais alta quanto melhor a diferenciação entre os valores entre os grupos controle e glaucoma,<sup>98,99</sup> observamos ausência de alteração da capacidade diagnóstica com parâmetros globais e tendência de piora no setor temporal (sensibilidade reduzida de 0.71 para 0.59).

A nossa hipótese de que haveria melhora na capacidade diagnóstica de MRW após a subtração das camadas retinianas externas tinha uma premissa central e que foi desconstruída com os resultados deste estudo: a de que a prevalência das CRPs seria semelhante entre os grupos controle e glaucoma. Na região macular, as camadas retinianas externas (contidas nas CRPs na rima neuroretiniana) estão presentes tanto em indivíduos controle como naqueles com glaucoma, sendo esta igualdade de presença um dos fatores primordiais para que a subtração ou exclusão destas dos parâmetros neuroretinianos maculares tenha proporcionado melhoria da capacidade diagnóstica da TCO em região macular.<sup>87-90</sup> Entretanto este estudo mostrou presença de CRPs variáveis, com tendência importante de estarem presente no setor temporal e com menor prevalência no grupo glaucoma, proporcionando os resultados que podem ser compreendidos do ponto de vista estatístico, como descrito acima.

Outro aspecto fundamental inculcado na nossa hipótese era a busca de um parâmetro neuroretiniano que fosse melhor representante de dano axonal. Em estudo experimental de hipertensão ocular, Fortune já havia demonstrado que parâmetros de rima neuroretiniana (*MRW*) com TCO não apresentavam correlação estreita com contagem axonal retrolaminar, enquanto o parâmetro de espessura da CFNRp apresentava os melhores valores ( $r = 0.72$  e  $r = 0.80$ , respectivamente).<sup>40</sup> Estes achados foram atribuídos à maior quantidade de tecido não axonal na rima neuroretiniana, como o tecido conectivo, de células gliais, de vasos sanguíneos e de camadas retinianas externas protrusas na rima neuroretiniana. Neste estudo, corroboramos esta explicação ao demonstramos melhora discreta na correlação de *MRWa* com a espessura da CFNRp, (e potencialmente com a contagem axonal) quando a prevalência das CRPs foi máxima, ou seja, no setor temporal do grupo controle. Entretanto, a tendência de piora da capacidade diagnóstica de *MRWa* (após subtração das CRPs das medidas de *MRW*) sugere que embora o *MRWa* possa representar medida de rima neuroretiniana mais específica de conteúdo axonal, este parâmetro não proporciona melhoria da capacidade diagnóstica em relação ao *MRW*.

Em estudos experimentais de hipertensão ocular, parâmetros de medida rima neuroretiniana com TCO, como o *MRW*, foram capazes de identificar alteração glaucomatosa de maior magnitude e que precede alterações com o parâmetro de espessura da CFNRp com a TCO.<sup>69,100,101</sup> Este achado sugere que os parâmetros de medida da rima neuroretiniana manifestam as alterações conformacionais que ocorrem na cabeça do nervo óptico, enquanto que o parâmetro de espessura da CFNRp deve demonstrar dano correspondente especificamente ao componente axonal. Burgoyne descreveu a evolução do entendimento da fisiopatologia do glaucoma ao articular o glaucoma como doença que fundamentalmente envolve alterações biomecânicas na cabeça do nervo óptico, ou seja, na rima neuroretiniana, além de deformações na lâmina cribiforme, expansão do canal óptico, e abaulamento da esclera peripapilar.<sup>102</sup>

Neste contexto, podemos especular alguns pontos através dos nossos resultados. Primeiramente, que a redução da prevalência das CRPs poderia ser também, de alguma forma, consequência destas alterações biomecânicas na cabeça do nervo óptico. Uma outra potencial explicação para a redução das

CRPs no grupo glaucoma em relação ao grupo controle, seria o consumo das CRPs com o processo glaucomatoso. Entretanto, seria necessário realizar estudos longitudinais para a confirmação destas hipóteses. Ainda, considerando o nervo óptico como estrutura que sofre estas alterações biomecânicas, é possível que a exclusão ou subtração de parte do tecido da rima neuroretiniana das medidas de TCO, como as CRPs, poderia trazer uma redução do sinal (e da identificação) de alterações biomecânicas na rima neuroretiniana.

Finalmente, nossos resultados indicam que as medidas de todo o componente de rima neuroretiniana com *MRW* deve proporcionar um parâmetro que melhor representa o complexo processo de dano glaucomatoso na cabeça do nervo óptico. Neste estudo demonstramos capacidade diagnóstica de 0.80 para o parâmetro global, semelhante aos valores previamente encontrados por outros autores em populações diferentes.<sup>47</sup> A associação das informações estruturais obtidas com TCO da rima neuroretiniana, especificamente com o parâmetro *MRW*, com outros parâmetros neuroretinianos como espessura da CFNRp e da mácula devem proporcionar a melhor investigação de glaucoma, em conjunto com a avaliação do disco óptico e da região peripapilar ao exame clínico e exame funcional com campimetria computadorizada.<sup>36,39</sup> A correlação entre este múltiplos parâmetros é complexa, imperfeita, porém necessária.<sup>76</sup> A grande quantidade de informação gerada pelos exames em glaucoma nos desafia, e exige maior conhecimento e atualização constante dos oftalmologistas para o melhor manejo dos nossos pacientes.



## 7. CONCLUSÕES

1. A comparação dos dois parâmetros de rima neuroretiniana gerados por TCO demonstrou que o novo parâmetro *MRWa* apresentou capacidade diagnóstica semelhante ao parâmetro *MRW*.
2. A comparação da correlação de cada um dos dois parâmetros de rima neuroretiniana (*MRW* e *MRWa*) com o parâmetro de espessura da CFNRp demonstrou ser semelhante com discreta superioridade na correlação incluindo *MRWa* em relação à correlação incluindo *MRW*, no setor temporal.

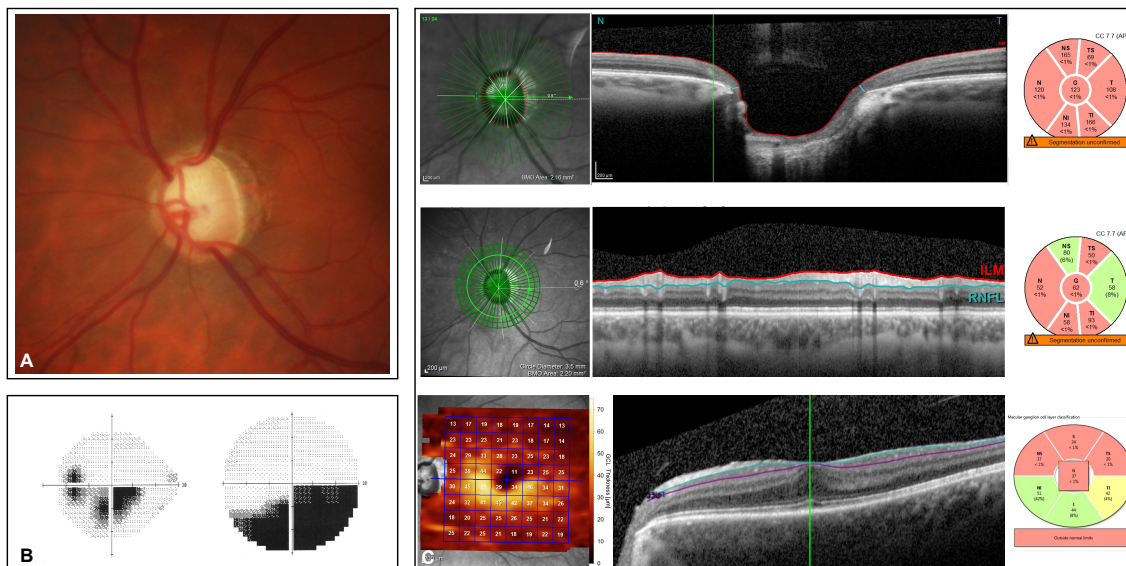
## 8. ANEXOS

Tabela 1. Resumo das principais variáveis relacionadas aos indivíduos participantes do estudo

Variável	Glaucoma	Controle	<i>P</i>
Idade (anos)	72.8 (64.6 - 77.4)	70.5 (64.5 - 75.8)	0.34
Área de BMO (mm <sup>2</sup> )	1.9 (1.6 - 2.3)	1.7 (1.5 - 2)	< 0.01
<i>MRW</i> global (µm)	295.3 (276.5 - 318.3)	331.2 (317.1 - 341.8)	< 0.01
Espessura da CFNRp global (µm)	66.3 (57.5 - 76.9)	93.7 (87.2 - 99.3)	< 0.01
MD da campimetria (dB)	-4.4 (-10.3 - -2.1)	0.0 (-0.6 - 0.8)	< 0.01

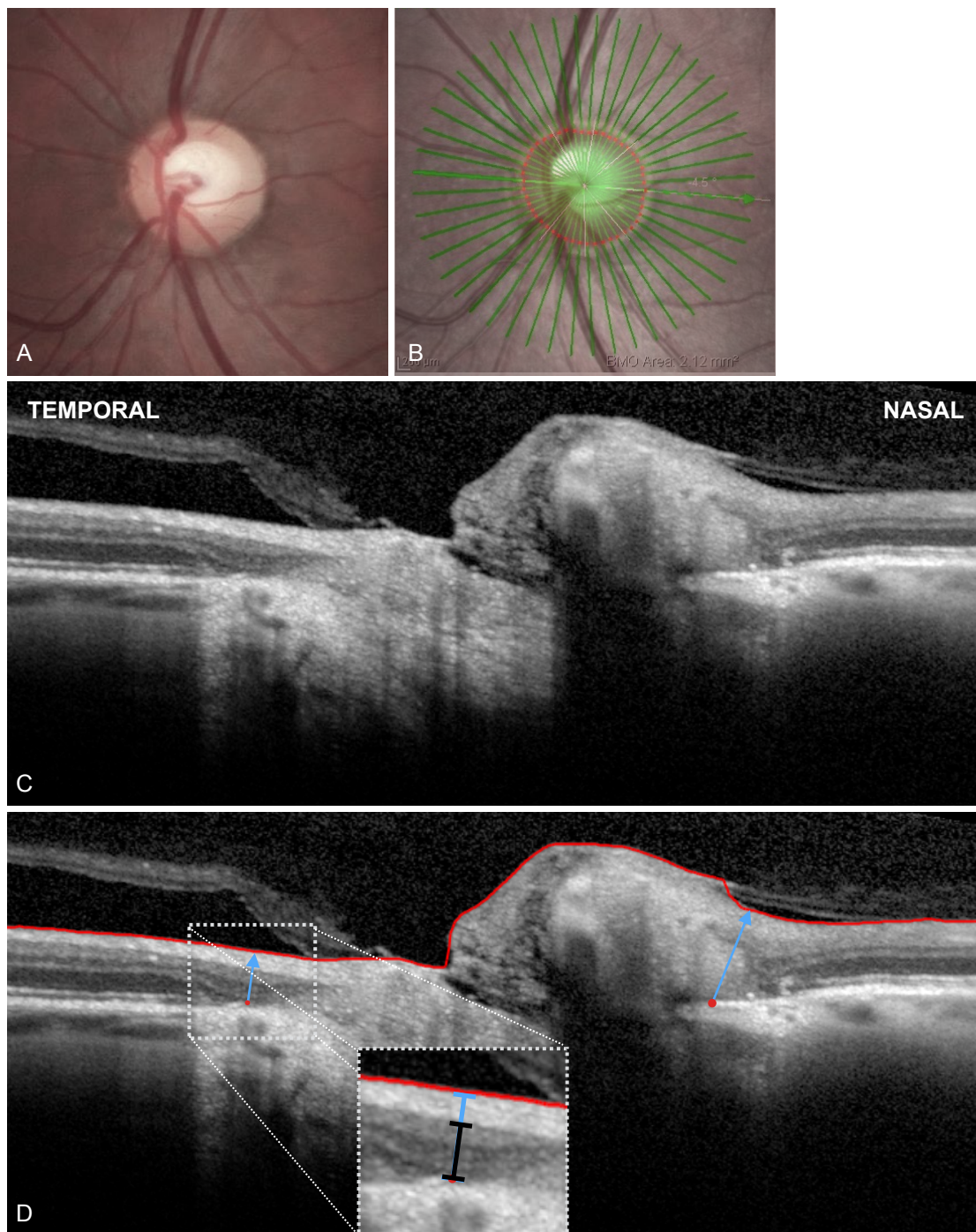
BMO = do inglês, *Bruch's membrane opening* ou Abertura da Membrana de Bruch; *MRW* = do inglês, *minimum rim width* ou Mínima Espessura de Rima Neuroretiniana; CFNRp = camada de fibras nervosas peripapilar; MD = do inglês, *mean deviation* ou Desvio Médio.

Figura 1. Avaliação diagnóstica de glaucoma com exames estruturais e funcionais



Exames para investigação de glaucoma em olho esquerdo de determinado paciente. Figura A apresenta fotografia do disco óptico com alterações características relacionadas ao glaucoma, como ausência de rima neuroretiniana visível em região superior do disco óptico. Figura B apresenta exames de campimetria computadorizada (estratégias 24-2 [imagem à esquerda] e 10-2), nos quais é observada a perda de sensibilidade visual em hemicampo inferior da visão, inclusive em região central. Figura C apresenta exames de tomografia de coerência óptica (TCO), da rima neuroretiniana, da camada de fibras nervosas na região peripapilar e de células ganglionares na região macular (respectivamente, com início em cima). Em C, à esquerda pode-se notar a localização da varredura com TCO; no centro, as imagens obtidas com a varredura em cada topografia; e à direita, as classificações normativas para parâmetros globais e setoriais. Neste caso selecionado para ilustrar dano glaucomatoso, os exames da TCO são consensuais em indicar anormalidade globalmente e em alguns setores, e corroboram o diagnóstico de glaucoma em estágio avançado, em conjunto com os exames de fotografia de disco óptico e campimetria computadorizada.

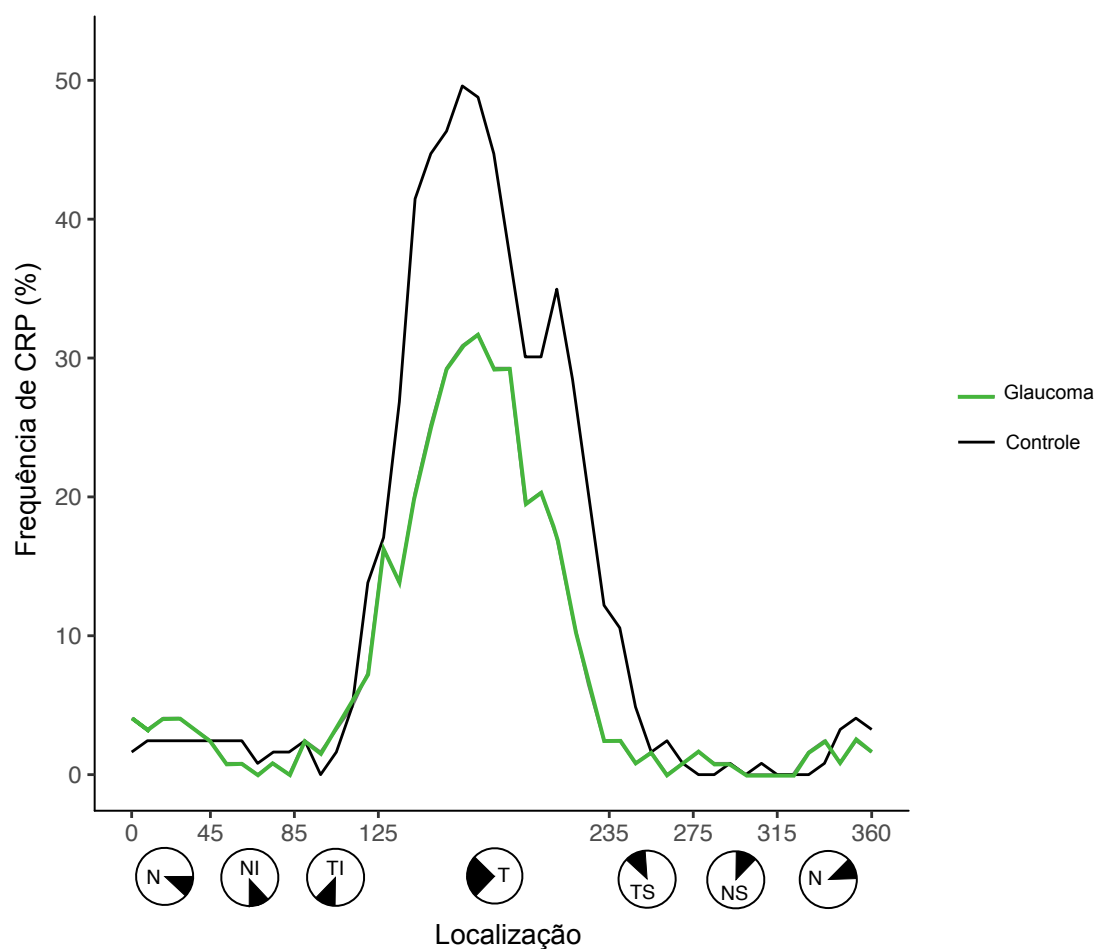
Figura 2. Camadas retinianas protrusivas na rima neuroretiniana da cabeça do nervo óptico



Camadas retinianas protrusivas (CRPs) identificadas na rima neuroretiniana temporal em uma varredura radial obtida com tomografia de coerência óptica (TCO) da cabeça do nervo óptico. Em A, observa-se fotografia do disco óptico.

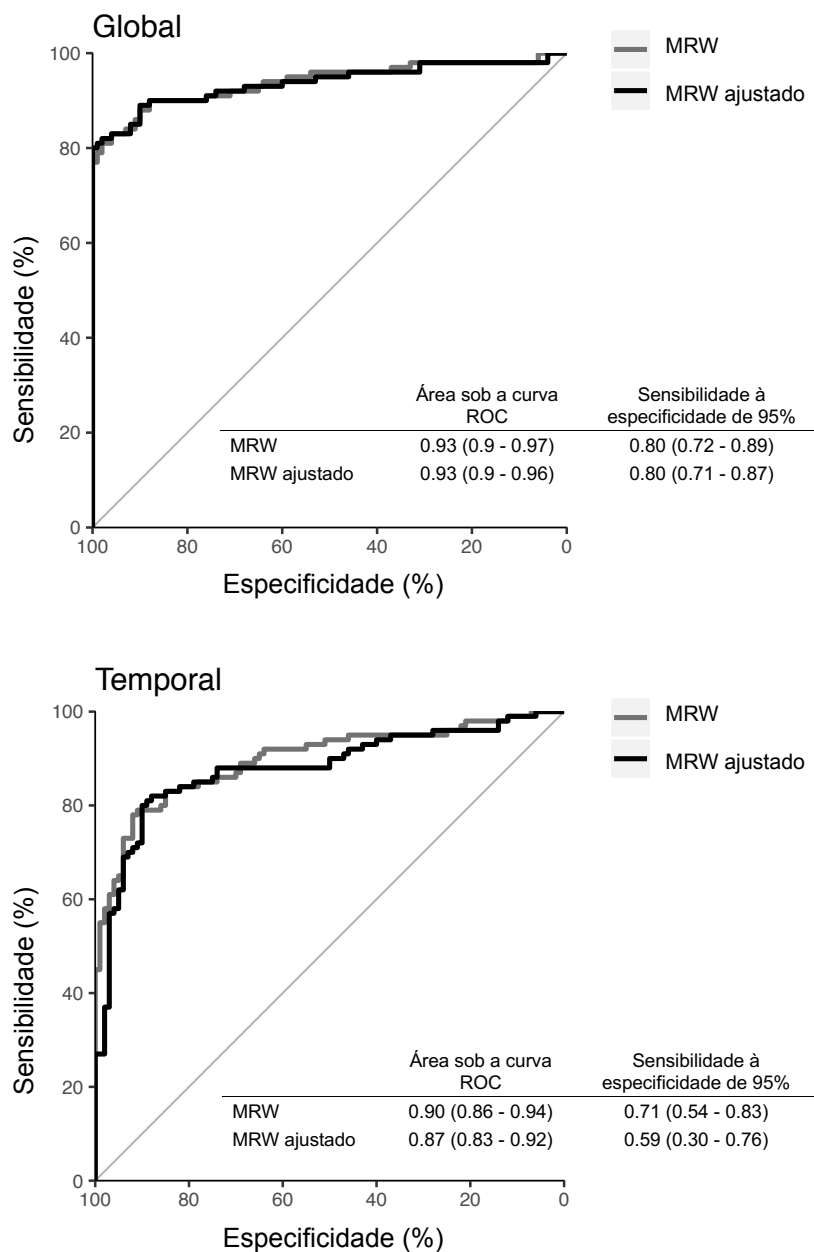
Em B, observa-se fotografia do disco óptico sobreposta com a mesma imagem infra-vermelha adquirida com TCO; as linhas verdes representam os locais onde cada varredura radial é obtida, sendo que a linha verde de tom mais escuro é o local onde a varredura radial demonstrada em C e D foi obtida. Em D, observa-se anotações identificando a abertura da membrana de Bruch (pontos vermelhos), a membrana limitante interna (linha vermelha) e o vetor de medida da rima neuroretiniana de acordo com a mínima distância entre estas referências (do inglês, *minimum rim width* ou *MRW*) (setas azuis). A barra preta mostra a espessura das CRPs (neste caso, 107  $\mu\text{m}$ , representando 58,1% da medida total de *MRW* [184  $\mu\text{m}$ ]). A subtração das CRPs do total de *MRW* determina o novo parâmetro de *MRWa* (neste caso, 77  $\mu\text{m}$ ).

Figura 3. Frequência das camadas retiniais protrusas nos grupos controle e glaucoma



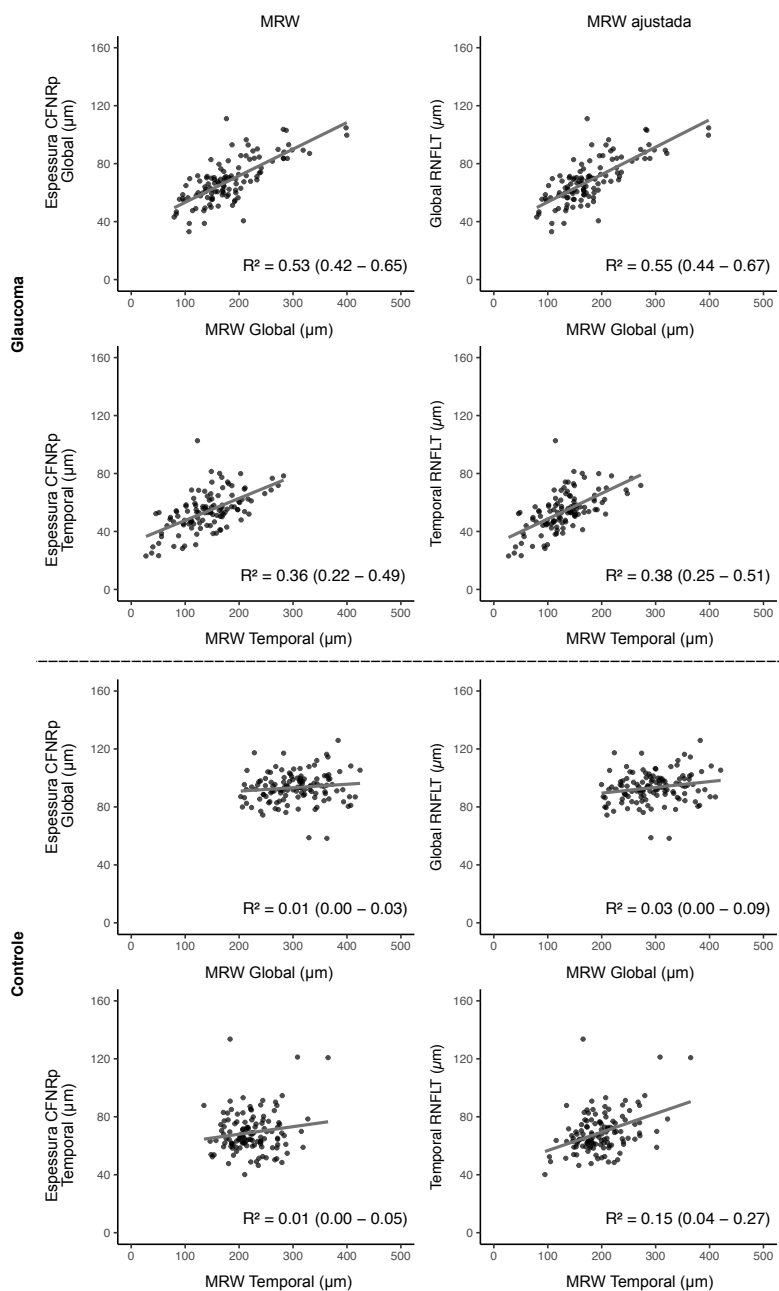
As medidas de rima neuroretiniana com o parâmetro *minimum rim width (MRW)* no setor temporal apresentaram as maiores frequências de camadas retinianas protrusas (CRPs) em ambos os grupos, com o grupo controle (37,4%) tendo uma frequência maior do que o grupo glaucoma (20,3%). Para ambos os grupos, a frequência das CRPs nos demais setores foi sempre inferior a 5,0%.

Figura 4. Capacidade diagnóstica dos parâmetros de medida da rima neuroretiniana com TCO



*Receiver operating characteristics (ROC)* para a medida de rima neuroretiniana com parâmetros *MRW* e *MRWa* (após ajuste ou subtração para as CRPs), globalmente e para o setor temporal. A área sob a curva *ROC* e a sensibilidade à especificidade de 95% estão descritos com os respectivos intervalos de confiança.

Figura 5. Correlações de parâmetros de TCO da rima neuroretiniana e parâmetro de espessura da camada de fibras nervosas peripapilar



Gráficos de dispersão mostrando as correlações entre a espessura da camada de fibras nervosas da retina peripapilar (CFNRp) e a medida de rima neuroretiniana com o parâmetro *minimum rim width* (MRW) antes e após o ajuste métrico (MRWa) para as CRPs. Os dados são mostrados para os grupos glaucoma e controle, globalmente e para o setor temporal. Os coeficientes de



determinação ( $R^2$ ) com os intervalos de confiança correspondentes também são descritos.

## 9. REFERÊNCIAS

1. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol* 2006;90:262–7.
2. Tham Y-C, Li X, Wong TY, et al. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology* 2014;121:2081–90.
3. Quigley HA. Ganglion cell death in glaucoma: pathology recapitulates ontogeny. *Aust N Z J Ophthalmol* 1995;23:85–91.
4. Quigley HA, McKinnon SJ, Zack DJ, et al. Retrograde axonal transport of BDNF in retinal ganglion cells is blocked by acute IOP elevation in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3460–6.
5. Quigley HA, Addicks EM, Green WR, Maumenee AE. Optic nerve damage in human glaucoma. II. The site of injury and susceptibility to damage. *Arch Ophthalmol (Chicago, Ill 1960)* 1981;99:635–49.
6. Burgoyne CF. A biomechanical paradigm for axonal insult within the optic nerve head in aging and glaucoma. *Exp Eye Res* 2011;93:120–32.
7. Hart WM, Becker B. The onset and evolution of glaucomatous visual field defects. *Ophthalmology* 1982;89:268–79.
8. HEIJL A, LUNDQVIST L. THE FREQUENCY DISTRIBUTION OF EARLIEST GLAUCOMATOUS VISUAL FIELD DEFECTS DOCUMENTED BY AUTOMATIC PERIMETRY. *Acta Ophthalmol* 2009;62:658–664.
9. De Moraes CG, Demirel S, Gardiner SK, et al. Effect of treatment on the rate of visual field change in the ocular hypertension treatment study observation group. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:1704–9.
10. Leung CKS, Lindsey JD, Crowston JG, et al. In vivo imaging of murine retinal ganglion cells. *J Neurosci Methods* 2008;168:475–8.
11. Smith CA, Chauhan BC. In vivo imaging of adeno-associated viral vector labelled retinal ganglion cells. *Sci Rep* 2018;8:1490.
12. Hitchings RA, Wheeler CA. The optic disc in glaucoma. IV: Optic disc evaluation in the ocular hypertensive patient. *Br J Ophthalmol* 1980;64:232–239.
13. Zangalli C, Gupta SR, Spaeth GL. The disc as the basis of treatment for

- glaucoma. *Saudi J Ophthalmol* 2011;25:381–387.
14. Primrose J. Early signs of the glaucomatous disc. *Br J Ophthalmol* 1971;55:820–5.
  15. Reis AS, Toren A, Nicoleta MT. Clinical Optic Disc Evaluation in Glaucoma. *Eur Ophthalmic Rev* 2012;06:92.
  16. Abrams LS, Scott IU, Spaeth GL, et al. Agreement among optometrists, ophthalmologists, and residents in evaluating the optic disc for glaucoma. *Ophthalmology* 1994;101:1662–7.
  17. Varma R, Steinmann WC, Scott IU. Expert agreement in evaluating the optic disc for glaucoma. *Ophthalmology* 1992;99:215–21.
  18. Rossetto J, Melo Jr LA, Campos M, Tavares I. Agreement on the evaluation of glaucomatous optic nerve head findings by ophthalmology residents and a glaucoma specialist. *Clin Ophthalmol* 2017;Volume 11:1281–1284.
  19. Strouthidis NG, Grimm J, Williams GA, et al. A Comparison of Optic Nerve Head Morphology Viewed by Spectral Domain Optical Coherence Tomography and by Serial Histology. 2010;51:1464–1474.
  20. Wilensky JT, Kolker AE. Peripapillary changes in glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1976;81:341–5.
  21. Bussell II, Wollstein G, Schuman JS. OCT for glaucoma diagnosis, screening and detection of glaucoma progression. *Br J Ophthalmol* 2014;98:ii15–ii19.
  22. Heidelberg Engineering GmbH. Glaucoma Module Premium Edition User Manual Software Version 6.7. 2016.
  23. Forte R, Cennamo GL, Finelli ML, de Crecchio G. Comparison of time domain Stratus OCT and spectral domain SLO/OCT for assessment of macular thickness and volume. *Eye* 2009;23:2071–2078.
  24. Wojtkowski M, Srinivasan V, Ko T, et al. Ultrahigh-resolution, high-speed, Fourier domain optical coherence tomography and methods for dispersion compensation. *Opt Express* 2004;12:2404–22.
  25. Park SC, De Moraes CG V, Teng CC, et al. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of deep optic nerve complex structures in glaucoma. *Ophthalmology* 2012;119:3–9.
  26. Loureiro MM, Vianna JR, Danthurebandara VM, et al. Visibility of Optic Nerve Head Structures With Spectral-domain and Swept-source Optical

- Coherence Tomography. *J Glaucoma* 2017;26:792–797.
27. Chauhan BC, O’Leary N, AlMobarak FA, et al. Enhanced detection of open-angle glaucoma with an anatomically accurate optical coherence tomography-derived neuroretinal rim parameter. *Ophthalmology* 2013;120:535–543.
  28. Susanna R, Nicolela MT, Soriano DS, Carvalho C. Automated perimetry: a study of the glaucoma hemifield test for the detection of early glaucomatous visual field loss. *J Glaucoma* 1994;3:12–6.
  29. Sihota R, Gupta V, Tuli D, et al. Classifying patterns of localized glaucomatous visual field defects on automated perimetry. *J Glaucoma* 2007;16:146–152.
  30. Murata H, Hirasawa H, Aoyama Y, et al. Identifying areas of the visual field important for quality of life in patients with glaucoma. *PLoS One* 2013;8:e58695.
  31. Junoy Montolio FG, Wesselink C, Gordijn M, Jansonius NM. Factors that influence standard automated perimetry test results in glaucoma: test reliability, technician experience, time of day, and season. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:7010–7.
  32. Wohlrab T-M, Erb C, Rohrbach JM. Age-corrected normal values for perimetry. *Ophthalmologica* 2002;216:96–100.
  33. Kerrigan-Baumrind LA, Quigley HA, Pease ME, et al. Number of ganglion cells in glaucoma eyes compared with threshold visual field tests in the same persons. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:741–8.
  34. Jayme R, Vianna B, C. Chauhan, M Araie, R Asaoka, P Chan, H Danesh-Meyer, B Eadie, R George, H Goyeneche, A Ha, T Higashide, A Iwase, G Jóhannesson, Y Kim, M Loureiro, R Malik AM, M Nicolela, F Oddone, O Olawoye, S Orgül, M Pazos, H Quigley, P Rafuse, E Ravinet, A Reis, G Roberti, G Sekhar, S Senthil, L Shuba, G Sunaric Mégevand, L Torres, R Torres, L Vijaya, S Williams, T Yabana CZ. Pilot analysis of the web-application and inter-evaluator variability for the Crowd-Sourced Glaucoma Study. *Assoc Res Vis Ophthalmol Annu Meet* 2019.
  35. Johnson CA, Cioffi GA, Liebmann JR, et al. The relationship between structural and functional alterations in glaucoma: a review. *Semin*

- Ophthalmol 2000;15:221–33.
36. Garway-Heath DF, Friedman DS. How should results from clinical tests be integrated into the diagnostic process? *Ophthalmology* 2006;113:1479–80.
  37. Garway-Heath DF, Poinoosawmy D, Fitzke FW, Hitchings RA. Mapping the visual field to the optic disc in normal tension glaucoma eyes. *Ophthalmology* 2000;107:1809–15.
  38. Hood DC. Improving our understanding, and detection, of glaucomatous damage: An approach based upon optical coherence tomography (OCT). *Prog Retin Eye Res* 2017;57:46–75.
  39. Torres LA, Hatanaka M. Correlating Structural and Functional Damage in Glaucoma. *J Glaucoma* 2019;28:1079–1085.
  40. Fortune B, Hardin C, Reynaud J, et al. Comparing Optic Nerve Head Rim Width, Rim Area, and Peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer Thickness to Axon Count in Experimental Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:OCT404-12.
  41. Wygnanski T, Desatnik H, Quigley HA, Glovinsky Y. Comparison of ganglion cell loss and cone loss in experimental glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1995;120:184–9.
  42. Kendell KR, Quigley HA, Kerrigan LA, et al. Primary open-angle glaucoma is not associated with photoreceptor loss. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:200–5.
  43. Hasegawa T, Ooto S, Takayama K, et al. Cone Integrity in Glaucoma: An Adaptive-Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy Study. *Am J Ophthalmol* 2016;171:53–66.
  44. Vianna JR, Butty Z, Torres LA, et al. Outer retinal layer thickness in patients with glaucoma with horizontal hemifield visual field defects. *Br J Ophthalmol* 2018:bjophthalmol-2018-312753.
  45. Ishikawa H, Stein DM, Wollstein G, et al. Macular segmentation with optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2012–7.
  46. Brandao LM, Ledolter AA, Schötzau A, Palmowski-Wolfe AM. Comparison of Two Different OCT Systems: Retina Layer Segmentation and Impact on Structure-Function Analysis in Glaucoma. *J Ophthalmol* 2016;2016:8307639.

47. Torres LA, Jarrar F, Sharpe GP, et al. Clinical relevance of protruded retinal layers in minimum rim width measurement of the optic nerve head. *Br J Ophthalmol* 2019;103:1401–1405.
48. Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991;254:1178–81.
49. 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 (Chicago, Ill 1960)* 1995;113:586–96.
50. Gardiner SK, Boey PY, Yang H, et al. Structural measurements for monitoring change in glaucoma: Comparing retinal nerve fiber layer thickness with minimum rim width and area. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:6886–6891.
51. Michelessi M, Lucenteforte E, Oddone F, et al. Optic nerve head and fibre layer imaging for diagnosing glaucoma. *Cochrane database Syst Rev* 2015;93:CD008803.
52. Hwang YH, Kim YY, Kim HK, Sohn YH. Ability of cirrus high-definition spectral-domain optical coherence tomography clock-hour, deviation, and thickness maps in detecting photographic retinal nerve fiber layer abnormalities. *Ophthalmology* 2013;120:1380–7.
53. Bertuzzi F, Benatti E, Esemplio G, et al. Evaluation of Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Measurements for Glaucoma Detection. *J Glaucoma* 2014;23:232–239.
54. Lisboa R, Leite MT, Zangwill LM, et al. Diagnosing preperimetric glaucoma with spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2012;119:2261–9.
55. 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 (Chicago, Ill 1960)* 1982;100:135–46.
56. Curcio CA, Allen KA. Topography of ganglion cells in human retina. *J Comp Neurol* 1990;300:5–25.
57. Anctil JL, Anderson DR. Early foveal involvement and generalized depression of the visual field in glaucoma. *Arch Ophthalmol (Chicago, Ill 1960)*

- 1984;102:363–70.
58. Crabb DP, Smith ND, Glen FC, et al. How does glaucoma look?: patient perception of visual field loss. *Ophthalmology* 2013;120:1120–6.
  59. Zha Y, Huang W, Zhuang J, Cai J. Posterior pole asymmetry analysis and retinal nerve fibre layer thickness measurements in primary angle-closure suspect patients. *BMC Ophthalmol* 2019;19:4–9.
  60. Xu X, Guo X, Xiao H, et al. Reproducibility of macular ganglion cell-inner plexiform layer thickness in normal eyes determined by two different OCT scanning protocols. *BMC Ophthalmol* 2017;17:1–7.
  61. Medeiros FA, Tatham AJ. Structure versus Function in Glaucoma: The Debate That Doesn't Need to Be. *Ophthalmology* 2016;123:1170–2.
  62. Ohkubo S, Higashide T, Udagawa S, et al. Focal relationship between structure and function within the central 10 degrees in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5269–77.
  63. Lee J-W, Morales E, Sharifipour F, et al. The relationship between central visual field sensitivity and macular ganglion cell/inner plexiform layer thickness in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2017;101:1052–1058.
  64. Garg A, Hood DC, Pensec N, et al. Macular Damage, as Determined by Structure-Function Staging, Is Associated With Worse Vision-related Quality of Life in Early Glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2018;194:88–94.
  65. Rao HL, Qasim M, Hussain RSM, et al. Structure-Function Relationship in Glaucoma Using Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer Thickness Measurements. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:3883–8.
  66. Bambo MP, Güerri N, Ferrandez B, et al. Evaluation of the Macular Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer and the Circumpapillary Retinal Nerve Fiber Layer in Early to Severe Stages of Glaucoma: Correlation with Central Visual Function and Visual Field Indexes. *Ophthalmic Res* 2017;57:216–223.
  67. Kim S, Lee JY, Kim S-O, Kook MS. Macular structure-function relationship at various spatial locations in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2015;99:1412–8.
  68. Hood DC, Raza AS, de Moraes CG V, et al. Glaucomatous damage of the macula. *Prog Retin Eye Res* 2013;32:1–21.
  69. Fortune B, Reynaud J, Hardin C, et al. Experimental Glaucoma Causes Optic Nerve Head Neural Rim Tissue Compression: A Potentially Important

- Mechanism of Axon Injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:4403–11.
70. You JY, Park SC, Su D, et al. Focal lamina cribrosa defects associated with glaucomatous rim thinning and acquired pits. *JAMA Ophthalmol* 2013;131:314–20.
  71. Sharpe GP, Danthurebandara VM, Vianna JR, et al. Optic Disc Hemorrhages and Lamellar Disinsertions in Glaucoma. *Ophthalmology* 2016;123:1949–56.
  72. Garas A, Vargha P, Holló G. Diagnostic accuracy of nerve fibre layer, macular thickness and optic disc measurements made with the RTVue-100 optical coherence tomograph to detect glaucoma. *Eye* 2011;25:57–65.
  73. Nouri-Mahdavi K, Nowroozizadeh S, Nassiri N, et al. Macular Ganglion Cell/Inner Plexiform Layer Measurements with Spectral Domain Optical Coherence Tomography for Detection of Early Glaucoma and Comparison to Retinal Nerve Fiber Layer Measurements. *Am J Ophthalmol* 2013;156.
  74. Mwanza J-C, Budenz DL, Godfrey DG, et al. Diagnostic Performance of Optical Coherence Tomography Ganglion Cell–Inner Plexiform Layer Thickness Measurements in Early Glaucoma. *Ophthalmology* 2014;121:849–854.
  75. Abramoff MD, Lee K, Niemeijer M, et al. Automated segmentation of the cup and rim from spectral domain OCT of the optic nerve head. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:5778–5784.
  76. Hu Z, Abramoff MD, Kwon YH, et al. Automated segmentation of neural canal opening and optic cup in 3D spectral optical coherence tomography volumes of the optic nerve head. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:5708–5717.
  77. Hong SW, Koenigsman H, Ren R, et al. Glaucoma Specialist Optic Disc Margin, Rim Margin, and Rim Width Discordance in Glaucoma and Glaucoma Suspect Eyes. *Am J Ophthalmol* 2018;192:65–76.
  78. Reis ASC, Sharpe GP, Yang H, et al. Optic disc margin anatomy in patients with glaucoma and normal controls with spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2012;119:738–47.
  79. Reis ASC, O’Leary N, Yang H, et al. Influence of clinically invisible, but optical coherence tomography detected, optic disc margin anatomy on neuroretinal rim evaluation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:1852–1860.
  80. Chauhan BC, Burgoyne CF. From Clinical Examination of the Optic Disc to

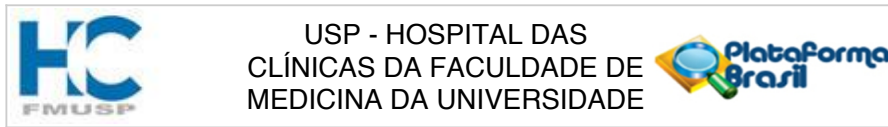


- Clinical Assessment of the Optic Nerve Head: A Paradigm Change. *Am J Ophthalmol* 2013;156:218-227.e2.
81. Gardiner SK, Ren R, Yang H, et al. A method to estimate the amount of neuroretinal rim tissue in glaucoma: Comparison with current methods for measuring rim area. *Am J Ophthalmol* 2014;157:957–970.
  82. Danthurebandara VM, Sharpe GP, Hutchison DM, et al. Enhanced structure-function relationship in glaucoma with an anatomically and geometrically accurate neuroretinal rim measurement. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;56:98–105.
  83. Torres LA, Sharpe GP, Hutchison DM, et al. Influence of Bruch's Membrane Opening Area in Diagnosing Glaucoma With Neuroretinal Parameters From Optical Coherence Tomography. *Am J Ophthalmol* 2019;208:94–102.
  84. Torres LA, Sharpe GP, Vianna JR, et al. Anatomical Features of Gray Crescent. *JAMA Ophthalmol* 2018.
  85. Enders P, Schaub F, Adler W, et al. The use of Bruch's membrane opening-based optical coherence tomography of the optic nerve head for glaucoma detection in microdiscs. *Br J Ophthalmol* 2017;101:530–535.
  86. Enders P, Schaub F, Adler W, et al. Bruch's membrane opening-based optical coherence tomography of the optic nerve head: a useful diagnostic tool to detect glaucoma in macrodiscs. *Eye (Lond)* 2018;32:314–323.
  87. Huang D, Chopra V, Lu AT-H, et al. Does optic nerve head size variation affect circumpapillary retinal nerve fiber layer thickness measurement by optical coherence tomography? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:4990–7.
  88. Funaki S, Shirakashi M, Abe H. Relation between size of optic disc and thickness of retinal nerve fibre layer in normal subjects. *Br J Ophthalmol* 1998;82:1242–5.
  89. Quigley HA, Coleman AL, Dorman-Pease ME. Larger optic nerve heads have more nerve fibers in normal monkey eyes. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1441–3.
  90. Jonas JB, Schmidt AM, Müller-Bergh JA, et al. Human optic nerve fiber count and optic disc size. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:2012–8.
  91. Mohammad S, Jarrar FS, Torres LA, et al. Impact of Head Tilt on Optical Coherence Tomography Image Orientation. *J Glaucoma* 2018;0000000000.

92. Chauhan BC, Danthurebandara VM, Sharpe GP, et al. Bruch's Membrane Opening Minimum Rim Width and Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in a Normal White Population: A Multicenter Study. *Ophthalmology* 2015;122:1786–94.
93. Danthurebandara VM, Vianna JR, Sharpe GP, et al. Diagnostic Accuracy of Glaucoma With Sector-Based and a New Total Profile-Based Analysis of Neuroretinal Rim and Retinal Nerve Fiber Layer Thickness. *Investig Ophthalmology Vis Sci* 2016;57:181.
94. Torres LA, Vianna JR, Jarrar F, et al. Protruded retinal layers within the optic nerve head neuroretinal rim. *Acta Ophthalmol* 2018;96:e493–e502.
95. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 1988;44:837–45.
96. Vianna JR, Danthurebandara VM, Sharpe GP, et al. Importance of normal aging in estimating the rate of glaucomatous neuroretinal rim and retinal nerve fiber layer loss. *Ophthalmology* 2015;122:2392–2398.
97. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33:159–74.
98. Swets JA. ROC analysis applied to the evaluation of medical imaging techniques. *Invest Radiol* 14:109–21.
99. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Casp J Intern Med* 2013;4:627–35.
100. Strouthidis NG, Fortune B, Yang H, et al. Longitudinal change detected by spectral domain optical coherence tomography in the optic nerve head and peripapillary retina in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1206–19.
101. He L, Yang H, Gardiner SK, et al. Longitudinal detection of optic nerve head changes by spectral domain optical coherence tomography in early experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:574–86.
102. Burgoyne CF, Downs JC, Bellezza AJ, et al. The optic nerve head as a biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage. *Prog Retin Eye Res* 2005;24:39–73.

# Apêndice

## Aprovações do CEP



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Impacto do ajuste da medida de rima neuroretiniana dada pelo tomógrafo de coerência óptica no diagnóstico de glaucoma

**Pesquisador:** MARCELO HATANAKA

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 79923017.1.0000.0068

**Instituição Proponente:** Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.630.729

#### **Apresentação do Projeto:**

Solicitação de inclusão de outro centro de pesquisa para aumentar a amostra a ser estudada.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

Inclusão de outro centro de pesquisa para aumentar a amostra a ser estudada.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Ausência de riscos.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Emenda adequada.

#### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Sem considerações.

#### **Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado.

#### **Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
**Bairro:** Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 2.630.729

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1068608_E1.pdf	14/02/2018 14:26:53		Aceito
Outros	Carta_EUA_Aprovacao_Emenda_e_traducacao.pdf	14/02/2018 14:22:34	MARCELO HATANAKA	Aceito
Outros	FORM_Emenda_Projeto_Tese_Lucas_Torres.pdf	14/02/2018 14:19:02	MARCELO HATANAKA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_Emenda_Projeto_Tese_Lucas_Torres.doc	14/02/2018 14:18:29	MARCELO HATANAKA	Aceito
Folha de Rosto	FR_Protocolo_Dr_Hatanaka_assinada.pdf	13/11/2017 10:40:01	MARCELO HATANAKA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.doc	13/11/2017 10:39:25	MARCELO HATANAKA	Aceito
Orçamento	Recursos_para_pesquisa.pdf	13/11/2017 10:38:43	MARCELO HATANAKA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_VINCULO_PARTICIPANTE_EXTERNO.pdf	31/10/2017 09:30:32	MARCELO HATANAKA	Aceito
Outros	Oficio_331_Aprovacao_Depto_Oftalmologia.pdf	31/10/2017 09:29:51	MARCELO HATANAKA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Tese_Lucas_Torres.doc	25/10/2017 12:19:11	MARCELO HATANAKA	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 02 de Maio de 2018

Assinado por:  
**Joel Faintuch**  
(Coordenador)

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
**Bairro:** Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

February 22, 2017

Dr. Balwantray Chauhan  
Medicine\Ophthalmology & Visual Sciences  
[1276 South Park Street Halifax, Nova Scotia B3H 2Y9](#)

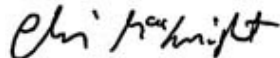
Dear Dr. Chauhan:

***RE: New Perimetric Techniques for the earliest Detection of Open Angle Glaucoma***

**NSHA REB ROMEO FILE #: 1020688**

Your request for Annual Approval has been reviewed by an assigned Co-Chair and on behalf of the Nova Scotia Health Authority Research Ethics Board (NSHA REB), I am pleased to confirm the Board's approval to continue this project up to the expiry date, March 04, 2018.

Sincerely,



Dr. Chris MacKnight, Executive Chair

This statement is in lieu of Health Canada's Research Ethics Board Attestation:

*The Research Ethics Board for the Nova Scotia Health Authority operates in accordance with:*

- *Food and Drug Regulations, Division 5 "Drugs for Clinical Trials Involving Human Subjects"*
- *Natural Health Products Regulations, Part 4 "Clinical Trials Involving Human Subjects"*
- *Tri-Council Policy Statement: Ethical Conduct for Research Involving Humans (TCPS 2)*
- *ICH Good Clinical Practice: Consolidated Guideline (ICH-E6)*

# Clinical relevance of protruded retinal layers in minimum rim width measurement of the optic nerve head

Lucas A Torres,<sup>1,2</sup> Faisal Jarrar,<sup>3</sup> Glen P Sharpe,<sup>1</sup> Donna M Hutchison,<sup>1</sup> Eduardo Ferracioli-Oda,<sup>2</sup> Marcelo Hatanaka,<sup>2</sup> Marcelo T Nicoleta,<sup>1</sup> Jayme R Vianna,<sup>1</sup> Balwantray C Chauhan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Dalhousie University, Halifax, Canada  
<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil  
<sup>3</sup>Faculty of Medicine, Dalhousie University, Halifax, Canada

## Correspondence to

Dr Balwantray C Chauhan, Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Dalhousie University, Halifax B3H 2Y9, Canada; bal@dal.ca

Received 14 August 2018  
Revised 29 October 2018  
Accepted 14 November 2018

## ABSTRACT

**Background/aims** Optical coherence tomography (OCT) imaging of the optic nerve head minimum rim width (MRW) has recently been shown to sometimes contain components besides extended retinal nerve fibre layer (RNFL). This study was conducted to determine whether excluding these components, termed protruded retinal layers (PRLs), from MRW increases diagnostic accuracy for detecting glaucoma.

**Methods** In this cross-sectional study, we included 123 patients with glaucoma and 123 normal age-similar controls with OCT imaging of the optic nerve head (24 radial scans) and RNFL (circle scan). When present, PRLs were manually segmented, and adjusted MRW measurements were computed. We compared diagnostic accuracy of adjusted versus unadjusted MRW measurement. We also determined whether adjusted MRW correlates better with RNFL thickness compared with unadjusted MRW.

**Results** The median (IQR) visual field mean deviation of patients and controls was  $-4.4$  ( $-10.3$  to  $-2.1$ ) dB and  $0.0$  ( $-0.6$  to  $0.8$ ) dB, respectively. In the 5904 individual B-scans, PRLs were identified less frequently in patients (448, 7.6%) compared with controls (728, 12.3%;  $p < 0.01$ ) and were present most frequently in the temporal sector of both groups. Areas under the receiver operating characteristic curves and sensitivity values at 95% specificity indicated that PRL adjustment did not improve diagnostic accuracy of MRW, globally or temporally. Furthermore, adjusting MRW for PRL did not improve its correlation with RNFL thickness in either group.

**Conclusion** While layers besides the RNFL are sometimes included in OCT measurements of MRW, subtracting these layers does not impact clinical utility.

has increased diagnostic accuracy for glaucoma and strengthened the relationship between rim measurements and the visual field.<sup>3,6</sup>

However, recent work first by Fortune and colleagues in monkeys<sup>7</sup> and subsequently by us in normal human subjects<sup>8</sup> has shown that the MRW can contain the extent of the peripapillary retinal nerve fibre layer (RNFL) and portions of other retinal layers, termed protruded retinal layers (PRLs; figure 1).<sup>8</sup> We showed that PRLs are present in around 76% of the normal population and when present constitute around 20% of the MRW. There is controversy whether damage occurs to outer retinal layers in glaucoma,<sup>9–12</sup> and therefore whether PRL thickness should be subtracted from MRW measurements. An adjusted MRW parameter could provide a more accurate estimate of axonal loss, possibly improving the diagnostic accuracy for glaucoma and the correlation between MRW and RNFL thickness (RNFLT).

In this study, we determined whether it was clinically beneficial to employ an adjusted MRW parameter that subtracts PRL when present. We compared PRL in patients with glaucoma and normal control subjects, and the impact of an adjusted MRW on diagnostic accuracy for glaucoma and its correlation with RNFLT.

## METHODS

### Participants

In this cross-sectional study, we included a similar number of treated white patients with open-angle glaucoma and white healthy controls within each age decade group, from 50 years to 90 years of age. These subjects were recruited from the Eye Care Centre, Nova Scotia Health Authority, and from the Clinics Hospital of University of Sao Paulo. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. All participants provided informed consent.

The inclusion criteria for glaucoma patients were:

- (1) optic disc photographs documenting glaucomatous changes with ONH rim thinning or notching;
- (2) visual field defects compatible with glaucoma and with a positive glaucoma hemifield test; and (3) open angles by gonioscopy. The inclusion criteria for controls were: (1) normal eye examination with absence of ocular disease or prior intraocular surgery (except cataract or refractive surgery); (2) intraocular pressure of 21 mm Hg or less; and (3)

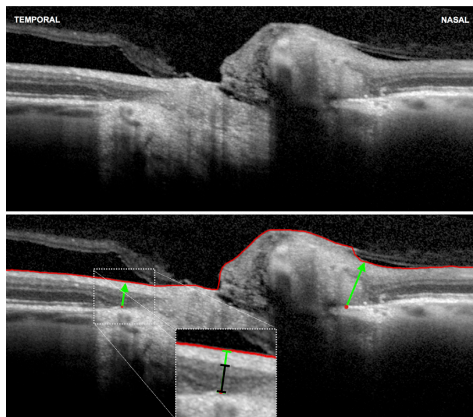


© Author(s) (or their employer(s)) 2018. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

**To cite:** Torres LA, Jarrar F, Sharpe GP, et al. *Br J Ophthalmol* Epub ahead of print: please include Day Month Year. doi:10.1136/bjophthalmol-2018-313070

## INTRODUCTION

Optic nerve head (ONH) assessment has undergone continuous improvement with the introduction and enhancement of optical coherence tomography (OCT) technology. Examples include visualisation of deeper optic ONH structures<sup>1,2</sup> and recognition of anatomical landmarks for quantitative measurements of the neuroretinal rim.<sup>3,4</sup> The use of Bruch's membrane opening (BMO) as the outermost border of the rim to derive a minimum rim width (MRW) measurement, defined as the minimum distance between BMO and the internal limiting membrane,



**Figure 1** Protruded retinal layers (PRLs) in the temporal neuroretinal rim in a radial B-scan acquired with optical coherence tomography (unmarked image, top). Annotations (marked image, bottom) identify the Bruch's membrane opening (red dots), internal limiting membrane (red line) and minimum rim width (MRW) vector (green arrows). Black bar (inset) shows PRL thickness (in this case, 107  $\mu\text{m}$ , making up 58.1% of the MRW (184  $\mu\text{m}$ )).

normal visual field, with a glaucoma hemifield test and mean deviation (MD) within normal limits. All subjects had to have best corrected visual acuity of 20/40 or better, refractive spherical error within 6 dioptres and astigmatism within 3 dioptres.

Subjects were excluded if either of the following were found: (1) non-reliable visual field (determined by examination with false negative and false positive rate  $\geq 33\%$ , fixation loss  $\geq 20\%$  and taking into account perimetrist's notes) and (2) OCT images of insufficient quality (truncated B-scans, image quality  $< 20$ ). When both eyes of a subject were eligible, one eye was randomly selected for analysis.

#### OCT imaging

In patients with glaucoma, OCT images of the ONH and peripapillary retina (Spectralis; software version 6.7; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) were obtained in a subsequent visit after glaucoma diagnosis was made. In control subjects, the OCT images were obtained on the same day as the rest of the examinations. Images were acquired with software that aligns the subject's fovea to the BMO axis (Anatomic Position System, Heidelberg Engineering).<sup>4</sup> The ONH scan pattern consisted of 24 radially equidistant B-scans of the ONH, with 768 A-scans per B-scan, each derived from an average of 25 scans. Each B-scan contained two BMO positions and two MRW measurement points, totaling 48 MRW points per eye. Peripapillary RNFLT measurements were acquired with a 3.5 mm diameter circle scan that contained 1536 A-scans per B-scan and averaged 100 times.

#### Image segmentation

At each MRW measurement point, PRL, defined as any retinal layer besides the RNFL included within MRW,<sup>8</sup> was classified as being present, absent or indeterminate by a single trained examiner. When PRLs were present, their total width was segmented

and measured with the calliper tool of the OCT software along the MRW vector (figure 1). This method of identifying and quantifying PRL has been previously shown to have high intraindividual reproducibility.<sup>8</sup>

#### Data analysis

The frequency of PRL among the glaucoma and control groups was compared. For each MRW measurement point in which PRLs were present, an adjusted MRW value was calculated by subtracting the PRL thickness from the total (unadjusted) MRW value. For MRW measurement points where PRLs were classified as absent or indeterminate, PRL thickness was considered to be 0  $\mu\text{m}$ . For each eye, the global unadjusted and adjusted MRW was calculated as the mean of all 48 MRW measurement points. The mean of all MRW measurements points within each sector<sup>13</sup> was also used to calculate sectoral unadjusted and adjusted MRW.

Diagnostic performance for unadjusted and adjusted MRW was conducted with analysis of the area under the receiver operating characteristics (ROC) curve and sensitivity at 95% specificity. The DeLong test<sup>14</sup> was used to compare the area under the ROC curve of unadjusted and adjusted MRW, while the McNemar test was used to compare sensitivity at 95% specificity. The correlation between RNFLT and both unadjusted and adjusted MRW was evaluated with linear regression analysis.

Data analyses were performed with the open-source software R (V3.3.1) and package *pROC* (V1.9.1). Unless otherwise indicated, descriptive variables were summarised with medians and IQRs, while the precision of point estimates are accompanied with 95% CIs. The Mann-Whitney and  $\chi^2$  tests were used respectively for comparison of continuous and categorical variables.

#### RESULTS

We included 123 glaucoma patients and 123 control subjects in the study. A summary of background variables of the subjects is shown in table 1. By design, the two groups were of similar age, however, the glaucoma group had slightly, but statistically significantly, larger BMO area compared with the control group (1.9  $\text{mm}^2$  vs 1.7  $\text{mm}^2$ , respectively). As expected, the glaucoma group also had thinner global MRW and RNFLT and worse visual field MD (table 1).

From the 5904 MRW measurement points (2 points per 24 radial B-scans in 123 subjects) analysed in each group, PRLs were identified less frequently in the glaucoma group compared with the control group (448 (7.6%) compared with 728 (12.3%) locations, respectively;  $p < 0.01$ ). PRLs were classified as indeterminate in 24 (0.4%) and 43 (0.7%) measurement points in the glaucoma and control groups, respectively. From the 48 MRW measurement points assessed in each subject, PRLs were found in a median of 2 points (4.2 (0.1 to 12.5)%) per subject in the glaucoma group and in 4 points (8.3 (2.1 to 18.7)%) per subject in the control group. These differences in proportion were statistically significant ( $p < 0.01$ ). Furthermore, the glaucoma group had fewer subjects with at least one MRW measurement point with PRL compared with the control group (79 (64.2%) and 107 (87.0%)), respectively,  $p < 0.01$ .

Figure 2 shows that PRLs were frequently present in temporal locations of both glaucoma and control groups, with higher frequencies in the control group. In the temporal sector (according to the Garway-Heath sector definitions),<sup>13</sup> PRL was found in a median of 1 of the 13 locations in that sector (7.7 (0.0–38.5)%) in the glaucoma group and in a median of 4 locations (30.8 (7.7–61.5)%) in the control group. In the other sectors,<sup>13</sup> these figures were not greater than 0. Because of the

**Table 1** Summary statistics of the study participants\*

Variable	Glaucoma	Control	P values
Age (years)	72.8 (64.6–77.4)	70.5 (64.5–75.8)	0.34
BMO area (mm <sup>2</sup> )	1.9 (1.6–2.3)	1.7 (1.5–2)	<0.01
Global MRW (μm)	295.3 (276.5–318.3)	331.2 (317.1–341.8)	<0.01
Global RNFLT (μm)	66.3 (57.5–76.9)	93.7 (87.2–99.3)	<0.01
MD (dB)	−4.4 (−10.3 to −2.1)	0.0 (−0.6 to 0.8)	<0.01

\*Values reported are median (IQR).

BMO, Bruch's membrane opening area; MD, mean deviation; MRW, minimum rim width; RNFLT, retinal nerve fibre layer thickness.

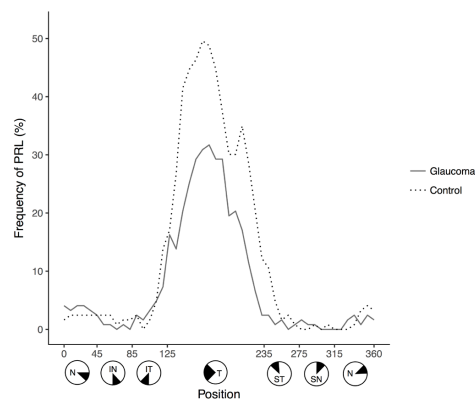
low frequency of PRL in all other sectors, the effect of adjusting MRW for PRL on diagnostic accuracy and its correlation with RNFLT was performed globally and for the temporal sector only.

The ROC curves for global unadjusted and adjusted MRW were highly similar in shape (figure 3). The areas under the ROC curves for unadjusted and adjusted global MRW were similar ( $p=0.07$ ). The sensitivity at 95% specificity indicated that PRL adjustment did not significantly alter diagnostic accuracy ( $p=1.00$ ). In the temporal sector, the ROC curves were also similar (figure 3); however, the area under the ROC curve was marginally statistically significantly lower after adjustment for PRL ( $p=0.04$ ), with a non-statistically lower sensitivity at 95% specificity ( $p=0.56$ ).

Adjusting MRW for PRL did not improve its correlation with RNFLT, globally or in the temporal sector, in either the glaucoma or control groups (figure 4).

## DISCUSSION

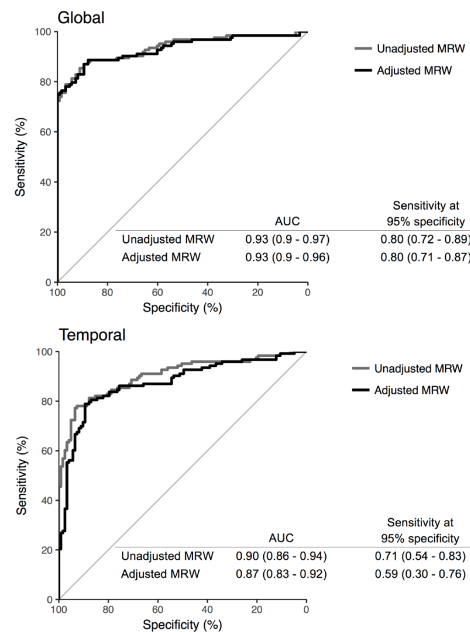
The presence of retinal layers other than the extent of the RNFLT within neuroretinal rim measurements could be clinically significant as there remains controversy as to whether the outer retina is impacted in glaucoma.<sup>9 10 15 16</sup> If it were, there would be additional thinning of the MRW in locations where the outer retina is included in MRW measurements. If it were not, the relative amount of MRW change would be blunted, potentially



**Figure 2** Frequency of protruded retinal layers (PRLs) for the glaucoma and control groups. Measurement points in temporal sector had the highest PRL frequencies for both groups, with the control group (37.4%) having a higher frequency than the glaucoma group (20.3%). For both groups, the frequency of PRL in the other sectors was always less than 5.0%.

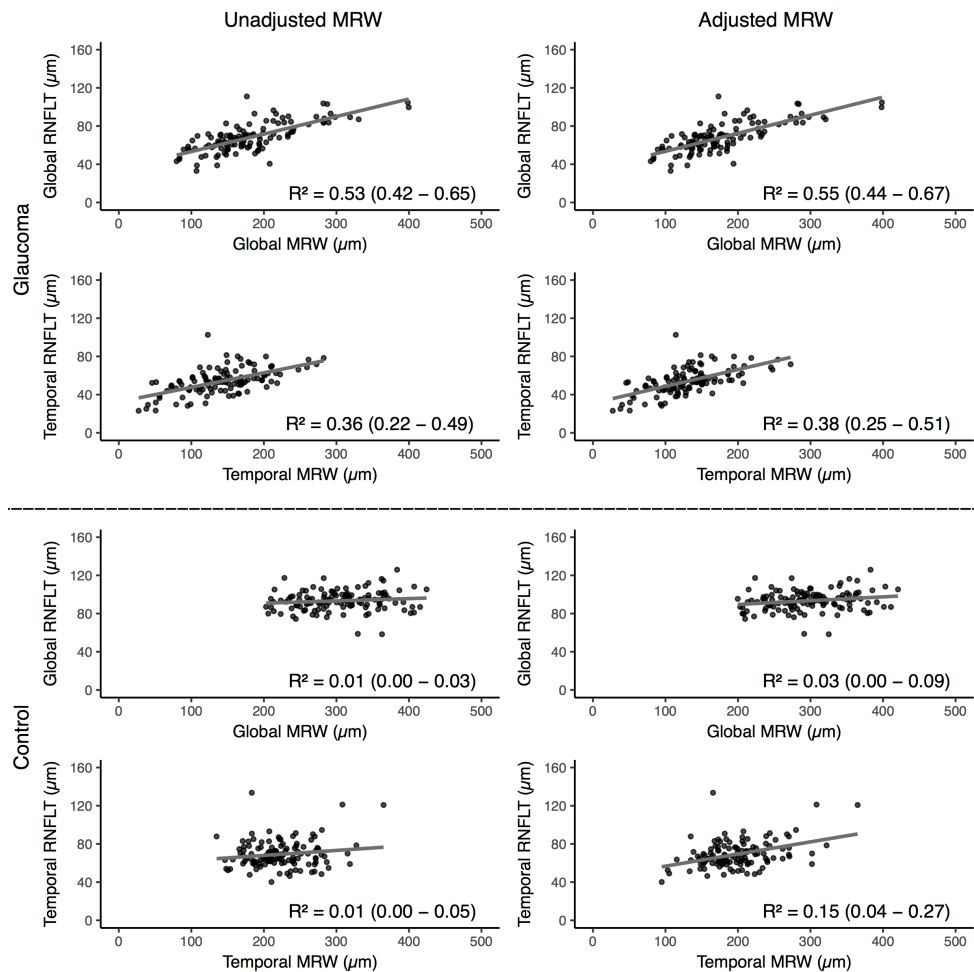
compromising the diagnostic accuracy of MRW for detecting glaucoma. We expected that subtracting PRL from MRW values at each measurement point would improve its diagnostic accuracy for glaucoma.

In healthy subjects, we previously showed that PRLs were rarely found in the inferotemporal and superotemporal sectors,<sup>8</sup> where MRW has highest diagnostic performance.<sup>5</sup> However, they were highly frequent (in over 33% of the measurement points) in the temporal sector. As in healthy subjects,<sup>8</sup> the highest frequency of PRL in patients with glaucoma was in the temporal sector (20.3% of the measurement points), whereas frequency in other sectors was less than 5.0%. Previously, we showed that the diagnostic accuracy of MRW in the temporal sector is the poorest among all sectors<sup>5</sup> and therefore reasoned that if MRW



**Figure 3** Receiver operating characteristics (ROC) curves for unadjusted and adjusted minimum rim width (MRW) globally and for the temporal sector. ROC curves for global and temporal sector measurements. The area under the curve (AUC) and sensitivity at 95% specificity are indicated corresponding CIs. The dashed diagonal line shows the line of no discrimination.





**Figure 4** Scatterplots showing relationships between retinal nerve fibre layer thickness (RNFLT), and unadjusted and adjusted minimum rim width (MRW). Data are shown for both the glaucoma and control groups globally and for the temporal sector. Coefficients of determination ( $R^2$ ) with corresponding CIs are also shown.

could be estimated more accurately in the temporal sector after adjustment for PRL, the diagnostic accuracy in the temporal sector might be enhanced. This objective is particularly relevant as the detection of rim loss accurately in the temporal sector should relate to macular damage and central visual field impairment,<sup>17</sup> which has been shown to occur even at early stages of disease.<sup>18</sup>

However, our study showed that adjusting MRW for PRL did not increase diagnostic accuracy in the temporal sector or globally, either when comparing areas under the ROC curves or sensitivity at 95% specificity. These findings could be explained by the low frequency of PRL in both glaucoma (7.6%) and

controls (12.3%) subjects and by the large interindividual variability in both groups (range: 0.1%–18.7%).

In our previous study of PRL in healthy subjects, we had hypothesised that the higher frequency of PRL in the temporal sector would be related to the closer proximity of retinal layers other than the RNFL to BMO.<sup>8</sup> The current study confirmed that PRL occurred most often in the temporal sector and, with a higher frequency, in the control group compared with the glaucoma group (figure 2). Although the reason for this difference was not investigated, it is possibly due to group differences in the proximity of retinal layers to BMO or differences in the MRW vector angles. The latter hypothesis is based on our previous

findings that MRW measurement points with PRL had a higher MRW vector angle (MRW vector further away from BMO centre or more vertical)<sup>8</sup> and on a reasonable assumption that MRW vector angle would be lower (MRW vector closer to BMO centre or more horizontal) for a thinner neuroretinal rim. Therefore, there would be a lesser chance of MRW measurements including PRL in patients with glaucoma patients than in control subjects. If this hypothesis is true, it could also suggest that the neuroretinal rim in the temporal sector would be thinner in glaucoma patients with early disease, such as those in this study, compared with control subjects.

Although both MRW and RNFLT measure nerve fibre layer content in different locations and, therefore, are used as an estimate of axonal loss in glaucoma, the correlation between these parameters is not as high as expected.<sup>19</sup> One of the reasons for this finding may be the different proportions of non-axonal components in the peripapillary retina and the ONH.<sup>19</sup> The presence of portions of other retinal layers other than the RNFL in the rim measurements could also contribute to this weak correlation; however, we were unable to prove that adjusting MRW measurements for PRL increased the correlation between MRW and RNFLT, globally or temporally where PRLs are most frequently observed. These findings suggest that, on average, other factors, besides the presence of PRL, are more likely to be responsible for the poorer than expected correlation and its dependence on the various sectors.<sup>20</sup>

Our study included only white subjects. Since we previously showed that white subjects had the highest frequency of PRL compared with blacks and Japanese,<sup>8</sup> our results indicate that even with the highest frequency of PRL in a population sample, subtracting it from MRW is not clinically beneficial. A limitation of our study, however, is that it is cross-sectional; hence, we cannot determine the effect of MRW adjustment on longitudinal changes of the ONH rim. The fact that we used a clinical evaluation of the optic disc as an inclusion criterion and an OCT metric to gauge ONH rim thickness (MRW) as the parameter to be tested could imply a bias in diagnostic performance. However, our objective was to compare the diagnostic performance of two MRW parameters (before and after adjustment for PRL) in the same population, and therefore any bias would have applied to both MRW estimates.

With OCT imaging, MRW is a standard metric for neuroretinal rim quantification that is anatomically and geometrically accurate, yielding higher diagnostic accuracy compared with conventional disc margin-based methods.<sup>5</sup> However, contrary to our expectation, adjustment of MRW for PRL did not increase diagnostic accuracy or yield better correlation with the RNFLT. Therefore, the presence of PRL within the neuroretinal rim does not have a clinical impact, and automatic algorithms to segment PRLs are likely not required.

**Contributors** Study design: LAT, JRV and BCC. Data collection: GPS, DMH, EF-O and MH. Data analysis: FJ, LAT and JRV. Funding: BCC. Manuscript draft and revision: all authors attest that they meet the current ICMJE criteria for authorship.

**Funding** Equipment and research support from Heidelberg Engineering.

**Competing interests** MTN: consultant and lecturer – Allergan and Alcon. BCC: consultant – Allergan and Heidelberg Engineering; lecturer – Allergan; Equipment support – Heidelberg Engineering and Topcon.

**Patient consent for publication** Not required.

**Ethics approval** The study received approval from Nova Scotia Health Research Authority and Clinical Hospital of University of Sao Paulo Research Ethics Boards.

**Provenance and peer review** Not commissioned; externally peer reviewed.

## REFERENCES

- Park SC, De Moraes CG, Teng CC, et al. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of deep optic nerve complex structures in glaucoma. *Ophthalmology* 2012;119:3–9.
- Loureiro MM, Vianna JR, Danthurebandara VM, et al. Visibility of optic nerve head structures with spectral-domain and swept-source optical coherence tomography. *J Glaucoma* 2017;26:792–7.
- Reis AS, O'Leary N, Yang H, et al. Influence of clinically invisible, but optical coherence tomography detected, optic disc margin anatomy on neuroretinal rim evaluation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:1852–60.
- Chauhan BC, Burgoyne CF. From clinical examination of the optic disc to clinical assessment of the optic nerve head: a paradigm change. *Am J Ophthalmol* 2013;156:218–27.
- Chauhan BC, O'Leary N, AlMobarak FA, et al. Enhanced detection of open-angle glaucoma with an anatomically accurate optical coherence tomography-derived neuroretinal rim parameter. *Ophthalmology* 2013;120:535–43.
- Danthurebandara VM, Sharpe GP, Hutchison DM, et al. Enhanced structure-function relationship in glaucoma with an anatomically and geometrically accurate neuroretinal rim measurement. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;56:98–105.
- Fortune B, Hardin C, Reynaud J, et al. Comparing optic nerve head rim width, rim area, and peripapillary retinal nerve fiber layer thickness to axon count in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:OCT404.
- Torres LA, Vianna JR, Jarrar F, et al. Protruded retinal layers within the optic nerve head neuroretinal rim. *Acta Ophthalmol* 2018;96:e493–e502.
- Kotowski J, Folio LS, Wollstein G, et al. Glaucoma discrimination of segmented cirrus spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) macular scans. *Br J Ophthalmol* 2012;96:1420–5.
- Hasegawa T, Ooto S, Takayama K, et al. Cone integrity in glaucoma: an adaptive-optics scanning laser ophthalmoscopy study. *Am J Ophthalmol* 2016;171:53–66.
- Georgiou AL, Guo L, Francesca Cordeiro M, et al. Electroretinogram and visual-evoked potential assessment of retinal and central visual function in a rat ocular hypertension model of glaucoma. *Curr Eye Res* 2014;39:472–86.
- Fan N, Huang N, Lam DS, et al. Measurement of photoreceptor layer in glaucoma: a spectral-domain optical coherence tomography study. *J Ophthalmol* 2011;2011:1–5.
- Garway-Heath DF, Poinsoosawmy D, Fitzke FW, et al. Mapping the visual field to the optic disc in normal tension glaucoma eyes. *Ophthalmology* 2000;107:1809–15.
- DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 1988;44:837–45.
- Kendell KR, Quigley HA, Kerrigan LA, et al. Primary open-angle glaucoma is not associated with photoreceptor loss. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:200–5.
- Ishikawa H, Stein DM, Wollstein G, et al. Macular segmentation with optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2012–7.
- Hood DC, Raza AS, De Moraes CG, et al. The nature of macular damage in glaucoma as revealed by averaging optical coherence tomography data. *Nature of Macular Damage in Glaucoma as Revealed by Averaging Optical Coherence Tomography Data. Transl Vis Sci Technol* 2012;1:3.
- Ancil JL, Anderson DR. Early foveal involvement and generalized depression of the visual field in glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1984;102:363–70.
- Gardiner SK, Ren R, Yang H, et al. A method to estimate the amount of neuroretinal rim tissue in glaucoma: comparison with current methods for measuring rim area. *Am J Ophthalmol* 2014;157:540–9.
- Chauhan BC, Danthurebandara VM, Sharpe GP, et al. Bruch's membrane opening minimum rim width and retinal nerve fiber layer thickness in a normal white population: a multicenter study. *Ophthalmology* 2015;122:1786–94.