



**Amedeo Lucente**

Oculista Libero Professionista

# Cellule gangliari retiniche e incongruenza dei dati tomografici

**Abstract:** Questo articolo si collega agli altri sulle cellule gangliari retiniche pubblicati su questa stessa Rivista. Lo scopo è quello di mettere in evidenza le apparenti incongruenze, rilevabili tomograficamente, tra gli spessori degli assoni delle cellule gangliari retiniche in area peripapillare RNFL e quelli della Rim Area sul disco ottico, relativamente conservati, rispetto agli spessori in macula delle cellule gangliari, evidenziati dai valori di GCL, che invece si trovano spesso alterati. Tali incongruenze sono variamente rilevabili in corso di maculopatie secche, umide dopo anti VEGF, e in presenza di fori maculari, lamellari o a tutto spessore. La relazione tra questi dati strutturali, poco descritta in letteratura, pone quesiti interpretativi fisiopatologici di sicuro interesse. Allo stato attuale delle nostre conoscenze sono ancora poco chiariti e necessitano di ulteriori approfondimenti. Tali correlazioni assumono ulteriore interesse nei pazienti anziani glaucomatosi. Frequentemente possono coesistere in età avanzata glaucoma e alcune malattie neurologiche riunite da qualche tempo nell'acronimo NES Neurodegenerative Elderly Syndrome, sindrome neurodegenerativa dell'anziano, nelle quali si possono riscontrare danni anche alle cellule gangliari retiniche.

**Keywords and abbreviations:** AMD Age-related Macular Degeneration, cpRNFL circumpapillary Retinal Nerve Fiber Layer, dAMD dry Age-related Macular Degeneration, EPR Retinal Pigment Epithelium, GCC Ganglion Cell Complex, GCIPL Ganglion Cell and Inner Plexiform Layer, ILM Intern Limiting Membrana, LHON Leber Hereditary Optic Neuropathy, mGCIPL macular Ganglion Cell Inner Plexiform Layer, MHS Macular Hole, MSA Multiple System Atrophy, NES Neurodegenerative Elderly Syndrome, OCT Optical Coherence Tomography, OCTA Optical Coherence Tomography Angiography, PERG Pattern Electroretinogram, PVEP Pattern Visual Evoked Potentials, RGCs Retinal Ganglion Cells, RNFL Retinal Nerve Fiber Layer, RP Retinitis Pigmentosa, SAP Standard Automated Perimetry, SCA Spinocerebellar Ataxia, wAMD wet Age-related Macular Degeneration.

## **RGC: note di neuroftalmologia**

Dei dieci strati retinici, nove sono costituiti da cinque tipi principali di cellule con caratteristiche del tutto simili alle cellule nervose: le bipolari, le gangliari, le orizzontali, le amacrine e i fotorecettori.

Formano un sistema altamente ordinato con alla base il mosaico delle cellule dell'epitelio pigmentato retinico EPR Retinal Pigment Epithelium.

Queste cellule contribuiscono a determinare, dall'EPR alla membrana limitante interna ILM Intern Limiting Membrana, 3 strati nucleari e 2 strati di connessioni sinaptiche (Fig. 1). Tutte queste cellule sono considerate biologicamente perenni, senza capacità apparente di replicarsi. Le cellule gangliari retiniche RGCs Retinal Ganglion Cells, note anche come ganglionari o multipolari, costituiscono oggetto continuo di studio; il crescente interesse verso il loro ruolo

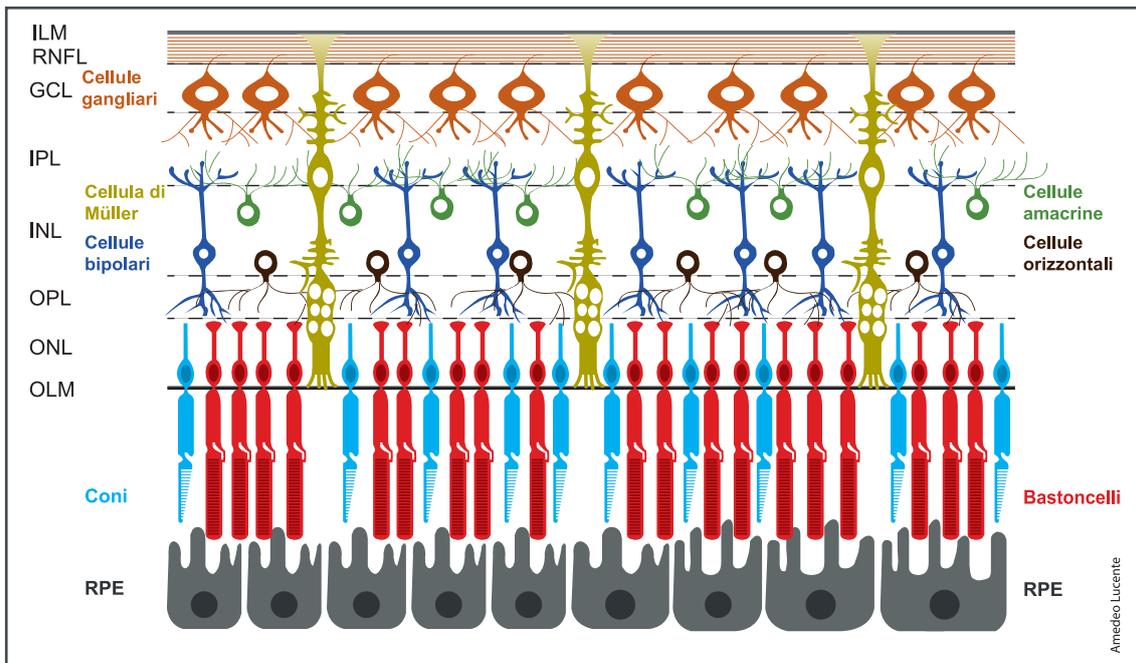


Figura 1 - Schema delle cellule retiniche. (GCL Ganglion Cell Layer, ILM Inner Limiting Membrane, INL Inner Nuclear Layer, IPL Inner Plexiform Layer, OLM Outer Limiting Membrane, ONL Outer Nuclear Layer, OPL Outer Plexiform Layer, RNFL Retinal Nerve Fiber Layer, RPE Retinal Pigment Epithelium).

non si limita al solo campo oftalmologico [1]. Un gran numero di disordini neurologici, tra tutti Parkinson e Alzheimer, sono stati da poco associati nell'acronimo NES, Neurodegenerative Elderly Syndrome, sindrome neurodegenerativa dell'anziano. Come pubblicato recentemente da Daniele Caligiore, Flora Giocondo e Massimo Silveti, ricercatori al ISTC-CNR Istituto di Scienze e Tecnologie della Cognizione-Consiglio Nazionale delle Ricerche sulla rivista IBRO Neuroscience Report, è stato individuato uno stesso meccanismo neurodegenerativo, con tre stadi evolutivi [1]. Tali patologie presentano danni retinici strutturali individuabili con la tomografia ottica a radiazione coerente OCT, Optical Coherence Tomography [2→11]. Il rilievo retinico di tali patologie neurologiche risiede essenzialmente in variazioni dello spessore degli strati retinici interni determinato, in prima istanza, dalla somma cumulativa dei vo-

lumi dei pirenofori, dendriti e degli assoni delle RGCs. Esiste più di una concordanza tra dati strutturali tomografici e i rilievi istologici post-mortem per il danno riscontrabile delle RGCs e dei loro assoni non solo nell'Alzheimer e nel Parkinson, ma anche nella malattia o Corea di Huntington, nella MSA Multiple System Atrophy atrofia multipla sistemica, nella SCA Spinocerebellar ataxia atassia spino-cerebellare, nella paralisi cerebrale spastica e in alcune altre patologie neurologiche sistemiche [2→11]. La nuova frontiera in tema di neuroprotezione e diagnosi precoce in campo neuro-oftalmologico indirizza la ricerca sui biomarkers specifici, precocemente indicativi per i danni iniziali. A tal proposito, uno studio coordinato da Maya Koronyo-Hamaoui del Cedars-Sinai Medical Center di Los Angeles ha analizzato, nella malattia di Alzheimer, campioni di tessuto retinico di 86 pazienti raccolti per 14 anni confrontato con quello di donatori con funzionalità cognitiva

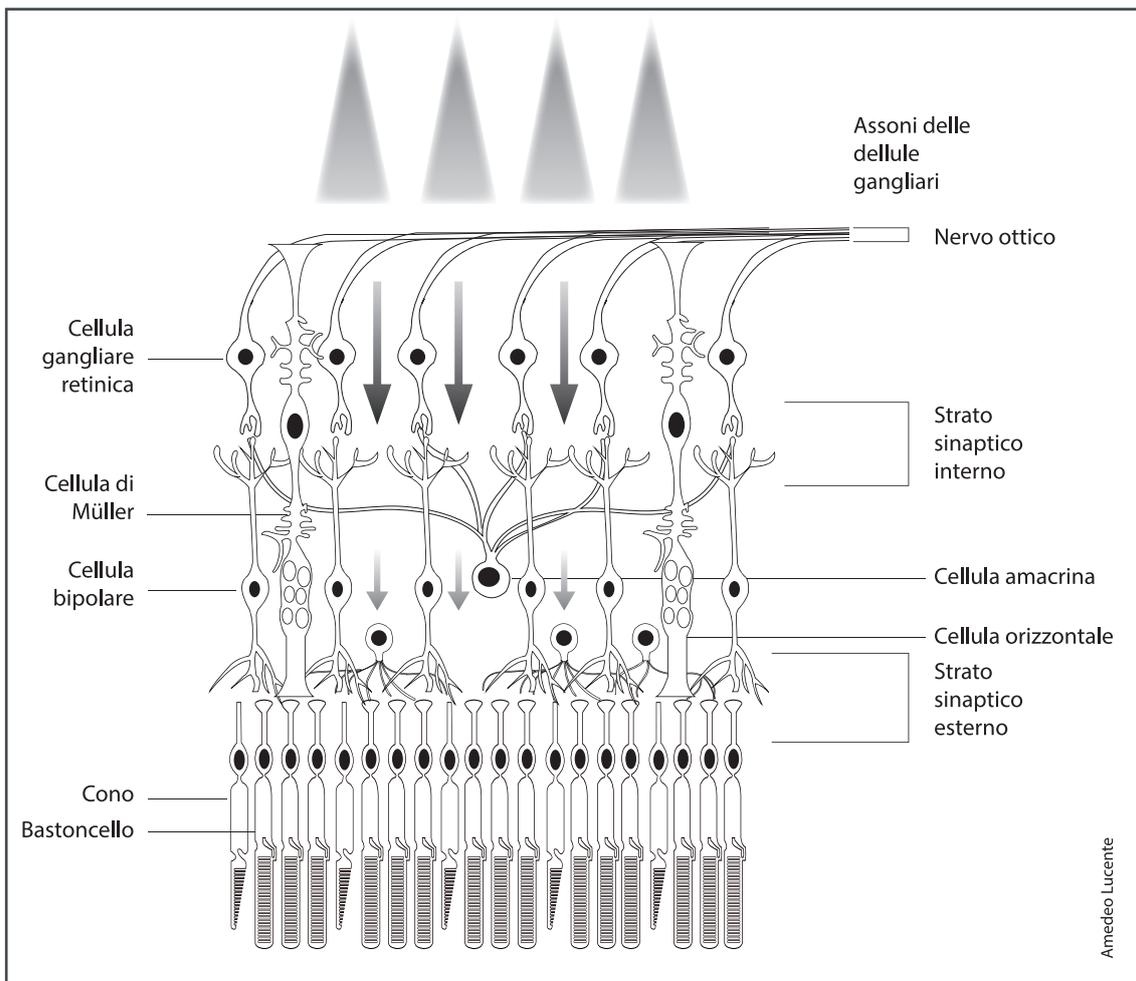


Figura 2 - Schema degli strati retinici attraversati dall'impulso luminoso.

normale. Nelle cellule gangliari retiniche dei pazienti con Alzheimer si evidenziava una sovrabbondanza della proteina amiloide beta-42, oltre ad un elevato numero di astrociti e microglia (Acta Neuropathologica 2023).

Tuttavia tali obiettivi sono tanto affascinanti quanto difficili da ottenere con le attuali indagini strumentali.

La finestra oftalmologica appare sempre più come un'efficace opportunità per tali eventuali riscontri, più ricca di spunti diagnostici dopo l'evoluzione degli OCT negli OCTA Optical Coherence Tomography Angiography [2→11].

In particolare si è riscontrato che nell'Alzheimer e nella MSA il bersaglio retinico principale sono le cellule gangliari di tipo magnocellulare M-cells, con assottigliamento del RNFL Retinal

Nerve Fiber Layer nei quadranti superiori intorno alla papilla ottica [8,9,12].

Le cellule gangliari retiniche M (magnae, grandi, alpha o parasol cells) sono circa il 5%; quelle P (parvae, piccole, beta o midget cells) circa il 90%; il restante 5% è costituito da cellule gangliari non M-non P, con funzioni ancora incerte, probabilmente correlate al ritmo circadiano sonno/veglia (Fig. 2) [13→15].

Molti di questi riscontri strutturali sono condivisi anche nella malattia glaucomatosa.

Nel glaucoma cronico semplice esiste infatti una predilezione per le gangliari M-cells, più diffuse nell'area retinica delimitata dalle arcate vascolari [16].

Una possibile coesistenza del glaucoma con altre patologie neurologiche sistemiche non è

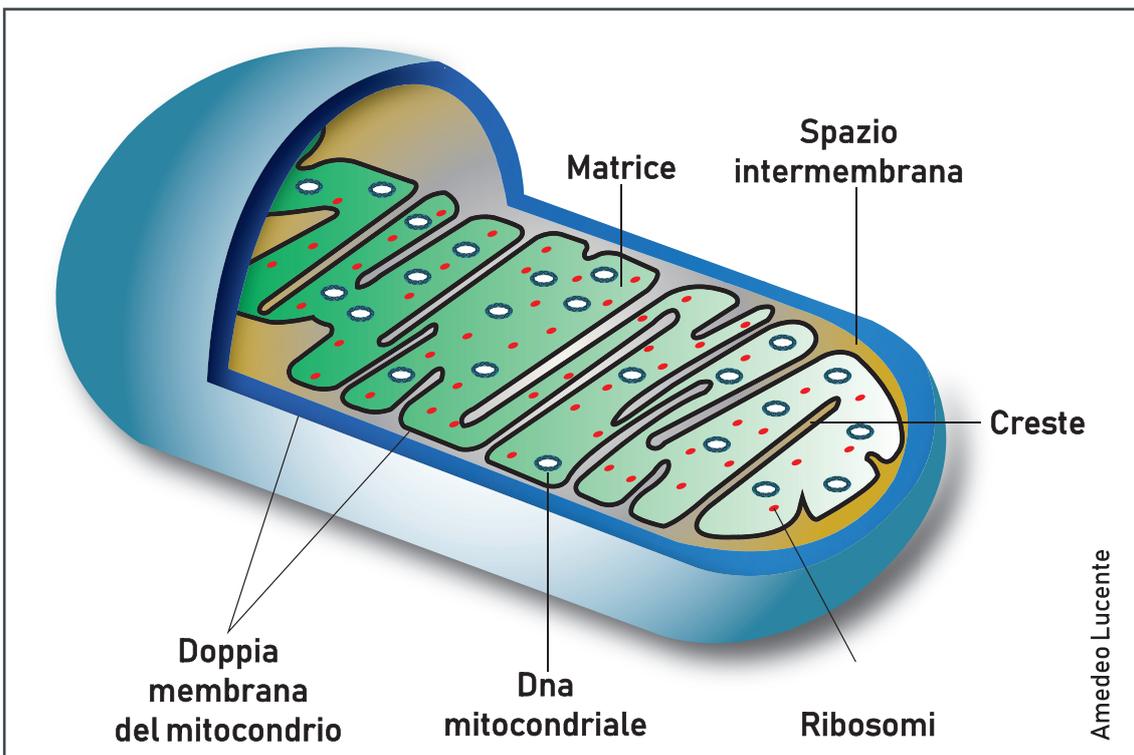


Figura 3a - Mitocondrio. Figura schematica.

d'altra parte rara; l'età comune d'insorgenza ne facilita il comune riscontro; una diagnosi differenziale presenta pertanto non poche difficoltà strumentali.

Nel Parkinson il bersaglio retinico principale sono le cellule gangliari retiniche parvocellulari P-cells; si reperta una diminuzione dello spessore RNFL principalmente nei settori temporali [16].

Con la tomografia ottica per ora non si possono distinguere le singole cellule gangliari, magne e parve. Con le ottiche adattive o adattative, già in fase avanzata di studio ed applicazione sui tomografi retinici, molto potrà migliorare: si passerà da una diagnosi principalmente tissutale ad una essenzialmente cellulare [14→16].

### RGC e mitocondri

Le neuropatie ottiche risentono spesso del danno mitocondriale con una sofferenza dei fasci assonali e deficit del campo visivo centrale [16,17].

I mitocondri sono sempre più spesso riconosciu-

ti come i principali protagonisti nella biologia delle cellule, soprattutto per i neuroni (Fig. 3a, Fig. 3b).

Il turnover energetico delle RGCs e dei loro assoni che formano il nervo ottico non è ancora del tutto noto; spesso non si trova una spiegazione razionale nel correlare i dati strutturali tomografici relativi ai pirenofori, ai dentriti e agli assoni delle RGCs rilevati come spessori in aree retiniche differenti ma necessariamente collegate [17].

Si può supporre, con buona probabilità, che la cellula ganglionare possa avere diversi stadi di apoptosi nei suoi differenti compartimenti. Potrebbe verificarsi, in alcune situazioni come le maculopatie, una residua funzionalità assonale, dipendente dalla sopravvivenza distrettuale dei mitocondri.

Anche se i pirenofori e i dentriti delle RGCs risultano tomograficamente destrutturati o assenti in area maculare, con spessori inconfutabilmente sottili, gli assoni potrebbero conservare la

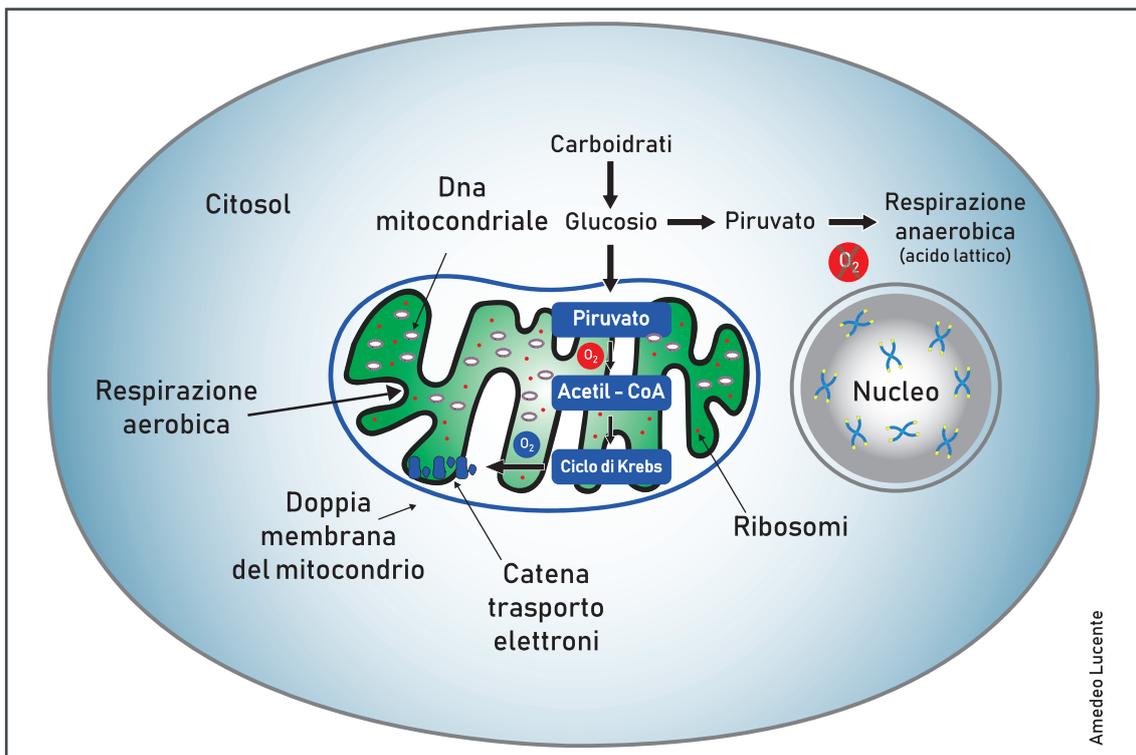


Figura 3b - Mitocondrio. Particolari delle reazioni chimiche per la produzione di ATP.

loro struttura e una certa funzionalità residua. Questa ipotesi deriva da osservazioni strumentali su un numero di pazienti limitati: pertanto resta aperta a verifiche e più attente valutazioni critiche, e non pretende di assurgere a certezza scientifica.

Nelle RGCs i mitocondri sono particolarmente abbondanti nel citoplasma degli assoni intraretinici non mielinizzati fino alla papilla ottica [16,17].

Dopo il passaggio attraverso la lamina cribrosa il numero dei mitocondri, con la comparsa della guaina mielinica, diminuisce significativamente [18].

Queste differenze istologiche si associano a variazioni vascolari, in particolare della barriera emato-encefalica.

Tali disparità istologiche, con tutta probabilità, riflettono differenti esigenze metaboliche degli assoni.

Tutti i ruoli che la mielina assonale, assente nel percorso intraretinico e presente nel tratto

retrobulbare riveste, non sono ancora del tutto stabiliti ed accertati.

La presenza più o meno numerosa di questi organelli potrebbe offrire un'utile chiave di lettura fisiopatologica; ulteriori studi dovranno indagare per fornire più complete e plausibili spiegazioni [18].

Il numero dei mitocondri varia nelle cellule eucariotiche da 1 a oltre 1000; dipende dall'energia richiesta ai singoli elementi cellulari dai distretti istologici di appartenenza per svolgere efficacemente le loro funzioni.

Il DNA mitocondriale umano consta di 16569 paia di basi e 37 geni, che codificano per 13 polipeptidi sintetizzati dal ribosoma mitocondriale, 22 tRNA (RNA trasferiti), e 2 rRNA (RNA ribosomiale), coinvolti nella produzione di proteine necessarie alla respirazione cellulare. Nel DNA dei cromosomi umani in totale ci sono 3,2 miliardi paia di basi [19].

Gli studi sui mitocondri hanno fatto emergere un loro ruolo nella differenziazione delle cellule

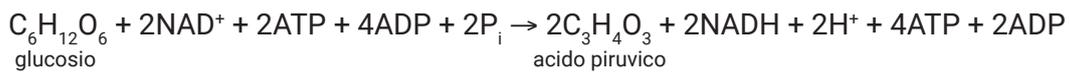


Figura 4a - Reazione chimica di degradazione di una molecola di glucosio con formazione di due molecole di acido piruvico e di ATP (formula stechiometrica).

staminali del sangue, del tessuto lipidico e, più recentemente, dei neuroni.

Oltre che nella produzione di adenosina trifosfato (ATP), i mitocondri sono coinvolti più o meno direttamente nell'apoptosi e nell'invecchiamento dei tessuti [19].

La molecola energivora principale degradata nella respirazione cellulare è il glucosio  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ , ossidato a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  in quattro stadi: glicolisi, decarbossilazione ossidativa, ciclo di Krebs e fosforilazione ossidativa [20].

Il biochimico anglo-tedesco Hans Adolf Krebs (1900/1981) nel 1937 scoprì il ciclo dell'acido

citrico; questa ricerca, inviata alla prestigiosa rivista Nature venne inizialmente rifiutata; il merito per le sue ricerche fu tuttavia riconosciuto con il premio Nobel per la medicina nel 1953.

Il mezzo principale delle cellule staminali nella produzione di energia è la glicolisi che genera rapidamente ATP nel compartimento citoplasmatico (Fig. 4a).

Com'è noto una molecola di  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  a 6 atomi di Carbonio C, con un consumo energetico di 2ATP, viene scissa, attraverso numerose reazioni intermedie catalizzate da enzimi specifici, in 2 molecole di acido piruvico a 3 atomi di C,  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$ ,

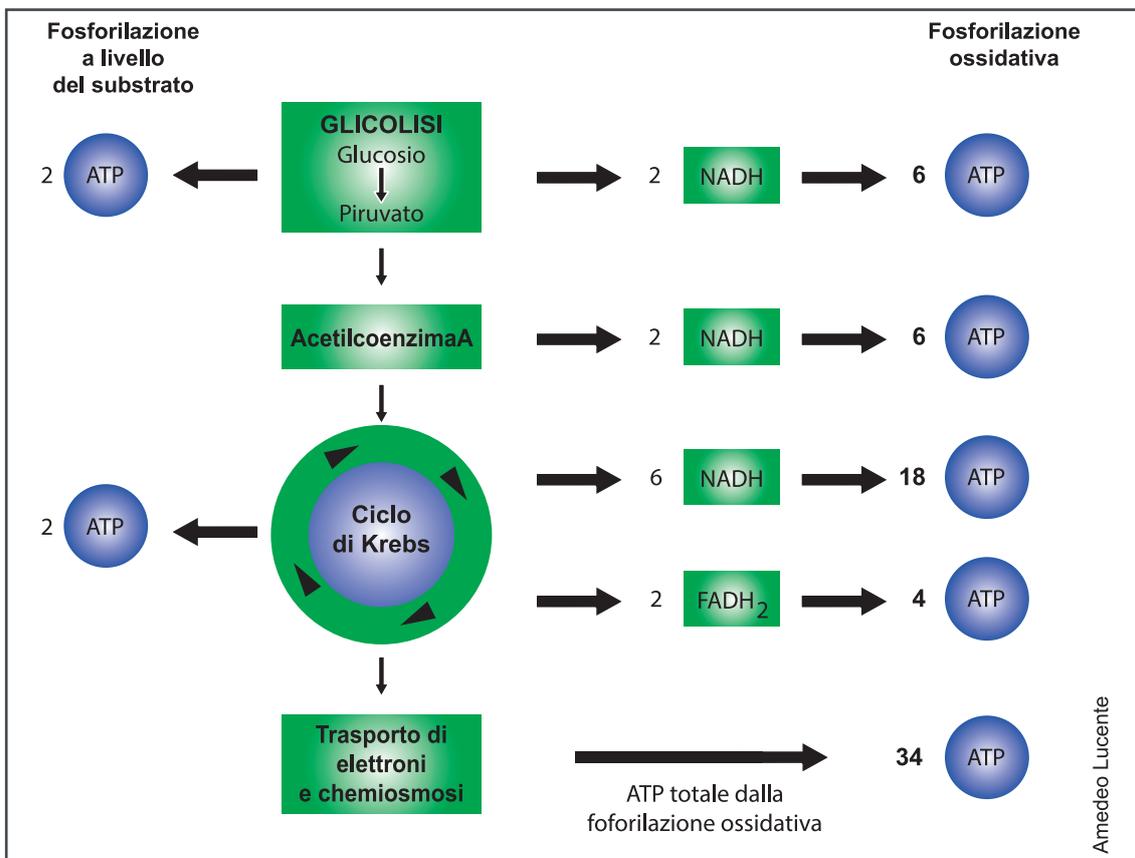


Figura 4b - Reazione di degradazione di una molecola di glucosio con formazione di due molecole di acido piruvico e di ATP (fotografica schematica).

con un ricavo di 4 ATP; si ha un guadagno netto di 2ATP (Fig. 4b).

Dopo la glicolisi tutte le altre reazioni si svolgono nei mitocondri in presenza di ossigeno [20,21]. Nella glicolisi, in condizioni di anaerobiosi, una molecola di glucosio viene scissa in due molecole di piruvato  $C_3H_4O_3$ . Il  $C_3H_4O_3$  può essere trasportato all'interno dei mitocondri dove subisce, in presenza di ossigeno, una serie di reazioni catalizzate dall'enzima piruvato deidrogenasi che lo trasforma in acetil-CoA (acetil coenzima A) pronto per essere utilizzato nel ciclo di Krebs.

Decarbossilazione ossidativa, ciclo di Krebs e fosforilazione ossidativa, degradano due molecole di  $C_3H_4O_3$  con il consumo di 4 molecole di ATP: si ricavano 30/34 molecole di ATP in tutto (Fig. 4b). Queste reazioni si svolgono, come riferito, nei mitocondri; costituiscono il metodo preferito di approvvigionamento energetico delle cellule mature e specializzate [20,21].

La glicolisi anaerobica (fermentazione omolattica, o via di Embden-Meyerhof-Parnas), anche se produce solo 2 molecole di ATP, ed è circa 16 volte meno efficiente della respirazione cellulare, risulta quasi 200 volte più veloce: nell'unità di tempo è 13 volte più rapida nel produrre ATP [20,21].

I mitocondri, "cellule nelle cellule", possono, attraverso cicli di fissione e fusione, regolare numerose altre funzioni cellulari oltre che produrre ATP.

L'omeostasi del calcio, dei radicali liberi e la trasmissione del genoma mitocondriale per via materna ne sono un esempio.

Le reazioni di fissione e fusione sono catalizzate dalle proteine GTPasi, enzimi che idrolizzano il guanosintrifosfato appartenenti alla famiglia della dinamina [20,21].

La frammentazione o fissione dei mitocondri è necessaria per il loro trasporto verso le sinapsi;

nel contempo è la tappa iniziale del processo di apoptosi comune a diversi tipi di cellule, specificatamente ai neuroni.

In definitiva sembra credibile pensare che muoia prima la centrale che produce energia, il mitocondrio, e dopo l'intera cellula [20,21].

È da supporre che l'apoptosi, termine coniato nel 1972 da *John F. Kerr, Andrew H. Wyllie e A.R. Currie*, sia quello stato cellulare di equilibrio instabile dove il numero dei mitocondri perduti non è ancora tale da determinare la necrosi completa dell'intera cellula nervosa, pur non permettendo la sua piena efficienza.

In sostanza uno stato biologico in parte reversibile dove il rapporto tra numero di mitocondri efficienti e inefficienti fa precipitare o rallentare il precario equilibrio cellulare [22].

L'iniziale biogenesi mitocondriale si verifica all'interno del citoplasma dei pirenofori delle RGCs; necessita dell'interazione ed interscambio tra il genoma nucleare e quello mitocondriale. Il trasporto e la migrazione dei mitocondri lungo gli assoni dipendono da molteplici fattori tra i quali la capacità stessa di produrre energia, l'integrità del citoscheletro e dei suoi componenti proteici (tubulina, ecc.), oltre che dalla mielinizzazione adeguata degli stessi assoni [21,22].

Qualsiasi disfunzione di questi sistemi può essere rilevante nel dare l'avvio a neuropatie ottiche dove il coinvolgimento primario o secondario dei mitocondri è stato accertato.

La LHON, Leber Hereditary Optic Neuropathy, neuropatia ottica ereditaria, costituisce il paradigma di tutte le neuropatie ottiche mitocondriali [22].

In tale otticopatia la disfunzione mitocondriale è certificata dall'eredità materna e dall'associazione con mutazioni specifiche nel DNA mitocondriale (mtDNA) [23→25].

Un denominatore comune nelle neuropatie gangliari è, come si è visto, la vulnerabilità della loro

Le figure da 5a a 5b si riferiscono ad uno dei pazienti in studio di sesso maschile, 82 anni, faticoso, seguito dal 2011. Dal 2015 ha presentato in OS wAMD. Dopo sei intravitreali, da qualche anno è in fase stabile senza altri fenomeni neovascolari attivi in corioretina; il visus residuo è di 1/20. In OD presenta alterazioni aspecifiche dell'EPR in macula, senza alterazioni vascolari rilevabili all'angio-OCT; visus è di 7/10, il test di Amsler negativo. Esame eseguito con Clarus 500 Zeiss (Carl Zeiss Meditec, Inc. Dublin, CA).



Figura 5a - Imaging widefield dell'occhio destro

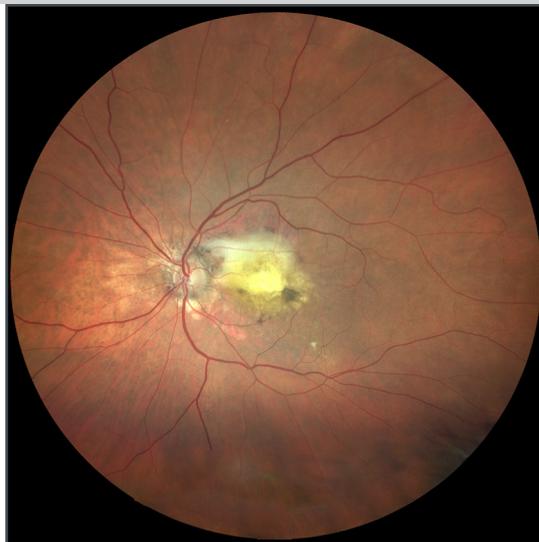


Figura 5b - Imaging widefield dell'occhio sinistro

dinamica energetica, con alterazioni del trasporto assonale secondario allo stress ossidativo dovuto a deficit energetico.

*Nancy E. Medeiros e Christine A. Curcio*, in un lavoro del 2001, riferivano che la riabilitazione visiva nei casi di perdita severa dei fotorecettori richiedeva una adeguata funzionalità delle RGCs affinché il segnale fosse efficacemente trasmesso alla corteccia cerebrale [26].

Aggiunsero inoltre che la degenerazione trans-neuronale delle RGCs, successiva all'apoptosi e morte dei fotorecettori, inibiva i potenziali benefici delle terapie sostitutive retiniche con tessuto o devices, e rendeva inefficace il percorso riabilitativo nelle maculopatie che presentavano tali patologici rilievi [26].

### **RGC e retinopatia pigmentosa**

Per compensare il disagio razionale che a volte si avverte nell'interpretare i dati della tomografia a coerenza ottica dove adeguati spessori di RNFL possono coesistere con significative ri-

duzioni degli spessori delle cellule gangliari in macula, ci possiamo avvalere degli studi sulla RP Retinitis Pigmentosa, retinopatia pigmentosa [27→31].

*Medine Aslı Yıldırım et al.* in un lavoro del 2015 riferiscono che in corso di tale patologia il numero delle RGCs sopravvissute in area maculare oscilla, secondo la gravità della patologia, dal 30% al 75% rispetto ad occhi di controllo [29]. I casi clinici con deficit visivo più significativo hanno sempre il minimo numero di RGCs centrali. Lo stesso rilievo è presente nella retina periferica, dove sopravvivono dal 20% al 30% delle RGCs, secondo la gravità dell'affezione retinica [27→31].

Sempre gli stessi autori, passando alle maculopatie, sottolineano come la perdita dei fotorecettori associata alle forme secche e umide non fosse correlata da adeguate e necessarie informazioni sullo stato delle RGCs [27→31].

Gli autori esaminarono retrospettivamente 44 occhi di 22 pazienti con RP.

Nei pazienti con RP lo spessore medio RNFL era  $97,57 \pm 3,21 \mu\text{m}$ ; nei quadranti superiore, temporale, nasale e inferiore gli spessori erano  $119,18 \pm 4,47 \mu\text{m}$ ,  $84,68 \pm 2,31 \mu\text{m}$ ,  $75,09 \pm 3,34 \mu\text{m}$  e  $113,88 \pm 4,25 \mu\text{m}$  rispettivamente [29].

L'assottigliamento di RNFL è stato osservato prevalentemente nel quadrante inferiore; l'ispessimento invece principalmente nel quadrante temporale. Gli spessori RNFL del quadrante medio, superiore e nasale non erano statisticamente significativi rispetto al gruppo di controllo. I pazienti con RP avevano un quadrante inferiore più sottile e un quadrante temporale più spesso rispetto al gruppo di controllo ( $p < 0,05$ ) [29].

Come si può constatare gli spessori di RNFL nei pazienti con RP non sono poi così alterati; una patologia retinica tanto devastante farebbe presupporre diminuzioni di RNFL molto più significative [29].

Walia *et al.*, utilizzando prima gli OCT Time e dopo Fourier domain, trovarono nei pazienti con RP un assottigliamento di RNFL rispetto ai controlli del 40% e nel 38% con le due tecnologie; il 48% degli occhi studiati presentava tuttavia un ispessimento di RNFL peripapillare, principalmente nel quadrante temporale [30,31].

Un simile risultato è stato riportato da Anastasakis *et al.* che hanno dimostrato un assottigliamento di RNFL del 38%, mentre Oishi *et al.* non hanno riscontrato differenze significative tra popolazione normale e RP per quanto riguarda gli spessori RNFL, anche se per questi studi del 2009 utilizzarono OCT Time domain [32,33].

### **RGC e maculopatie**

L'invecchiamento della popolazione mondiale determinerà un sicuro aumento della degenerazione maculare senile AMD Age-related Macular Degeneration. Secondo l'OMS, Organizzazione Mondiale della Sanità, un sesto della popolazione mondiale avrà almeno 60 anni entro il 2030,

e tra gli ultra sessantenni, 243,4 milioni potrebbero avere una forma di AMD [34,35].

I metodi di trattamento per la dAMD dry Age-related Macular Degeneration caratterizzata, come è noto, da drusen, ipo/iperpigmentazione o atrofia dell'EPR sono scarsi e poco efficaci. Gli anti-VEGF sono diventati un metodo di trattamento ampiamente applicato con successo dagli oftalmologi in tutto il mondo.

Ranibizumab, aflibercept, bevacizumab, e più recentemente il brolucizumab e il faricimab, sono largamente utilizzati, con riscontri di sicura efficacia, per le forme umide wAMD wet Age-related Macular Degeneration.

Nelle maculopatie, mentre l'aspetto dello spessore retinico viene ampiamente indagato, i rilievi sulle RGCs restano spesso trascurati, non adeguatamente indagati, ritenuti secondari [34,35].

Małgorzata Wichrowska *et al.*, in uno studio trasversale del 2022, hanno valutato l'aspetto morfologico e funzionale delle RGCs e delle GCC Ganglion Cell Complex in 104 occhi di 52 pazienti con wAMD trattati cronicamente con anti-VEGF, rispetto ad occhi adelfi affetti da dAMD non avanzata che costituivano il gruppo di controllo [35,36].

Gli autori hanno determinato come il numero di iniezioni contribuissero nel differenziare il gruppo trattato e i controlli, diversità rilevate attraverso i tempi impliciti e le ampiezze dell'onda P100 nei PVEP Pattern Visual Evoked Potentials e dell'onda N95 nei PERG Pattern Electroretinogram [36].

Non si sono riscontrate differenze nello spessore RNFL complessivo tra wAMD e dAMD; il numero delle iniezioni influenzava solo lo spessore RNFL nel quadrante nasale del disco ottico ( $p = 0,023$ ), non determinava differenze dello spessore GCL, nè effetti significativi sui parametri strutturali (RNFL e GCL) presi in considerazione nei due gruppi [36].

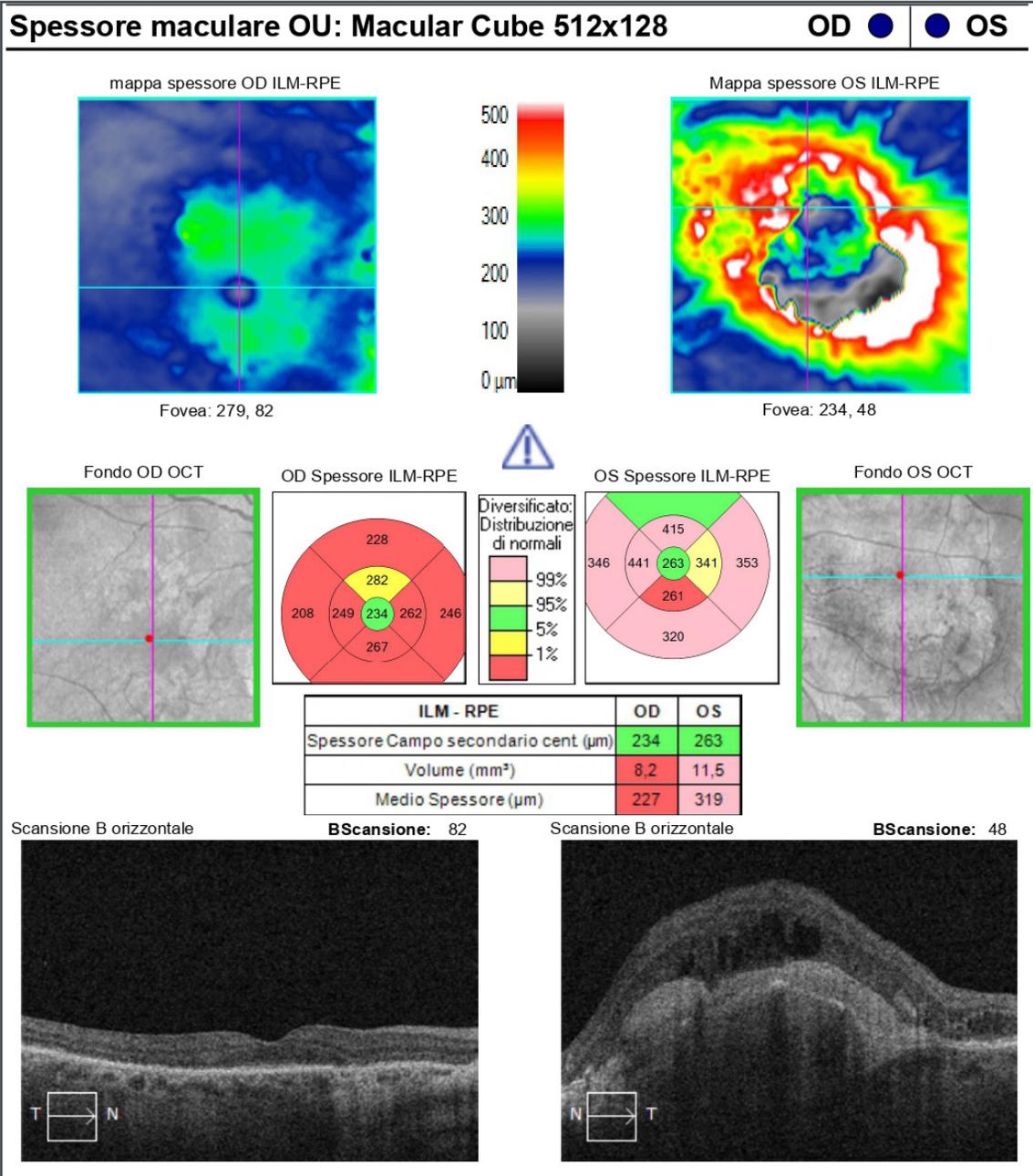


Figura 5c - Spessore maculare OU: Macular Cube 512x128. Retina di un paziente ottantenne di sesso maschile con alterazioni degli strati retinici esterni e visus di 7/10 in OD; retina dopo numerosi intravitreali per neovasi maculari stabilizzata in OS. Esame eseguito 6000 AngioPlex Cirrus Carl Zeiss Meditec, Inc.

In conclusione questa ricerca dimostra che la wAMD è caratterizzata da parametri funzionali elettrofisiologici peggiori rispetto alla dAMD non avanzata, che non c'erano differenze significative tra gli spessori RNFL e GCL nei due gruppi, e che il numero complessivo di anti-VEGF non costituiva ulteriore aggravante per i parametri strutturali neuro-retinici oggetto dello studio [36].

In definitiva non si sono rilevate variazioni significative sulle RGCs nelle wAMD rispetto alle forme meno aggressive di dAMD.

Inoltre, gli spessori in macula dovuti essenzialmente ai pirenofori delle gangliari, e gli spessori in area peripapillare per i relativi assoni, non presentavano variazioni tra le due forme di AMD [36].

# Analisi RNFL e ONH OU: Optic Disc Cube 200x200

OD ● ● OS

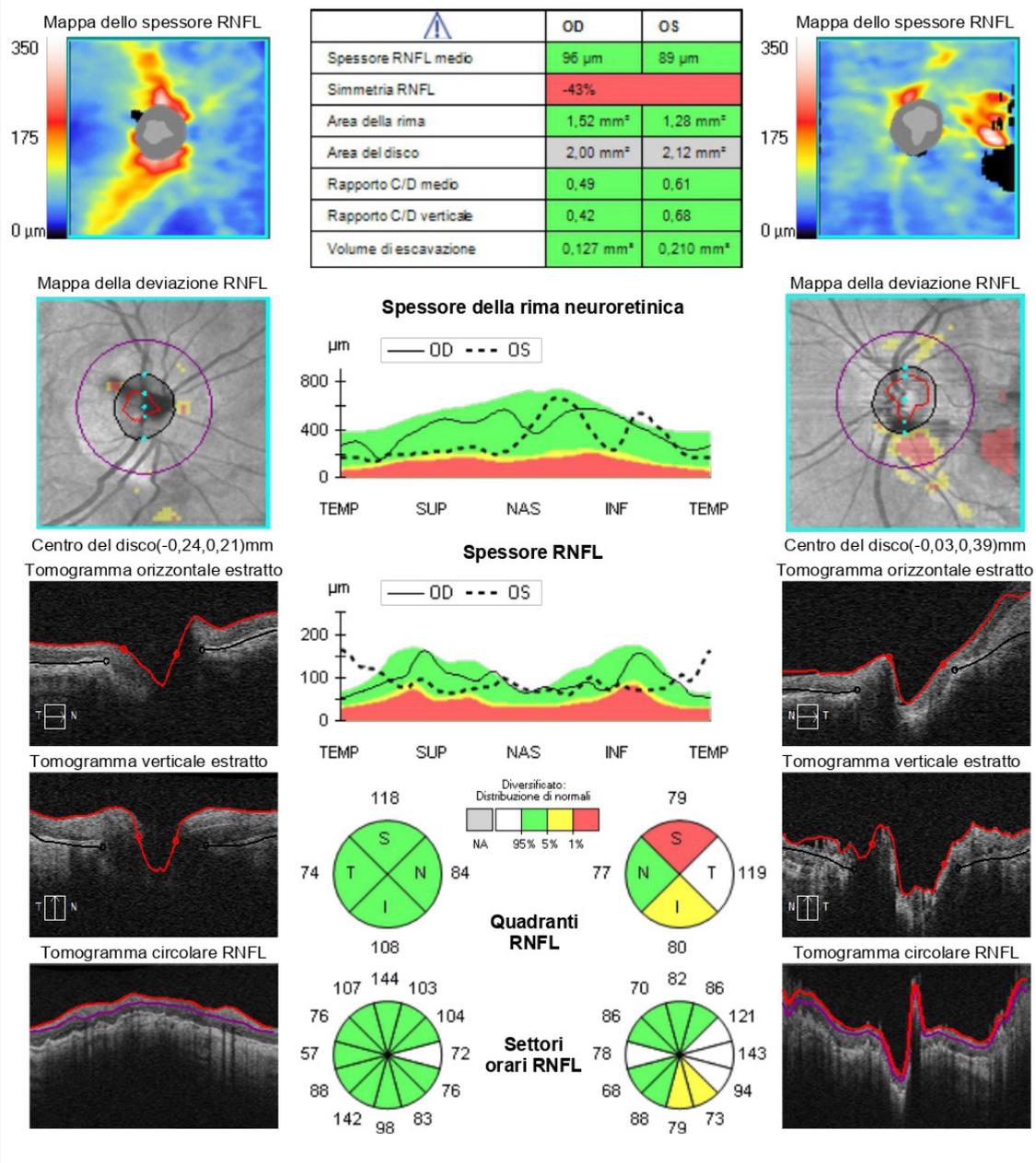


Figura 5d - Analisi RNFL e ONH OU: Optic Disc Cube 200x200. Notare i valori conservati degli spessori degli assoni a 3,4 mm dal disco ottico e della Rim Area in ambo gli occhi indipendentemente dai differenti quadri maculari. Esame eseguito con 6000 AngioPlex Cirrus Carl Zeiss Meditec, Inc.

## RGC e fori maculari

*Mehmet Sahin Sevim et al.* si sono proposti di valutare con OCT i cambiamenti dello spessore delle cellule gangliari retiniche Ganglion Cell Complex GCC in occhi sottoposti a chirurgia per foro maculare Macular Hole Surgery MHS, eseguita con il colorante Brilliant Blue. I 70 occhi

di 70 pazienti tutti con fori maculari idiopatici sono stati suddivisi in due gruppi: un primo di 44 occhi di 44 pazienti sottoposto ad intervento di MHS e peeling della ILM Intern Limiting Membrana assistito da Brilliant Blue, e un secondo gruppo di 26 occhi di 26 pazienti, considerato di controllo, nel quale l'intervento di MHS è stato

# Analisi cellula gangliare: Macular Cube 512x128

OD ● ● OS

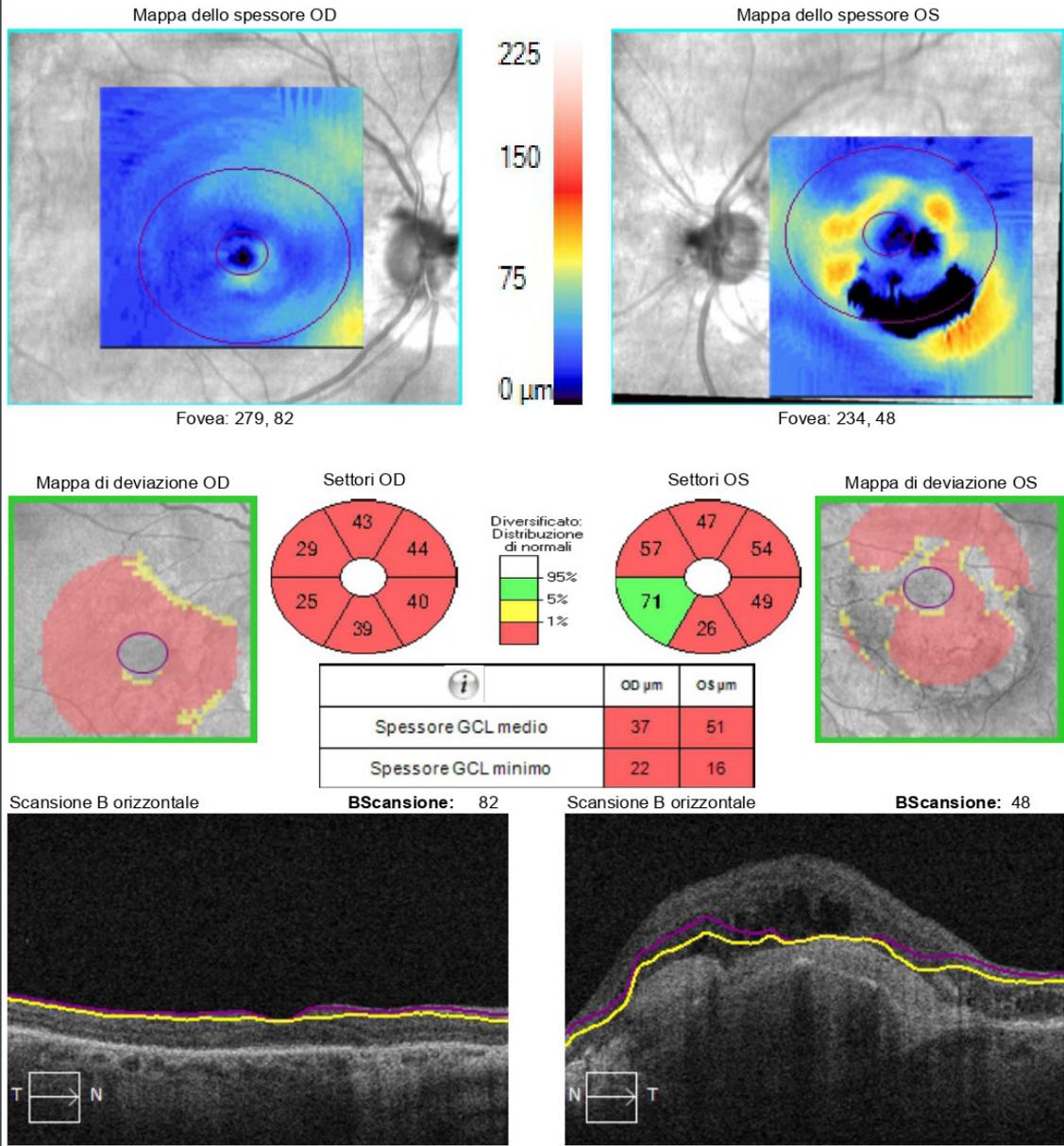


Figura 5e - Analisi cellula gangliare: Macular Cube 512x128. Diminuzione significativa dei volumi in ambo gli occhi delle cellule gangliari. Esame eseguito con 6000 AngioPlex Cirrus Carl Zeiss Meditec, Inc.

eseguito senza peeling della ILM. In entrambi i gruppi sono stati effettuati esami oftalmologici completi e analisi quantitativa del GCC e degli spessori del RNFL prima e dopo le procedure chirurgiche utilizzando OCT. Sei mesi dopo la vitrectomia il tasso di chiusura dei fori maculari era pari a 97% nel primo gruppo e a 80,7% nel gruppo di controllo [37]. Non vi erano differenze significative nello spes-

sore retinico tra i due gruppi nel preoperatorio e nel postoperatorio per GCC e RNFL [37]. *Woo Hyuk Lee et al.* hanno misurato gli spessori delle cellule gangliari dello strato plessiforme interno Ganglion Cell and Inner Plexiform Layer GCIPL e di RNFL utilizzando la tomografia a coerenza ottica nel dominio spettrale in pazienti con fori idiopatici della macula. Volevano analizzare la ripetibilità delle misura-

Angolo di scansione: 0°

Spaziatura: 0 mm

Lunghezza: 12 mm

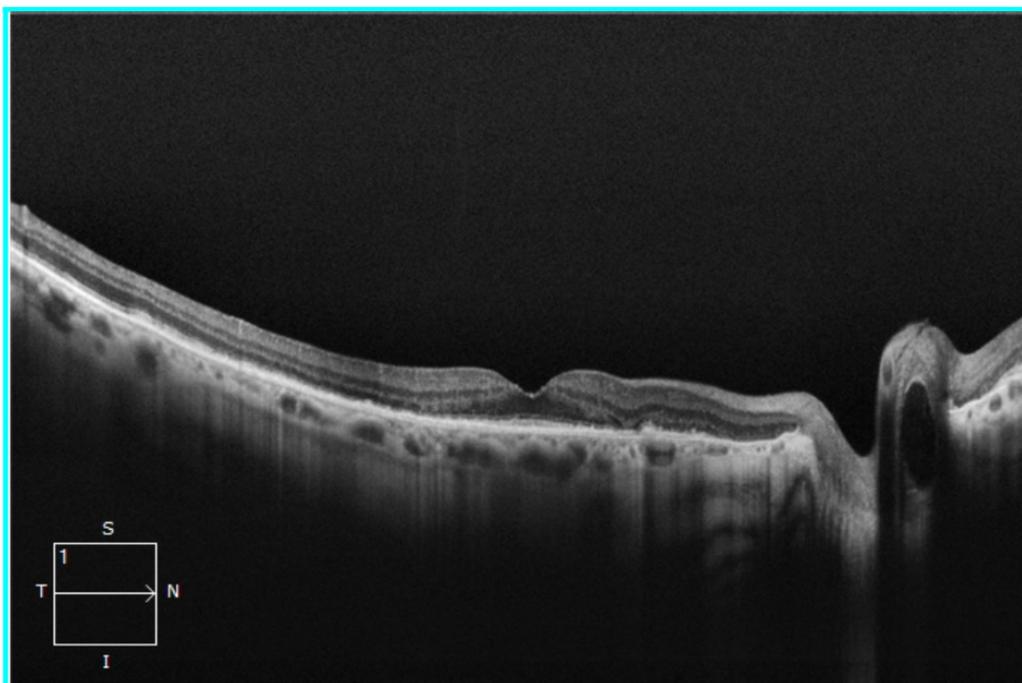
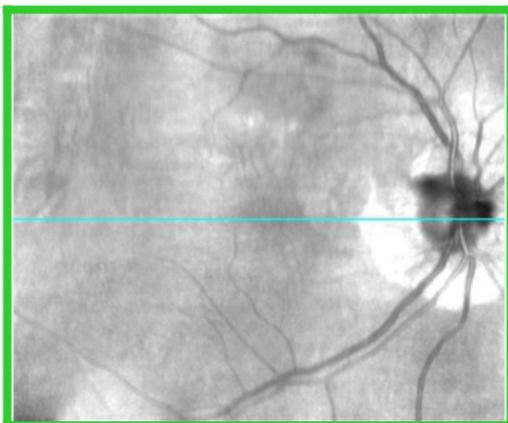


Figura 5f - Immagini ad alta definizione: HD 1(100). Retina OD con alterazioni degli strati esterni. Esame eseguito con 6000 AngioPlex Cirrus Carl Zeiss Meditec, Inc.

zioni tomografiche confrontandole con le misurazioni nell'occhio adelfo sano.

Gli 85 occhi sono stati divisi, in base al diametro del foro maculare, nel gruppo A con diametro <400  $\mu\text{m}$ , e nel gruppo B con diametro  $\geq 400 \mu\text{m}$  [38].

Mentre gli spessori medi di GCIPL nei pazienti con fori maculari erano significativamente più sottili rispetto agli occhi normali di controllo ( $56,1 \pm 23,4$  vs.  $77,1 \pm 12,8 \mu\text{m}$ ,  $p < 0,001$ ), non si riscontrarono differenze significative per lo spes-

sore medio di RNFL tra occhi con fori maculari e adelfi ( $92,4 \pm 10,0$  vs.  $95,5 \pm 10,7 \mu\text{m}$ ,  $p = 0,070$ ). Inoltre non sono state rilevate differenze significative degli spessori GCIPL e RNFL tra i gruppi A e B; il diametro del foro infine non risultava influente sui parametri presi in considerazione ( $p = 0,786$  e  $p = 0,516$ ) [38].

### RGC e glaucoma

Il glaucoma è caratterizzato da disfunzione e

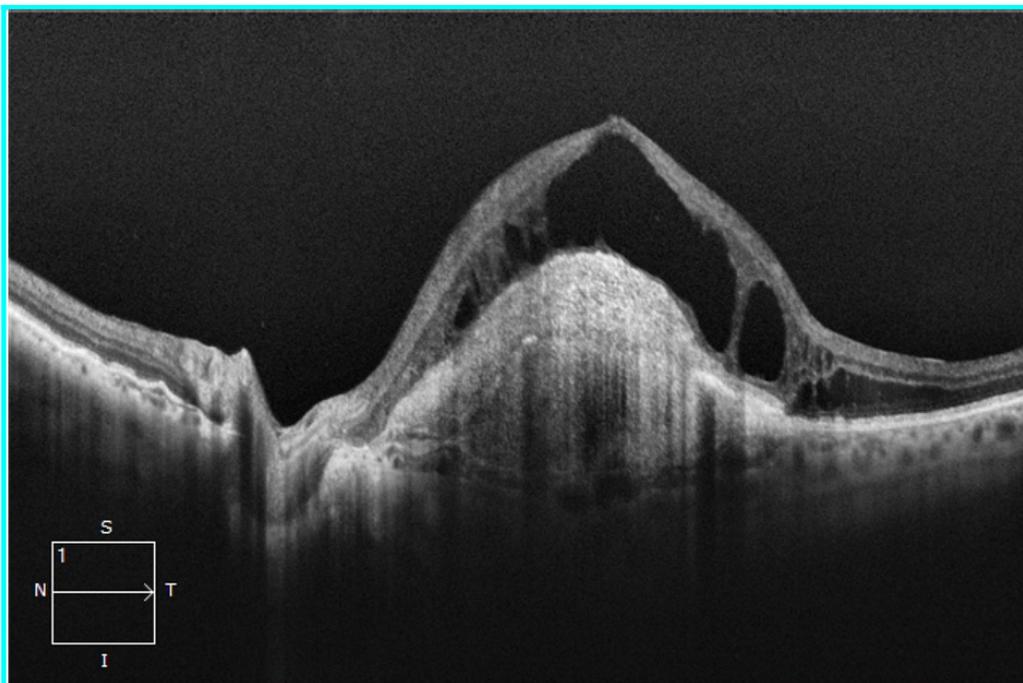
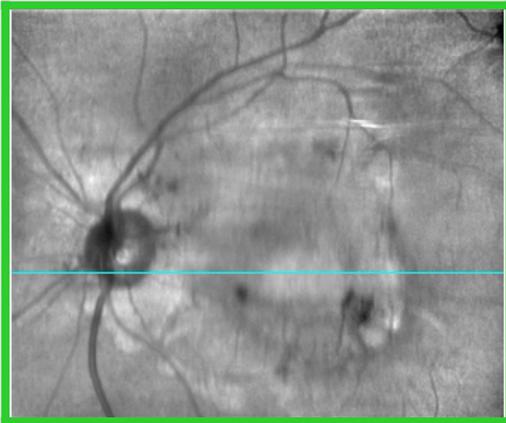


Figura 5g - Immagini ad alta definizione: HD 1(100). Retina OS con gravi ed ampie alterazioni degli strati retinici. Esame eseguito con 6000 AngioPlex Cirrus Carl Zeiss Meditec, Inc.

perdita delle RGCs, con conseguenti modifiche strutturali della testa del nervo ottico, dello spessore RNFL e dello strato plessiforme interno delle cellule gangliari con perdita del campo visivo [39].

L'obiettivo della gestione del glaucoma è rallentare la velocità delle perdite neuronali preservando la funzione visiva.

L'area maculare ha la più alta densità di RGCs; l'imaging maculare ha pertanto un importante

e predittivo valore per rilevare il danno neurale nel glaucoma [40,41].

Circa il 50% delle RGCs si trovano entro 4,5 mm (16 gradi) dal centro foveale; tale regione retinica comprende tuttavia solo il 7,3% dell'area totale della retina [40,41].

Il danno glaucomatoso colpisce anche la macula; la valutazione dei cambiamenti strutturali in corso di glaucoma si è concentrata principalmente sulla morfologia del disco ottico e sulla

regione circumpapillare [42→45].

Utilizzando gli OCT è possibile ottenere da tempo misurazioni delle strutture maculari; lo strato di cellule gangliari, dovuto essenzialmente alla presenza dei loro corpi o pirenofori, si rileva pertanto di fondamentale importanza [46,47].

La perdita dello spessore retinico in macula, determinabile con slab 6mm x 6mm circolari o ovalari secondo differenti OCT, viene utilizzata come indice indiretto per verificare la perdita dei corpi cellulari delle RGCs e dei loro assoni [48].

Lo spessore del macular Ganglion Cell Inner Plexiform Layer mGCIPL, che include lo spessore RNFL maculare, lo strato delle cellule gangliari e lo strato plessiforme interno, ha una buona accuratezza diagnostica per il glaucoma [49].

Il Cirrus HDOCT (Carl Zeiss Meditec, Inc. Dublin, CA) include anche un algoritmo di analisi delle cellule gangliari in grado di rilevare e misurare lo spessore dello strato plessiforme interno delle mGCIPL, con eccellente riproducibilità.

A differenza di mGCC, l'analisi mGCIPL non include lo spessore di RNFL; è più probabile che possa riflettere il numero effettivo dei pirenofori delle RGCs.

*Mwanza e et al.* hanno recentemente riferito che le misurazioni mGCIPL hanno una capacità simile nel rilevare il glaucoma rispetto alle misurazioni del cpRNFL circumpapillary RNFL, spessore circumpapillare RNFL [50].

La quantificazione diretta delle RGCs non è possibile per ora in vivo; formule empiriche derivate da studi sperimentali su primati non umani, convalidate in corti umane, possono essere utilizzate per stimare il numero di RGC indirettamente tramite lo spessore cpRNFL, e utilmente correlarle con la SAP Standard Automated Perimetry, perimetria automatizzata standard [50].

*Medeiros et al.* hanno trovato una forte relazione tra le stime dei conteggi delle RGCs maculari e il parametro OCT mGCIPL ( $R^2 = 67\%$ ), che fornisce

ulteriore supporto alla validità del metodo da loro utilizzato per stimare le RGCs [51].

Le stime dei conteggi RGCs utilizzate da *Medeiros et al.* hanno ottenuto risultati migliori rispetto alle misurazioni maculari OCT isolate per la diagnosi del glaucoma [52,53].

### Conclusioni e Considerazioni

Le attuali conoscenze sulle cellule nervose retiniche del topo indicano almeno 130 tipi di neuroni: 2 distinti tipi di fotorecettori [54], 1 tipo di cellula orizzontale [55], 15 diversi tipi di cellule bipolari [56], circa 63 diversi tipi di cellule amacrine [57], e un numero stimato di circa 46 tipi di cellule gangliari retiniche (RGC) [58].

Si ritiene che almeno 18 diversi tipi di cellule gangliari siano presenti nella retina dei primati e dell'uomo, tutte funzionalmente e morfologicamente distinte.

Le singole RGCs, a loro volta, hanno specificità funzionali determinate da circuiti sinaptici dedicati che si stabiliscono tra i fotorecettori e le gangliari stesse.

Attualmente si pensa che la retina dei primati includa inoltre 2 tipi di cellule orizzontali, 12 tipi di cellule bipolari e più di 25 tipi di cellule amacrine [59].

La discussione effettuata evidenzia come esistano difficoltà intrinseche nel rilevare efficacemente con le tecniche di imaging attuali le cellule gangliari retiniche.

Se consideriamo la molteplicità di tali elementi cellulari, le difficoltà aumentano, anche per tecniche d'imaging sempre più efficaci.

Questi ostacoli non diminuiscono nell'area maculare dove insistono nei 6 mm centrali al polo posteriore circa il 50% di tutte le RGCs.

Inoltre si è potuto riscontrare l'incongruenza tra gli spessori retinici diminuiti in area maculare per le frequenti alterazioni strutturali delle sue componenti cellulari, e gli spessori conserva-

ETÀ OD/OS/OU	SESSO	MACULAR THICKNESS SPESSORE MEDIO (µm)	GCL SPESSORE MEDIO (µm)	RNFL SPESSORE MEDIO (µm)	AREA DELLA RIMA (mm <sup>2</sup> )
<b>d AMD</b>					
56 OD	M	264	32	107	145
86 OS	F	257	53	81	187
77 OS	M	293	62	103	155
84 OU	F	250 DX 239 SX	66 26	73 80	162 153
85 OS	M	272	80	95	181
<b>w AMD</b>					
88 OS	F	272	61	92	115
88 OU	F	237 DX 242 SX	62 60	80 86	132 157
72 OS	M	273	48	116	177
70 OD	F	268	41	95	234
88 OU	M	274 DX 282 SX	60 79	112 116	151 148
62 OD	M	329	68	103	138
85 OD	M	275	82	102	183
73 OS	F	247	52	87	143
76 OS	F	266	75	96	227
82 OS	M	319	51	89	128
72 OD	F	255	60	95	174
<b>FORO MACULARE LAMELLARE</b>					
73 OD	F	289	79	98	169
65 OS	F	317	101	114	182
75 OU	M	427 DX 315 SX	52 97	91 92	133 111
<b>FORO MACULARE 4° STADIO</b>					
86 OD	F	249	39	70	157
79 OD	M	257	63	101	114
75 OS	F	288	37	79	198
76 OS	F	350	95	101	146

Tabella 1 - 27 occhi di 23 pazienti, 13 donne e 10 uomini di età compresa tra 56 e 88 anni.

- 6 con dAMD da almeno 6 mesi;
- 13 con wAMD in fase stabile dopo almeno tre intravitreali;
- 4 pazienti con foro maculare lamellare da almeno 6 mesi;
- 4 con foro maculare a tutto spessore, diametro maggiore di  $\geq 400$  µm da almeno 6 mesi.

Secondo i parametri del device per classificare i pazienti in patologici, borderline e sani, rispettivamente con colore rosso, giallo e verde, un solo paziente è stato assegnato al giallo con uno spessore RNFL medio pari a 70 µm. Gli esami sono stati eseguiti con 6000 AngioPlex Zeiss (Carl Zeiss Meditec, Inc. Dublin, CA).

ti degli assoni ganglionari in area peripapillare testimoniati dal RNFL, e del bordo papillare, testimoniato dalla Rim Area.

Nelle alterazioni retiniche in area maculare gli spessori neurali di RNFL e della Rim Area si trovano spesso inaspettatamente conservati, senza connotati chiaramente patologici, a fronte della destrutturazione avanzata delle aree retiniche al polo posteriore dentro le arcate vascolari.

La casistica comprende 27 occhi di 23 pazienti, 13 donne e 10 uomini di età compresa tra 56 e 88 anni; 6 con dAMD, 13 con wAMD in fase stabile confermata dopo almeno tre intravitreali, 4 pazienti con foro maculare lamellare e 4 con foro maculare a tutto spessore e diametro maggiore di  $\geq 400 \mu\text{m}$  (Tabella 1).

Tutti i pazienti con anamnesi negativa per diabete e malattie neurologiche, dopo convalida clinico/anamnestica ricevuta dal loro medico curante, sono stati sottoposti a visita oculistica con fotografie widefield eseguite con Clarus 500 Zeiss (Carl Zeiss Meditec, Inc. Dublin, CA), angio-tomografia a radiazione coerente eseguita con 6000 AngioPlex Zeiss (Carl Zeiss Meditec, Inc. Dublin, CA), ai test di Amsler, Ishihara e alla tonometria a soffio come screening e, in seconda istanza, con la modalità ad applanazione, ritenuta come valida e definitiva.

I pazienti con toni endoculari  $\geq 18\text{mmHg}$  nell'arco della giornata, anamnesi positiva per glaucoma o altre patologie oculari e con difetti rifrattivi superiori alle due diottrie sono stati esclusi dallo studio. Come si può notare gli spessori RNFL e Rim Area risultano conservati indipendentemente dalla patologia maculare e dal suo grado di evoluzione.

La fisiopatologia delle RGCs è ancora tutta da scoprire; gli assoni gangliari, che trasportano il messaggio visivo fino al corpo genicolato laterale del talamo, non sembrano correlati biologi-

camente in modo stretto alla sopravvivenza dei loro pirenofori in area maculare.

Lo spessore RNFL, determinato dai tomografi in area peripapillare a 3,4 mm dal bordo papillare, somma complessiva di tutti gli assoni retinici maculari ed extra-maculari, sembra risentire poco dell'apoptosi e morte delle RGCs in macula (Fig. 5a→Fig. 5g).

La discordanza tra spessori retinici fortemente diminuiti in macula e quelli conservati di RNFL e della Rim Area risalta come un dato tomografico frequente poco comprensibile.

La presenza di numerosi mitocondri nel citoplasma degli assoni retinici senza mielina potrebbe offrire una spiegazione, giustificare la relativa loro autonomia e sopravvivenza, almeno anatomica, nonostante l'apoptosi e morte dei pirenofori al polo posteriore.

Questa ipotesi teorica necessita naturalmente di necessari e più approfonditi studi, di ulteriori conferme.

Tuttavia le incongruenze tomografiche descritte, rilevate da più parti, e da questo report convalidate, non trovano allo stato attuale altre plausibili e più soddisfacenti spiegazioni.

Per ora possiamo solo sottolineare ed evidenziare queste incongruenze, e sperare che altri studi con più ampie casistiche possano aprire nuove strade di interpretazione e conoscenza.

## REFERENCES

1. Daniele Caligiore, Flora Giocondo, Massimo Silveti. *The Neurodegenerative Elderly Syndrome (NES) hypothesis: Alzheimer and Parkinson are two faces of the same disease*. *IBRO Neuroscience Report*. 13 (2022) 330-343.
2. Hinton DR, Sadun AA, Blanks JC, Miller CA. *Optic-nerve degeneration in Alzheimer's disease*. *N Engl J Med* (1986) 315:485–7. doi: 10.1056/NEJM198608213150804.
3. La Morgia C, Ross-Cisneros FN, Koronyo Y, Hannibal J, Gallassi R, Cantalupo G, et al. *Melanopsin retinal ganglion cell loss in Alzheimer disease*. *Ann Neurol* (2016) 79:90–109. doi: 10.1002/ana.24548
4. den Haan J, Verbraak FD, Visser PJ, Bouwman FH. *Retinal thickness in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis*. *Alzheimers Dement (Amst)* (2017) 6:162–70. doi: 10.1016/j.dadm.2016.12.014.
5. Coppola G, Di Renzo A, Ziccardi L, Martelli F, Fadda A, Manni G, et al. *Optical coherence tomography in Alzheimer's disease: a meta-analysis*. *PLoS One* (2015) 10: e0134750. doi: 10.1371/journal.pone.0134750.
6. Yu JG, Feng YF, Xiang Y, Huang JH, Savini G, Parisi V, et al. *Retinal nerve fiber layer thickness changes in Parkinson disease: a meta-analysis*. *PLoS One* (2014) 9: e85718. doi: 10.1371/journal.pone.0085718.
7. Andrade C, Beato J, Monteiro A, Costa A, Penas S, Guimarães J, et al. *Spectral-domain optical coherence tomography as a potential biomarker in Huntington's disease*. *Mov Disord* (2016) 31:377–83. doi: 10.1002/mds.26486.
8. Mendoza-Santiesteban CE, Palma JA, Martínez J, Norcliffe-Kaufmann L, Hedges TR III, Kaufmann H. *Progressive retinal structure abnormalities in multiple system atrophy*. *Mov Disord* (2015) 30:1944–53. doi: 10.1002/mds.26360.
9. Mendoza-Santiesteban CE, Gabilondo I, Palma JA, Norcliffe-Kaufmann L, Kaufmann H. *The retina in multiple system atrophy: systematic review and meta-analysis*. *Front Neurol* (2017) 8:206. doi: 10.3389/fneur.2017.00206.
10. La Morgia C, Carbonelli M. Chapter. *Friedreich's ataxia and more: optical coherence tomography findings in rare neurological syndromes*. March 2016 DOI: 10.1007/978-3-319-24085-5\_8. In book: *OCT in Central Nervous System Diseases* (pp. 143-166).
11. Klebe S, Depienne C, Gerber S, Challe G, Anheim M, Charles P, et al. *Spastic paraplegia gene 7 in patients with spasticity and/or optic neuropathy*. *Brain* (2012) 135(Pt 10):2980–93. doi: 10.1093/brain/aws240.
12. La Morgia C, Ross-Cisneros FN, Sadun AA, Carelli V. *Retinal ganglion cells and circadian rhythms in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and beyond*. *Front Neurol* (2017) 8:162. doi: 10.3389/fneur.2017.00162.
13. A. Lucente. *RNFL: note sulla valutazione tomografica*. [www.ofthalmologiadomani.it](http://www.ofthalmologiadomani.it) maggio-agosto 2022.
14. A. Lucente. *Angio-OCT in progress*. *Oftalmologia domani*. N. 3 - Anno 2016.
15. A. Lucente. *Le cellule gangliari retiniche: note di istologia e valutazione tomografica*. [www.ofthalmologiadomani.it](http://www.ofthalmologiadomani.it) settembre-dicembre 2022.
16. Quigley HA, Dunkelberger GR, Green WR. *Chronic human glaucoma causing selectively greater loss of large optic nerve fibers*. *Ophthalmology* (1988) 95:357–63. doi: 10.1016/S0161-6420(88)33176-3.
17. Bodis-Wollner I, Kozlowski PB, Glazman S, Miri S. *α-synuclein in the inner retina in Parkinson disease*. *Ann Neurol* (2014) 75:964–6. doi: 10.1002/ana.24182.
18. Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. *Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies*. *Prog Retin Eye Res* (2004) 23:53–89. doi: 10.1016/j.preteyeres.2003.10.003.
19. *Biologists Discover Unknown Powers in Mighty Mitochondria*. <https://www.quantamagazine>.
20. *Ruolo della mitocondrogenesi nella neuroprotezione: nuovi approcci alla terapia sperimentale dell'ischemia cerebrale*. Dottorando dott. Michele Dalbarba, Matricola R08264; Tutor dottorando Ch. mo Prof. Michele O. Carruba; Coordinatore del dottorando Ch. Prof. Alberto Panerai. Anno accademico 2020-2011. Università degli Studi di Milano.
21. *Enzimi del mese. Molecola del Mese di David S. Goodsell. trad di Mauro Tonellato*. [https://www.pianetachimica.it/mol\\_mese/mol\\_mese\\_2004/02\\_Glicolisi/Glicolisi\\_1\\_ita.html](https://www.pianetachimica.it/mol_mese/mol_mese_2004/02_Glicolisi/Glicolisi_1_ita.html).
22. J F Kerr, A H Wyllie, A R Currie. *Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics*. *Br J Cancer*. 1972 Aug;26(4):239-57. doi: 10.1038/bjc.1972.33.
23. Rabih Hage, Catherine Vignal-Clermont. *Leber Hereditary Optic Neuropathy: Review of Treatment and Management*. *Frontiers in Neurology*. May 2021, Vol 12, Article 651639.
24. Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Chinnery PF. *Mitochondrial optic neuropathies – disease mechanisms and therapeutic strategies*. *Prog Retin Eye Res* (2011) 30(2):81–114. doi: 10.1016/j.preteyeres.2010.11.002.
25. Mead B, Tomarev S. *Evaluating retinal ganglion cell loss and dysfunction*. *Exp Eye Res* (2016) 151:96–106. doi: 10.1016/j.exer.2016.08.006.
26. Nancy E. Medeiros, Christine A. Curcio. *Preservation of Ganglion Cell Layer Neurons in Age-Related Macular Degeneration*. *IOVS*, March 2001, Vol. 42, No. 3.
27. Santos A, Humayun M, de Juan E Jr. *Preservation of the inner retina in retinitis pigmentosa: a morphometric analysis*. *Arch Ophthalmol*. 1997;110: 1634–1639.

28. Humayun M, Prince M, de Juan E Jr, et al. Morphometric analysis of the extramacular retina from postmortem eyes with retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999; 40:143–148.
29. Medine Aslı Yıldırım, Burak Erden, Mehmet Tetikoğlu, Özlem Kuru, and Mustafa Elçioğlu. Analysis of the Retinal Nerve Fiber Layer in Retinitis Pigmentosa Using Optical Coherence Tomography. *Journal of Ophthalmology* Volume 2015, Article ID 157365, 5 pages.
30. S. Walia, G. A. Fishman, D. P. Edward, and M. Lindeman. Retinal nerve fiber layer defects in RP patients. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 48, no. 10, pp. 4748–4752, 2007.
31. S. Walia and G. A. Fishman. Retinal nerve fiber layer analysis in RP patients using fourier-domain OCT. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 49, no. 8, pp. 3525–3528, 2008.
32. A. Anastasakis, M. A. Genead, J. J. McAnany, and G. A. Fishman. Evaluation of retinal nerve fiber layer thickness in patients with retinitis pigmentosa using spectral-domain optical coherence tomography. *Retina*, vol. 32, no. 2, pp. 358–363, 2012.
33. A. Oishi, A. Otani, M. Sasahara et al. Retinal nerve fiber layer thickness in patients with retinitis pigmentosa. *Eye*, vol. 23, no. 3, pp. 561–566, 2009.
34. World Health Organization [homepage on the Internet]. *Fact Sheets: Ageing and Health*; 4 October 2021. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>. Accessed April 1, 2022.
35. World Health Organization. *World Report on Vision*. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
36. Małgorzata Wichrowska, Przemysław Wichrowski, Jarosław Kocięcki. Optic Nerve Head and Retinal Ganglion Cells in Dry vs Chronically Treated Wet Age-Related Macular Degeneration. *Clinical Ophthalmology* 2022;16 2373–2384.
37. Mehmet Sahin Sevim, Hüseyin Sanisoglu. Analysis of retinal ganglion cell complex thickness after Brilliant Blue-assisted vitrectomy for idiopathic macular holes. *Curr Eye Res.* 2013 Jan;38(1):180-4.
38. Woo Hyuk Lee, Young Joon Jo, Jung Yeul Kim. Thickness of the Macula, Retinal Nerve Fiber Layer, and Ganglion Cell-inner Plexiform Layer in the Macular Hole: The Repeatability Study of Spectral-domain Optical Coherence Tomography. *Korean J Ophthalmol* 2018;32(6):506-516.
39. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. *JAMA.* 2014; 311:1901–1911. [PubMed: 24825645].
40. Knighton RW, Gregori G. The shape of the ganglion cell plus inner plexiform layers of the normal human macula. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53:7412–7420. [PubMed: 23033389].
41. Hood DC, Raza AS, de Moraes CG, et al. Initial arcuate defects within the central 10 degrees in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52:940–946. [PubMed: 20881293].
42. Curcio CA, Allen KA. Topography of ganglion cells in human retina. *Journal of Comparative Neurology.* 1990; 300:5–25. [PubMed: 2229487].
43. Aulhorn E, Karmeyer H. Frequency distribution in early glaucomatous visual field defects. *Doc Ophthalmol Proc Ser.* 1977; 14:75–83.
44. Anctil JL, Anderson DR. Early foveal involvement and generalized depression of the visual field in glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 1984; 102:363–370. [PubMed: 6703983].
45. Nicholas SP, Werner EB. Location of early glaucomatous visual field defects. *Can J Ophthalmol.* 1980; 15:131. [PubMed: 7437940].
46. Zeimer R, Asrani S, Zou S, Quigley H, et al. Quantitative detection of glaucomatous damage at the posterior pole by retinal thickness mapping. A pilot study. *Ophthalmology.* 1998; 105:224–231. [PubMed: 9479279].
47. Hood DC, Raza AS, de Moraes CG, et al. Glaucomatous damage of the macula. *Prog Retin Eye Res.* 2013; 32:1–21. [PubMed: 22995953].
48. Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, et al. Evaluation of retinal nerve fiber layer, optic nerve head, and macular thickness measurements for glaucoma detection using optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol.* 2005; 139:44–55. [PubMed: 15652827].
49. Rao HL, Zangwill LM, Weinreb RN, et al. Comparison of different spectral domain optical coherence tomography scanning areas for glaucoma diagnosis. *Ophthalmology.* 2010; 117:1692–1699. [PubMed: 20493529].
50. Mwanza JC, Durbin MK, Budenz DL, et al. Glaucoma diagnostic accuracy of ganglion cell-inner plexiform layer thickness: Comparison with nerve fiber layer and optic nerve head. *Ophthalmology.* 2012; 119:1151–1158. [PubMed: 22365056].
51. Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, et al. The structure and function relationship in glaucoma: Implications for detection of progression and measurement of rates of change. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53:6939–6946. [PubMed: 22893677].
52. Medeiros FA, Zangwill LM, Anderson DR, et al. Estimating the rate of retinal ganglion cell loss in glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 2012; 154:814. e1–824.e1. [PubMed: 22840484].
53. Marvasti AH, Tatham AJ, Zangwill LM, et al. The relationship between visual field index and estimated number of retinal ganglion cells in glaucoma. *PLoS One.* 2013; 8: e76590. [PubMed: 24146895].

54. Baden, T.; Schubert, T.; Chang, L.; Wei, T.; Zaichuk, M.; Wissinger, B.; Euler, T. A Tale of Two Retinal Domains: Near-Optimal Sampling of Achromatic Contrasts in Natural Scenes through Asymmetric Photoreceptor Distribution. *Neuron* 2013, 80, 1206–1217.
55. Peichl, L.; González-Soriano, J. Morphological types of horizontal cell in rodent retinae: A comparison of rat, mouse, gerbil, and guinea pig. *Vis. Neurosci.* 1994, 11, 501–517.
56. Shekhar, K.; Lapan, S.W.; Whitney, I.E.; Tran, N.M.; Macosko, E.Z.; Kowalczyk, M.; Adiconis, X.; Levin, J.; Nemes, J.; Goldman, M.; et al. Comprehensive Classification of Retinal Bipolar Neurons by Single-Cell Transcriptomics. *Cell* 2016, 166, 1308–1323.e30.
57. Yan, W.; Laboulaye, M.A.; Tran, N.M.; Whitney, I.E.; Benhar, I.; Sanes, J.R. Mouse Retinal Cell Atlas: Molecular Identification of over Sixty Amacrine Cell Types. *J. Neurosci.* 2020, 40, 5177–5195.
58. Tran, N.M.; Shekhar, K.; Whitney, I.E.; Jacobi, A.; Benhar, I.; Hong, G.; Yan, W.; Adiconis, X.; Arnold, M.E.; Lee, J.M.; et al. Single-Cell Profiles of Retinal Ganglion Cells Differing in Resilience to Injury Reveal Neuroprotective Genes. *Neuron* 2019, 104, 1039–1055.e12.
59. Masri RA, Percival KA, Koizumi A, Martin PR, Grunert U. Survey of retinal ganglion cell morphology in marmoset. *J Comp Neurol.* (2019) 527:236–58. doi: 10.1002/cne.24157.