

Université de Montréal

Évaluation de la régulation de l'oxygénation dans les capillaires de la tête du nerf optique
suivant un effort physique dynamique

par

Patrick Sauvageau

École d'optométrie

Mémoire présenté à l'École d'optométrie
en vue de l'obtention du grade de M.Sc.
en sciences de la vision
option sciences fondamentales et appliquées

Août 2011

© Patrick Sauvageau, 2011

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Évaluation de la régulation de l'oxygénation dans les capillaires de la tête du nerf optique
suivant un effort physique dynamique

Présenté par :
Patrick Sauvageau

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Jean-François Bouchard, président-rapporteur
Vasile Diaconu, directeur de recherche
Elvire Vaucher, membre du jury
Michel Roy, représentant du doyen de la FES

Résumé

Il est généralement accepté que les lits vasculaires oculaires auraient la faculté d'autoréguler leur apport sanguin afin de contrebalancer les variations de pression de perfusion oculaire (PPO). Plusieurs études ont tenté d'évaluer ce mécanisme en mesurant les effets d'une variation de la PPO - induite par un exercice ou par une augmentation de la pression intra-oculaire (PIO) à l'aide d'une suction sclérale - sur le débit sanguin oculaire (DSO). Or, les méthodes de mesure du DSO utilisées jusqu'à maintenant présentent de nombreux désavantages et limites, ce qui rend difficile leur usage clinique. De récents développements dans le domaine des investigations non-invasives des paramètres sanguins oculaires proposent un modèle capable de mesurer en temps réel la concentration en oxygène, un autre paramètre important du métabolisme rétinien. Dans le cadre de la présente étude, ce nouveau modèle est utilisé afin de mesurer les effets d'un effort physique dynamique sur la concentration d'oxygène dans les capillaires de la tête du nerf optique (CO_{TNO}) de sujets jeunes et en santé.

Six jeunes hommes non fumeurs ont participé à l'étude. L'effort physique dynamique consistait en une séance de bicyclette stationnaire de 15 minutes menant à une augmentation du pouls à 160 battements par minute. La CO_{TNO} était mesurée avant et immédiatement après la séance d'exercice. La pression artérielle (PA) et la PIO étaient mesurées ponctuellement alors que le pouls et la saturation sanguine en oxygène (SpO_2) au niveau digital étaient mesurés tout au long de l'expérience.

L'effort physique a entraîné une réduction de la PIO chez tous les sujets, une réduction de la CO_{TNO} chez tous les sujets sauf un tandis que la SpO_2 demeura constante chez tous les sujets.

Une corrélation quadratique entre les variations de la PIO et de la CO_{TNO} a pu être notée. Ces résultats suggèrent une corrélation directe entre les variations de la CO_{TNO} et celles de la PPO et de la PA.

Les résultats de la présente étude suggèrent que les variations de la CO_{TNO} chez un sujet en santé suite à un effort physique dynamique pourraient représenter sa capacité à

compenser un tel effort. De plus, les changements métaboliques sanguins induits par l'effort physique dynamique pourraient représenter une cause commune aux variations de la PIO et de la CO_{TNO} .

Mots-clés : oxymétrie, spectrophotométrie, exercice, débit sanguin oculaire, concentration d'oxygène, autorégulation, pression intra-oculaire, nerf optique, pression artérielle, métabolisme rétinien

Abstract

It is generally accepted that ocular vascular beds have the ability to autoregulate their blood flow to counter balance the variations in the ocular perfusion pressure (OPP). Many studies have tried to evaluate this mechanism by quantifying the effects of a variation in OPP on the ocular blood flow (OBF). This was induced by either exercise or scleral suction which increases intra-ocular pressure (IOP). However, the methods used for these measurements have many disadvantages and limitations, which deters their clinical use. Recent developments in the field of non-invasive investigation of ocular blood parameters propose a model for the measurement, in real-time, of oxygen concentration in the blood streams, another important parameter of the retinal metabolism. In the present study, this new model is used to evaluate the effects of dynamic physical efforts on the blood oxygenation in the optic nerve head capillary structures (BO_{ONH}) in young healthy subjects.

Six non-smoking young men participated in the study. 15-minute sessions of stationary bicycle leading to a heart rate of 160bpm were performed as dynamic physical effort. The BO_{ONH} was measured before and immediately after the exercise. The blood pressure (BP) and the IOP were measured periodically while the heart rate and the oxygen saturation in blood (SpO_2) were measured in a finger throughout the exercise.

The physical effort led to a reduction of the IOP in all subjects, a decrease in the BO_{ONH} in all but one subjects and a constant SpO_2 in all subjects.

A quadratic correlation was observed between the variations in IOP and in BO_{ONH} . These results suggest a direct correlation between the variations in BO_{ONH} and those of the OPP and the BP.

The results of the present study suggest that the variations in BO_{ONH} in a healthy subject following a physical dynamic effort could indicate his/her capacity to compensate for such an effort. Moreover, the metabolic changes in the blood due to physical dynamic efforts could be a common cause of the variations in IOP and BO_{ONH} .

Keywords : oxymetry, spectrophotometry, exercise, ocular blood flow, oxygen concentration, autoregulation, intraocular pressure, optic nerve, blood pressure, retinal metabolism

Table des matières

1. Introduction	1
2. Contexte et revue de littérature	2
2.1 Le sang	2
2.2 Physiologie de la circulation	2
2.3 L'oxygène	4
2.4 Désordres oculaires liés à un manque, à un surplus ou à une mauvaise régulation d'oxygène	5
2.5 L'apport sanguin oculaire	5
2.6 Autorégulation de l'apport sanguin oculaire	7
2.6.1 Le débit sanguin	8
2.6.2 La tension en oxygène	10
2.6.3 Précédentes méthodes de mesure	11
2.7 Spectrophotométrie non-invasive – spectre lumineux total	12
2.8 Explication de la méthode utilisée	12
2.9 Pathophysiologie	16
2.9.1 Cas du glaucome	16
3. Hypothèse	21
4. Objectifs de l'étude	23
5. Changes in blood oxygenation in the optic nerve head capillaries following dynamic exercise in human	24
6. Conclusion	44
7. Bibliographie	45
Annexe 1 – Article 2	i

Liste des figures

Figure 2.2.1 : Schématisation de la circulation sanguine chez l'humain

Figure 2.5.1 : L'apport sanguin oculaire

Figure 2.8.1 : Schématisation du modèle de spectrophotométrie non-invasive où une portion spécifique de la région capillaire de la TNO est sélectionnée pour être évaluée par un système optique confocal

Figure 2.8.2 : Schématisation du modèle de spectrophotométrie non-invasive

Abréviations

BO_{ONH}	blood oxygenation in the optic nerve head capillary
BP	blood pressure
BPd	diastolic blood pressure
BPm	mean arterial blood pressure
BPs	systolic blood pressure
Bvol	capillary blood volume
CO_{TNO}	concentration d'oxygène dans les capillaires de la tête du nerf optique
DC	débit cardiaque
DS	débit sanguin
DSO	débit sanguin oculaire
GPAO	glaucome primaire à angle ouvert
IOP	intraocular pressure
OBF	ocular blood flow
OD	right eye
OPP	ocular perfusion pressure
PA	pression artérielle
PA _{diast}	pression artérielle diastolique
PA _m	pression artérielle moyenne
PA _{mAO}	pression artérielle moyenne dans l'artère ophtalmique
PA _{syst}	pression artérielle systolique
PIO	pression intra-oculaire

PPO	pression de perfusion oculaire
PPOm	pression de perfusion oculaire moyenne
PR	pulse rate
RSF	red scattering factor
SpO ₂	saturation sanguine en oxygène
TNO	tête du nerf optique

1. Introduction

Dans l'œil comme dans tous les autres organes humains, un apport soutenu en oxygène est nécessaire à l'homéostasie. Un manque, un surplus ou une mauvaise régulation de l'oxygène sont autant de causes de pathologies oculaires. Plusieurs méthodes d'investigation du métabolisme rétinien ont été proposées mais aucune n'apporte les résultats escomptés de façon fiable et reproductible. Une nouvelle méthode non-invasive utilisant la spectrophotométrie a récemment été développée afin de mesurer la CO_{TNO} chez l'humain. Ces mesures peuvent être utilisées pour évaluer la régulation de l'oxygène. La présente étude se penche sur l'utilisation de cette méthode avant et après un effort physique dynamique chez de jeunes hommes en santé dans le but de tester le mécanisme d'autorégulation de l'apport sanguin oculaire.

2. Contexte et revue de littérature

2.1 Le sang

Le sang est un tissu conjonctif spécialisé où des cellules vivantes sont en suspension dans une matrice extracellulaire liquide inerte appelée plasma. Les cellules vivantes en suspension, les globules rouges ou érythrocytes, servent au transport de l'oxygène, les globules blancs ou leucocytes, constituent un des moyens de défense de l'organisme, et les plaquettes, interviennent dans la coagulation. Le plasma, quant à lui, est composé à 90% d'eau et contient plus de 100 solutés dont des nutriments, des gaz, des hormones, divers produits et déchets de l'activité cellulaire, des ions et des protéines (Marieb, 2005). La principale fonction du sang est de transporter dans l'organisme tout ce dont ce dernier a besoin, dont l'oxygène. Le sang contribue aussi à la régulation et au maintien de la température corporelle, du pH normal des tissus et du volume approprié de liquide dans le système circulatoire.

2.2 Physiologie de la circulation

La circulation sanguine est rendue possible grâce à l'action de pompage du cœur. Le sang riche en oxygène sort du cœur puis parcourt les ramifications des artères jusqu'aux plus petites, les artérioles, pour finalement aboutir dans les lits capillaires des organes et des tissus. Les capillaires sont les plus petits vaisseaux sanguins. Leurs parois extrêmement minces ne sont composées que de cellules endothéliales. Des cellules en forme d'étoiles appelées péricytes et s'apparentant à des cellules musculaires lisses sont dispersées sur leur face externe. Ceux-ci stabilisent la paroi et peuvent, en se contractant, influencer sur le diamètre des capillaires. En traversant les minces parois de ces minuscules vaisseaux que

sont les capillaires, les nutriments ainsi que l'oxygène lié aux atomes de fer des molécules d'hémoglobine des érythrocytes se séparent du sang et pénètrent dans le liquide interstitiel des tissus, là où baignent les cellules. L'hémoglobine change alors de conformation en passant de la forme oxyhémoglobine à la forme désoxyhémoglobine. En sens inverse, le gaz carbonique et les déchets passent du liquide interstitiel au sang. Ainsi, en quittant les capillaires, le sang pauvre en oxygène s'engage dans les veinules, qui sont les plus petites veines, pour se jeter dans des veines qui vont grossissant et qui convergent vers le cœur. De là, le sang entre dans les poumons, où il s'approvisionne en oxygène, puis il retourne au cœur, d'où il sera renvoyé dans tout l'organisme.

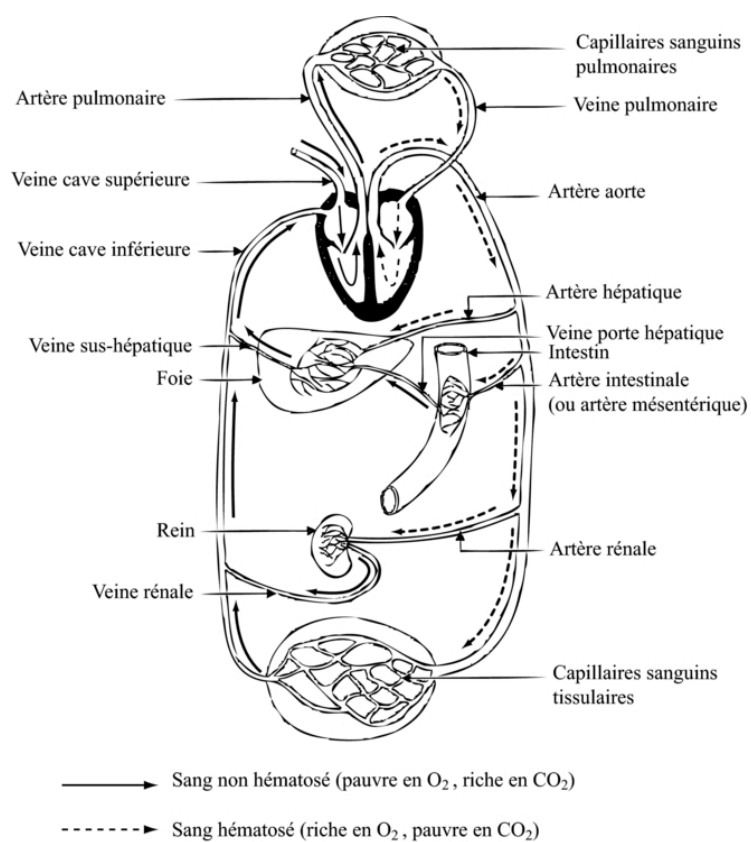


Figure 2.2.1 : Schématisation de la circulation sanguine chez l'humain

Les parois des artères et des veines, sauf celles des plus petites, sont composées de trois couches, ou tuniques. La tunique interne est constituée d'endothélium. L'endothélium constitue une surface lisse qui contribue à réduire la friction entre le sang et la face interne des vaisseaux. La tunique moyenne est principalement composée de cellules musculaires lisses et de feuillets d'élastine. L'activité des cellules musculaires lisses est régie par les neurofibres vasomotrices du système nerveux sympathique et par une multitude de molécules. Selon les besoins de l'organisme, ces neurofibres peuvent causer une vasoconstriction ou une vasodilatation. Comme de légères variations du diamètre des vaisseaux sanguins ont des effets marqués sur le débit et sur la PA, la tunique moyenne joue un rôle important dans la régulation de la circulation. Finalement, la tunique externe est composée de fibres de collagènes. Ces dernières protègent et renforcent les vaisseaux et les attachent aux structures voisines (Marieb, 2005).

En somme, le système vasculaire, constitué de veines et d'artères, œuvre avec le cœur pour maintenir un débit sanguin (DS) continu dans l'appareil circulatoire alors que ce dernier assure à tous les tissus de l'organisme à la fois un apport constant d'oxygène et de nutriments et l'élimination du gaz carbonique et des déchets.

2.3 L'oxygène

Puisque l'oxygène sert à la production de l'énergie cellulaire (ATP), les cellules des tissus corporels en nécessitent un apport soutenu pour remplir leur fonction et veiller à l'homéostasie. C'est pour cette raison que les cellules sont totalement dépendantes de la circulation sanguine.

2.4 Désordres oculaires liés à un manque, à un surplus ou à une mauvaise régulation d'oxygène

Pour maintenir un milieu interne stable, l'organisme doit maintenir à tout moment une concentration adéquate d'oxygène et de nutriments dans le sang. L'un des processus pathologiques les plus communs chez l'humain est l'ischémie. L'ischémie résulte d'un apport inadéquat d'oxygène et d'autres nutriments aux tissus. Un tel processus est clairement observé dans plusieurs maladies oculaires telles la rétinopathie diabétique et l'occlusion vasculaire rétinienne.

Paradoxalement, bien que l'oxygène soit crucial pour la survie des tissus, il peut également s'avérer toxique en trop grande quantité. En effet, les espèces oxydatives réactives, qui sont principalement produites dans les mitochondries, peuvent endommager les structures cellulaires (Shibata et Kobayashi, 2008).

Finalement, une mauvaise régulation de l'apport en oxygène pourrait être impliquée dans la pathophysiologie de bon nombre de pathologies oculaires tels que plusieurs types de glaucome (Hayreh *et al.*, 1970; Emre *et al.*, 2004; Grieshaber et Flammer, 2005; Harris *et al.*, 1999).

2.5 L'apport sanguin oculaire

Le sang se rendant aux yeux quitte le cœur et chemine dans l'aorte, puis dans les artères carotides communes gauche et droite, dans les artères carotides internes, pour finalement aboutir dans les artères ophtalmiques.

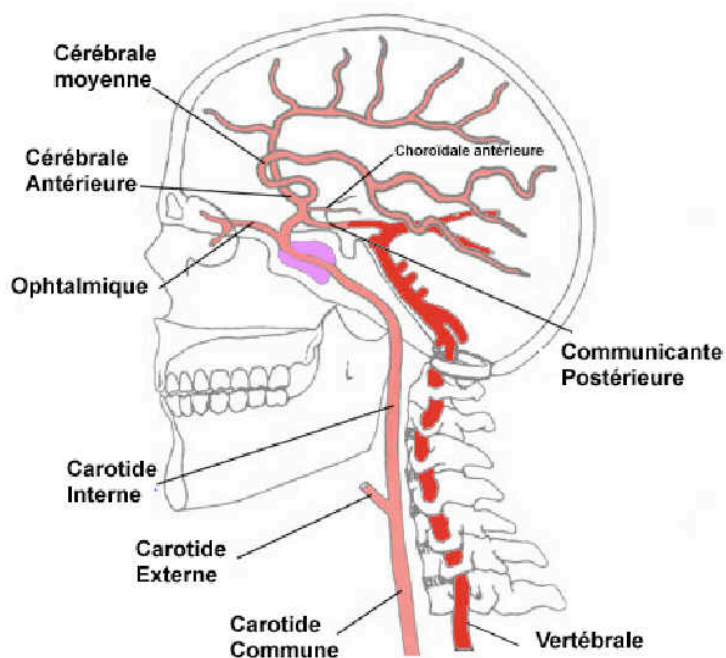


Figure 2.5.1 : L'apport sanguin oculaire

Les artères ophtalmiques irriguent l'œil ainsi que d'autres structures orbitales. Elles donnent naissance à un grand nombre de collatérales dont les artères ciliaires postérieures courtes et longues, les artères ciliaires antérieures ainsi que les deux artères centrales de la rétine.

L'apport sanguin principal de la tête du nerf optique (TNO), où la mesure de la CO_{TNO} est prise, se fait par les artères ciliaires postérieures courtes via le plexus pial, par ce que l'on appelle le cercle de Zinn-Haller. Quant à elles, l'artère centrale de la rétine et ses petites branches assurent l'irrigation de la couche de fibres nerveuses superficielles (Hayreh, 1995) tandis que la circulation choroïdienne, qui provient des artères ciliaires postérieures courtes, assure la nutrition de la portion externe de la rétine.

Il a été démontré qu'il y a une certaine variation interindividuelle en ce qui a trait à l'apport sanguin à la TNO. Cet apport présenterait une distribution sectorielle (Hayreh, 2001). De plus, il y aurait des zones de bassins versants entre les artères ciliaires postérieures qui pourraient jouer un rôle important dans le développement de désordres ischémiques à la TNO (Hayreh, 2001).

Le drainage veineux de la TNO est essentiellement assuré par la veine centrale de la rétine, sauf en ce qui concerne la région prélaminaire qui elle, peut aussi se drainer dans les veines péripapillaires choroïdiennes (Hayreh, 2001). Le drainage veineux de la choroïde s'effectue par les veines vortiqueuses.

2.6 Autorégulation de l'apport sanguin oculaire

Puisque la circulation du sang sert à transporter une grande variété de molécules (oxygène, cellules, leucocytes, etc.) et de la chaleur, le fonctionnement normal des tissus dépend du maintien d'une perfusion adéquate et d'un DS suffisant. La régulation de l'apport sanguin est donc nécessaire pour l'adaptation aux conditions variantes internes et externes à l'organisme. Or, tout comme au niveau de la circulation cérébrale, rénale, coronaire et musculo-squelettique, les lits vasculaires oculaires auraient la faculté d'autoréguler leur apport sanguin. Les rôles du mécanisme d'autorégulation de l'apport sanguin oculaire seraient de contrebalancer les variations de PPO (autorégulation), de permettre l'adaptation aux activités de la rétine (couplage neuro-vasculaire) et de maintenir l'arrière de l'œil à une température constante (thermorégulation). En somme, ce mécanisme

homéostatique permettrait à l'apport sanguin de l'œil de suffire aux demandes métaboliques de la vie courante.

2.6.1 Le débit sanguin

Le DS représente le volume de sang transitant dans les vaisseaux sanguins en une période donnée (mL/min). Le DS systémique est régulé par le débit cardiaque (DC), qui est principalement contrôlé par le système nerveux autonome et les hormones en circulation. La distribution du DC aux différents organes, ou aux sections d'organes, est quant à elle régulée par la résistance locale relative (Flammer et Mozaffarieh, 2008). En général, la résistance d'un vaisseau sanguin dépend de sa longueur et de son diamètre. Au niveau du lit vasculaire rétinien, la longueur des vaisseaux ne semble pas jouer un rôle majeur dans la régulation du DS contrairement au diamètre des vaisseaux qui est modulé par l'interaction de multiples facteurs systémiques et locaux affectant le tonus des cellules musculaires lisses et des péricytes (Pournaras *et al.*, 2008).

Le DS aide à maintenir l'environnement chimique des cellules en transportant des nutriments et de l'oxygène au tissu et en le débarrassant des déchets (Stefánsson *et al.*, 2005). Dans son sens strict, l'autorégulation du DS dans un tissu représente l'habileté intrinsèque de ce tissu de maintenir un DS relativement constant malgré des variations au niveau de la PPO. La pression de perfusion oculaire moyenne (PPOm) poussant le sang à travers la rétine est la pression artérielle moyenne dans l'artère ophtalmique (PA_{mAO}) moins la pression artérielle dans la veine centrale de la rétine. Puisque la pression veineuse correspond approximativement à la PIO, la PPOm est définie comme $PA_{mAO} - PIO$.

Lorsque le patient est assis ou debout, la $P_{Am_{AO}}$ représente environ le 2/3 de la pression artérielle moyenne dans l'artère brachiale. Ainsi, la $PPOm = 2/3[PA_{diast} + 1/3(PA_{syst} - PA_{diast})] - PIO$. Le facteur 2/3 est dû à la baisse de PA entre le cœur et l'artère ophtalmique. PA_{syst} et PA_{diast} représentent respectivement la pression artérielle systolique au niveau de l'artère brachiale et la pression artérielle diastolique au niveau de l'artère brachiale. Il est à noter que la $PPOm$ ainsi calculée doit être vue comme une estimation de la $PPOm$ réelle. On remarque qu'une faible PPO peut être causée par une PA relativement basse ou par une PIO relativement élevée (Lesk, 2009).

Dans l'œil humain, la PPO peut être abaissée en faisant augmenter la PIO à l'aide d'une ventouse. Elle peut aussi être accrue par un changement de posture ou par l'entremise d'un exercice isométrique ou dynamique. En effet, un exercice physique dynamique fait diminuer la PIO (Harris *et al.*, 1992; Lempert *et al.*, 1967; Marcus *et al.*, 1970) et active le système nerveux sympathique, ce qui augmente la contractilité, accélère la fréquence cardiaque et fait grimper la PA (Marieb, 2005). C'est donc pourquoi plusieurs études s'intéressant à l'autorégulation du DSO chez l'humain ont utilisé l'exercice physique dynamique comme modulateur de la PPO (Michelson *et al.*, 1994; Németh *et al.*, 2002; Price *et al.*, 2003; Forcier *et al.*, 1997; Okuno *et al.*, 2006; Harris *et al.*, 1996; Kozobolis *et al.*, 2008). Pour ces raisons physiologiques et à des fins de comparaison avec la littérature, c'est aussi l'avenue que la présente étude a décidé d'emprunter. Finalement, il est intéressant de relever la nature contradictoire des données recueillies dans ces études. Ainsi, certaines de ces études notaient une stabilité au niveau du DSO suite à l'exercice alors que

d'autres observaient une diminution et d'autres encore une augmentation du DSO suite à l'exercice.

Au fil du temps, plusieurs études ont démontré l'existence d'un mécanisme d'autorégulation du DS au niveau du cerveau (Scheinberg *et al.*, 1953, 1954; Lassen, 1959; Zobl *et al.*, 1965; Ide et Secher, 2000; Ogoh, 2008), de l'artère ophtalmique (Michelson *et al.*, 1994), de la circulation rétinienne (Harris *et al.*, 1996) et de la TNO (Movaffaghy *et al.*, 1998; Pillunat *et al.*, 1985; Riva *et al.*, 1997). Bien que la régulation du DS varie d'un tissu à l'autre, tous les vaisseaux sont sous le contrôle des cellules vasculaires endothéliales qui relâchent des molécules vasoactives. Les molécules les plus importantes sont l'oxyde nitrique, qui produit une vasodilatation, et l'endothéline-1, qui produit une vasoconstriction (Flammer et Mozaffarieh, 2008). De plus, les vaisseaux de la rétine et de la TNO sont influencés par les cellules neurales et gliales (couplage neuro-vasculaire) tandis que les vaisseaux de la choroïde sont contrôlés par le système nerveux autonome. Les vaisseaux de la TNO sont également influencés par les hormones en circulation (Flammer *et al.*, 2002 ; Flammer et Mozaffarieh, 2008).

2.6.2 La tension en oxygène

La tension en oxygène représente la pression partielle d'oxygène. La tension en oxygène est vitale du point de vue des cellules dans le tissu puisqu'elle reflète leur environnement chimique et la disponibilité en oxygène pour le métabolisme (Stefánsson *et al.*, 2005). La tension en oxygène dans le nerf optique est influencée par la PIO, la PA, la résistance des vaisseaux et la consommation d'oxygène des tissus. Au niveau rétinien, la

tension en oxygène est autorégulée pour des changements limités de PIO ou de PA. Cependant, si la PIO augmente trop (>40 mmHg), ou si la PPO diminue trop (<50 mmHg), le mécanisme d'autorégulation est surpassé et il y a hypoxie (Stefánsson *et al.*, 2005). C'est donc dire que les artérioles ne peuvent plus se dilater pour compenser la diminution de la PPO.

Ernest (1973, 1974, 1977) fut le premier à mesurer la tension en oxygène au niveau de la TNO et, jusqu'à ce jour, les études portant sur la tension en oxygène du nerf optique ont principalement été conduites de manière invasive sur des animaux de laboratoire dont le chat, le singe, le lapin et le cochon (Stefánsson *et al.*, 2005).

2.6.3 Précédentes méthodes de mesure

La compréhension des mécanismes sous-tendant la pathophysiologie de la microcirculation rétinienne est d'une importance clinique fondamentale puisque les microangiopathies ischémiques de la rétine interne représentent la cause première de cécité dans les pays développés (Leibowitz *et al.*, 1980).

Historiquement, les études portant sur le métabolisme oculaire se sont penchées sur le DS et la tension en oxygène. De nos jours, quelques méthodes de mesure du DSO ou de la tension en oxygène tissulaire permettent d'étudier certains aspects spécifiques du métabolisme énergétique du nerf optique. Par contre, ces méthodes sont peu nombreuses et présentent plusieurs limitations (Hayreh, 2001), ce qui rend leur usage clinique très limité, voire inexistant.

Ainsi, d'une part il n'y a pas, comme le mentionnaient Grieshaber et Flammer (2005), de méthode standardisée reconnue pour la mesure du DS dans la choroïde et le nerf optique chez l'humain. D'autre part, il n'existe actuellement pas de méthode de mesure de la tension en oxygène *in vivo* chez l'humain. Conséquemment, à l'heure actuelle aucune méthode clinique donnant des informations fiables quant au DSO *in vivo* ou à la tension en oxygène *in vivo* n'est disponible. Il est donc nécessaire d'explorer de nouvelles avenues permettant d'évaluer et de mieux comprendre le métabolisme rétinien.

2.7 Spectrophotométrie non-invasive – spectre lumineux total

De récents développements dans le domaine des techniques non-invasives d'investigation des paramètres sanguins oculaires propose un modèle capable de mesurer en temps réel la CO_{TNO} avec une précision de 2% (Diaconu, 2009; Vucea *et al.*, 2011). Cette méthode utilise les données de la totalité du spectre lumineux, contrairement à des valeurs de longueurs d'onde prédéterminées pour d'autres méthodes. Une portion de l'image de la région capillaire de la TNO est ainsi sélectionnée par un système optique confocal pour être analysée par le spectrographe. C'est donc pourquoi les mesures d'oxygénation mesurées sont assimilées à la circulation de la TNO.

2.8 Explication de la méthode utilisée

L'hémoglobine et l'oxyhémoglobine ont des spectres d'absorption différents dans le spectre lumineux. Il existe par contre des longueurs d'ondes spécifiques où l'absorbance des deux protéines est la même. Ces croisements sont appelés points isobestiques. Le

présent dispositif de spectrophotométrie non-invasif (Diaconu, 2009; Vucea *et al.*, 2011) permet de comparer l'absorption lumineuse des longueurs d'ondes isobestiques avec celle des longueurs d'ondes situés entre 430 et 680 nm. La concentration de l'oxyhémoglobine dans les capillaires de TNO peut être dérivée de ces mesures. Un exemple de spectre est présenté dans la Figure 1.

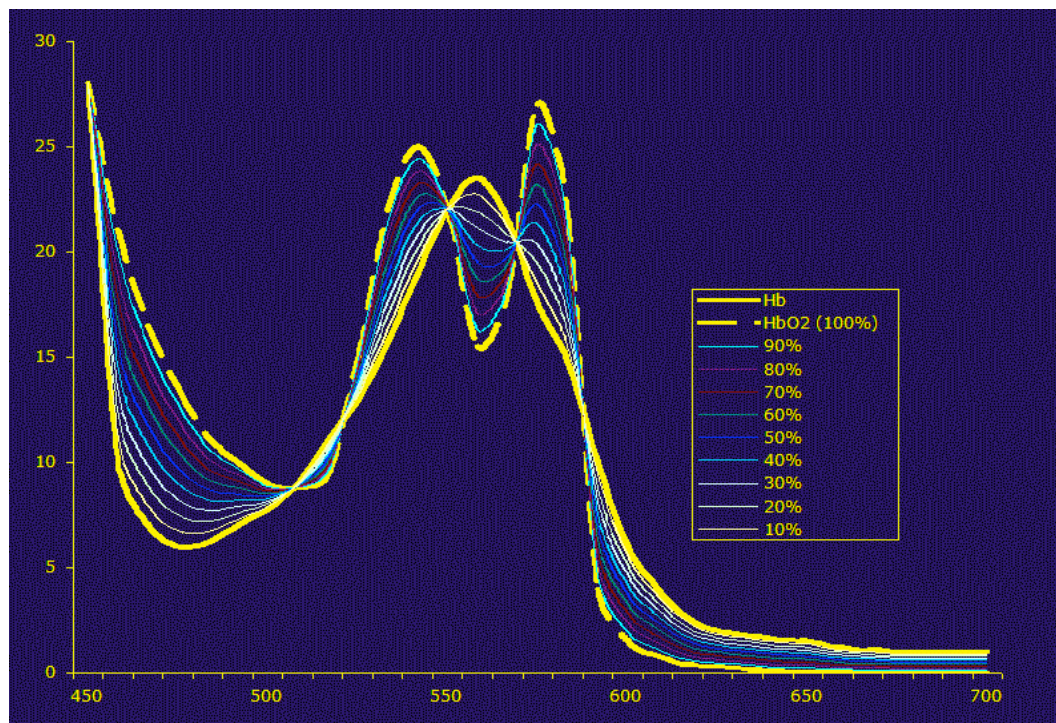


Figure 2.8.1 : Spectres d'absorption de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine en fonction des concentrations en oxygène dans le sang

Les technologies précédentes proposaient d'utiliser trois longueurs d'ondes spécifiques afin d'estimer, sans calibration, l'oxygénation sanguine dans un échantillon de sang (Delori, 1988). Cependant, il a été démontré (Schweitzer *et al.*, 1995) que le fait d'augmenter le nombre de longueurs d'ondes augmentait aussi la précision de la mesure

proportionnellement à la racine carrée du nombre de longueurs d'ondes utilisées. Les récents développements suggèrent donc d'estimer l'oxygénation sanguine rétinienne à l'aide de spectrophotomètres multicanaux (Schweitzer *et al.*, 2001; Schweitzer *et al.*, 1999).

Dans la présente étude, la CO_{TNO} est mesurée en utilisant un spectrophotomètre couvrant les longueurs d'ondes entre 430 et 680 nm selon un modèle proposé par Diaconu (Diaconu, 2009). Les mesures d'oxygénation étaient obtenues dans une région temporelle de l'anneau neuro-rétinien. De nombreuses études portant sur le DSO avaient déjà utilisées cette région spécifique (Riva *et al.*, 2001; Fuchsjäger-Mayrl *et al.*, 2004; Riva *et al.*, 2004; Findl *et al.*, 1997) puisqu'elle ne comporte pas de vaisseaux de surface.

Le système utilisé représente un couplage entre un système de spectroscopie multicanal et une caméra de fond d'œil. Le couplage est accompli par l'usage d'un miroir troué qui réfléchit l'image de la rétine à la caméra, excepté pour une petite zone axiale qui traverse le trou de 0,5 mm de diamètre du miroir pour se rendre au système de spectroscopie. Ainsi, lorsque l'image rétinienne est affichée sur l'écran, la région axiale apparaît comme un petit point noir au centre de l'image (Fig 2.8.2). Ce point indique de manière très précise la région de 0,1 mm de diamètre analysée. Au cours des sessions expérimentales, un effort particulier était apporté afin d'éviter les vaisseaux sanguins et donc de mesurer la CO_{TNO} au niveau des capillaires.

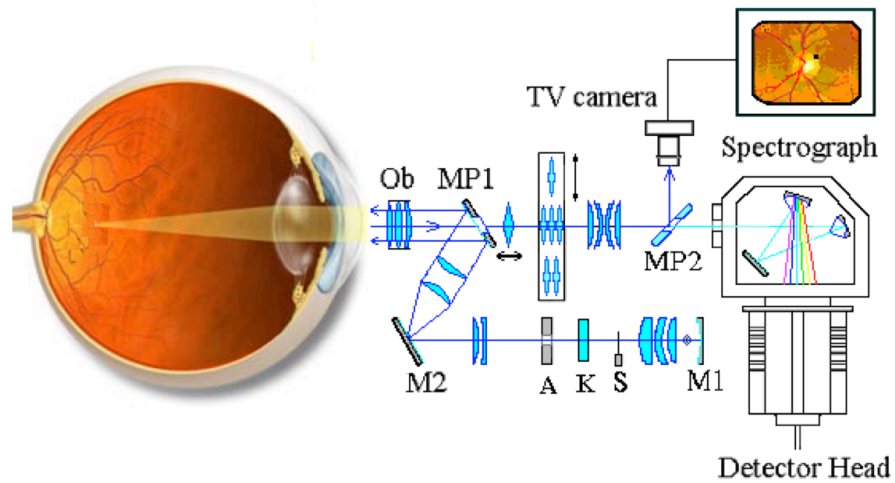


Figure 2.8.2 : Schématisation du modèle de spectrophotométrie non-invasive où une portion spécifique de la région capillaire de la TNO est sélectionnée pour être évaluée par un système optique confocal. Cette portion spécifique est représentée par un point noir sur l'image rétinienne.

Finalement, il est important de mentionner que la consommation en oxygène ne semble pas toujours représentative des variations au niveau du DSO (Offenhauser *et al.*, 2005). En effet l'équation suivante décrit la relation qui existe entre le métabolisme, le DS et la consommation en oxygène.

$$M = DS \times ([O_2]_A - [O_2]_V)$$

Où M représente le métabolisme, $[O_2]_A$ représente la concentration en oxygène au niveau artériel et $[O_2]_V$ représente la concentration en oxygène au niveau veineux. Or, le gradient en oxygénation retrouvé dans la précédente équation représente la concentration d'oxygène dans les capillaires de la TNO, donc à la valeur mesurée par la présente méthode (CO_{TNO}). Ainsi, à titre d'exemple, lorsque le métabolisme oculaire est maintenu constant, une augmentation du DSO peut compenser une diminution du gradient de concentration en oxygène et donc une diminution de la consommation d'oxygène.

2.9 Pathophysiologie

Plusieurs études ont révélé qu'un désordre du mécanisme d'autorégulation de l'apport sanguin oculaire pouvait être impliqué dans la pathophysiologie d'un bon nombre de maladies oculaires comme la rétinopathie diabétique (Rassam *et al.*, 1995) et plusieurs types de glaucome (Hayreh *et al.*, 1970; Emre *et al.*, 2004; Grieshaber et Flammer, 2005; Harris *et al.*, 1999). La première étape dans le développement de nouveaux outils diagnostiques pour de telles maladies oculaires est la validation des méthodes de mesure chez des sujets en santé. Le glaucome est un bon exemple de maladie oculaire pouvant bénéficier d'une étude de la sorte. La prochaine section démontre comment l'évaluation du mécanisme d'autorégulation de l'apport sanguin oculaire peut être liée à l'étude des mécanismes sous-tendant la pathophysiologie du glaucome et donc comment la technique présentée dans cette expérience pourrait représenter un outil privilégié d'étude de la maladie.

2.9.1 Cas du glaucome

Le glaucome est un terme clinique regroupant diverses affections ayant un élément commun: une neuropathie optique (i.e., la neuropathie optique glaucomateuse (NOG) caractérisée par une perte caractéristique de la couche des fibres nerveuses de la rétine et des changements au niveau de la TNO. La perte du tissu neural peut entraîner un déficit irréversible du champ visuel (SCO, 2009).

La PIO augmente lorsqu'il y a obstruction de l'écoulement de l'humeur aqueuse. Cela survient lorsque l'angle de drainage iridocornéen est fermé à cause de l'apposition de

l'endothélium cornéen et de la base de l'iris (angle fermé), lorsqu'il y a obstruction de l'écoulement aqueux par les voies de drainage d'un angle ouvert ou lorsqu'il y a obstruction du drainage veineux de l'œil. Si le dommage glaucomateux à la TNO se présente devant un angle ouvert, c'est alors un glaucome à angle ouvert. Si le glaucome survient sans cause identifiable, on parle de glaucome primaire.

Glaucome primaire à angle ouvert (GPAO)

Historiquement, le glaucome était défini comme une maladie liée à une PIO élevée (>21 mm Hg). L'hypothèse prédominante étant que le blocage de l'humeur aqueuse au niveau du treillis trabéculaire menait à une augmentation chronique de la PIO, ce qui engendrait des dommages au nerf optique se reflétant dans des déficits correspondants du champ visuel. Une étude de population a cependant démontré que plus du tiers des personnes souffrant de glaucome à angle ouvert présentaient une PIO normale (Klein *et al.*, 1992). C'est ainsi que la définition courante du GPAO s'est élargie et n'est plus synonyme d'une PIO élevée mais bien d'une neuropathie optique chronique progressive visible chez l'adulte où la PIO et d'autres facteurs inconnus contribuent à une atrophie acquise du nerf optique caractéristique et à une perte de cellules ganglionnaires rétiniennes (SCO, 2009).

Le GPAO revêt une apparence très insidieuse puisque les symptômes ne se manifestent généralement que très tardivement, lorsque la fixation est menacée.

Facteurs de risque

Les principaux facteurs de risque connus du GPAO sont la PIO élevée, le vieillissement, les antécédents familiaux de glaucome et l'origine ethnique (SCO, 2009).

Diagnostic

Jusqu'à récemment, le diagnostic du glaucome était fondé sur la présence d'une combinaison de PIO élevée, d'excavation du nerf optique et de dommage du champ visuel. Néanmoins, plus du tiers des patients atteints de GPAO présenteraient une PIO normale (Klein *et al.*, 1992; Lesk, 2007). En contre partie, la majorité des patients présentant une PIO élevée ne développeront jamais de GPAO (Kass *et al.*, 2002 ; Rezaie *et al.*, 2002).

À cause de la nature asymptomatique du glaucome chronique, il est estimé que, dans les pays industrialisés, jusqu'à 50% des personnes atteintes de glaucome n'en ont pas conscience et ne reçoivent aucun soin (Sommer *et al.*, 1991).

Épidémiologie

Après la cataracte, le glaucome est la deuxième cause principale de cécité dans le monde (Resnikoff *et al.*, 2004). Il s'agit par contre de la première cause de la perte irréversible de la vision (Resnikoff *et al.*, 2004). La prévalence des divers types de glaucome suit les frontières raciales et ethniques. On estime qu'à lui seul, le GPAO est la source d'environ 12% des cas de cécité dans le monde et de 32% des cas de cécité chez les personnes d'origine africaine (Lesk, 2007). Aux États-Unis, la prévalence du GPAO chez les personnes de plus de 40 ans a été établie à 1,86% (Friedman *et al.*, 2004). Au Canada, on compterait environ 409 000 personnes atteintes du glaucome (Perruccio *et al.*, 2007).

Étiologie

Une explication étiologique de la pathogénèse du GPAO repose sur l'hypothèse vasculaire. Celle-ci se fonde sur la prémisse que la perfusion anormale de la TNO serait une cause majeure du dommage glaucomateux (Lesk, 2009). Il y a quarante ans, Hayreh (1970) a défini la NOG comme étant un désordre vasculaire due à une insuffisance vasculaire à la TNO, résultant d'une baisse de la PPO dans le lit vasculaire de la TNO. Il a aussi ajouté que le glaucome normotensif représentait une manifestation du même mécanisme (Hayreh *et al.*, 1970). Depuis, les preuves d'une étiologie vasculaire dans le GPAO s'accumulent (Lesk, 2009). En effet, de plus en plus d'études suggèrent qu'un DS insuffisant à la TNO serait un facteur contributoire à la pathogénèse du glaucome (Hayreh, 2001; Grieshaber et Flammer, 2005). Ainsi, les patients atteints de GPAO présenteraient, dans l'anneau neuro-rétinien de la TNO, des DS significativement plus bas que ceux observés chez les patients atteints d'hypertension oculaire ou chez les sujets normaux (Hafez *et al.*, 2003). Une corrélation significative a été observée entre cette réduction du DS et l'augmentation de l'excavation du nerf optique (Hafez *et al.*, 2003). De plus, des études cliniques prospectives ont démontré des déficiences du DS dans la vascularisation rétinienne (Chung *et al.*, 1999), choroïdienne (Yin *et al.* 1997) et rétrobulbaire (Butt et O'brien, 1995; Galassi *et al.* 1998; Harris *et al.* 1994) chez les patients atteints de GPAO. Il a aussi été démontré que ces déficiences correspondaient à des zones de perte de champ visuel (Breil *et al.* 2002; Galassi *et al.* 2003; Chung *et al.* 1999). Plusieurs études populationnelles ont aussi démontré que la réduction de la PPO était souvent liée à la prévalence, l'incidence et la progression du glaucome (Sommer *et al.* 1991; Tielsch *et al.* 1995; Bonomi *et al.* 2000; Lesk *et al.* 2001,

2007). Lorsque comparée à des sujets contrôles, les réponses hémodynamiques des patients atteints de GPAO suggèrent une mauvaise régulation de l'apport sanguin ou même, chez certains patients, une absence d'autorégulation (Lesk, 2009). Cette mauvaise régulation pourrait mener non seulement à une basse PPO chronique, mais aussi à une perfusion instable avec de grandes fluctuations (Lesk, 2009). En somme, la cause sous-jacente d'une perfusion anormale observée dans le glaucome serait probablement un dérèglement des mécanismes qui régularisent la PPO (Lesk, 2009). Des variations au niveau de la perfusion oculaire pourraient donc causer de l'ischémie et une irrigation déficiente des tissus du nerf optique, ayant de ce fait des effets délétères. Certains indices laissent croire que la NOG serait plus reliée à un DSO instable qu'à une réduction constante du DS (Flammer et al., 1999; Grieshaber et Flammer, 2005). Le DSO est instable lorsqu'une fluctuation importante de la PIO est observée ou lorsque l'autorégulation est affectée. Il y a déjà plusieurs années, il a été postulé que les patients atteints du glaucome présenteraient une autorégulation anormale du DSO (Ernest, 1974).

L'hypothèse de l'étiologie vasculaire de la NOG est aussi supportée par plusieurs études ayant démontré une forte corrélation entre la NOG et l'hypertension artérielle, l'hypotension artérielle, la réduction rapide de la PA chez les hypertensifs, l'hypotension artérielle nocturne, la basse pression sanguine artérielle ophtalmique, les maladies cardiovasculaires, les troubles vasospastiques, le diabète, l'âge, les anomalies du système de coagulation-fibrinolytique, l'hyperlipidémie, l'usage du tabac et certains désordres du système circulatoire (Hayreh, 2001). Or, comme le rappelle Flammer (2008), les théories

mécanique et vasculaire ne sont pas mutuellement exclusives, au contraire, une mauvaise régulation vasculaire augmenterait la susceptibilité à la PIO.

Puisque des indices substantiels semblent indiquer qu'une perfusion inefficace de la TNO serait un facteur de risque pour le développement et la progression de changements des disques optiques glaucomateux (Drance, 1997; Flammer *et al.*, 2002), une diminution du DSO pourrait avoir une valeur prédictive comparable à une augmentation de la PIO (Satilmis *et al.*, 2003). La mesure du DSO pourrait aussi permettre d'établir un pronostic (Grieshaber et Flammer, 2005).

La vaste majorité des études portant sur l'étiologie ischémique du GPAO implique des mesures du DS (Flammer *et al.*, 2002). Ces études furent notoirement difficiles à effectuer et à analyser, principalement dû aux difficultés techniques des mesures et de la variabilité inhérente du DS (Flammer *et al.*, 2002).

Traitement

Présentement, l'abaissement de la PIO est la seule méthode cliniquement établie pour ralentir la progression du glaucome (The AGIS Investigators, 2000).

Traitements futurs

L'élucidation de l'influence que peuvent avoir d'autres facteurs dans le glaucome pourrait ouvrir de nouvelles avenues thérapeutiques. Par exemple, des études en laboratoire suggèrent que les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique pourraient être utiles pour le traitement médical du nerf optique et de l'ischémie rétinienne dans des maladies telles que

le glaucome et la rétinopathie diabétique (Stefánsson *et al.*, 2005; Mozaffarieh and Flammer, 2007).

3. Hypothèse

Les érythrocytes sont constitués presque exclusivement d'hémoglobine (97%), une protéine destinée au transport des gaz respiratoires. Les érythrocytes captent l'oxygène dans les lits capillaires des poumons et le distribuent aux cellules des tissus par le biais d'autres capillaires. Les érythrocytes transportent également vers les poumons environ 20% du gaz carbonique que les cellules des tissus libèrent.

Au niveau des poumons, l'oxygène de l'air inspiré diffuse des alvéoles pulmonaires vers le plasma sanguin puis traverse la membrane plasmique des érythrocytes et se lie aux molécules d'hémoglobine libre présentes dans leur cytoplasme. Au cours de la liaison de l'oxygène au fer, l'hémoglobine adopte une nouvelle structure tridimensionnelle ; elle prend alors le nom d'oxyhémoglobine et se colore en rouge vif. Dans les capillaires des tissus, le processus est inversé. En effet, l'oxygène se dissocie du fer et l'hémoglobine reprend sa forme antérieure ; elle porte alors le nom de désoxyhémoglobine et se colore en rouge sombre. Environ 20% du gaz carbonique transporté dans le sang se lie à l'hémoglobine des érythrocytes pour former le carbhémoglobine. L'oxygène libéré diffuse donc du cytoplasme des érythrocytes vers le plasma, du plasma vers le liquide interstitiel et, enfin, du liquide interstitiel vers le cytoplasme des cellules.

Tenant compte que la méthode de spectrophotométrie *in vivo* et l'algorithme d'analyse développés par Diaconu (2009) peuvent être utilisés pour donner des mesures précises de la CO_{TNO} , l'hypothèse suivante a été développée pour la présente étude :

Chez des sujets jeunes et en santé, la mesure *in vivo* de la CO_{TNO} devrait permettre d'étudier le mécanisme d'autorégulation de l'apport sanguin oculaire en évaluant l'effet

d'une variation de la PPO induite par un exercice physique dynamique sur la CO_{TNO} . Dans un tel cas, ce mécanisme devrait intervenir et maintenir la CO_{TNO} constante.

4. Objectifs de l'étude

Le but de la présente étude était d'évaluer, à l'aide d'une nouvelle méthode de spectrophotométrie non-invasive, les effets d'une variation de la PPO induite par un exercice physique dynamique sur la CO_{TNO} de sujets jeunes et en santé.

Il y a un intérêt réel pour le développement d'une telle méthode puisque, comme l'indique Harris (2008), la mesure directe de l'oxygénation du tissu rétinien révélerait l'impact réel d'une ischémie sur la santé et sur la fonction de la cellule ganglionnaire rétinienne.

De plus, une meilleure compréhension du mécanisme d'autorégulation de l'apport sanguin oculaire et de ses limites pourrait mener à un dépistage précoce de son mauvais fonctionnement. Selon plusieurs auteurs, des désordres de régulation de l'apport sanguin pourraient être impliqués dans la pathogénèse de maladies oculaires comme la rétinopathie diabétique (Rassam *et al.*, 1995) et plusieurs types de glaucome (Hayreh *et al.*, 1970; Emre *et al.*, 2004; Grieshaber et Flammer, 2005; Harris *et al.*, 1999).

5. Changes in Blood Oxygenation in the Optic Nerve Head Capillaries Following Dynamic Exercise in Human

Patrick Sauvageau¹, Valentina Vucea² and Vasile Diaconu^{1,2*}

School of Optometry¹, Université de Montréal, CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal Québec H3C 3J7; 3744 rue Jean-Brillant, Montréal, Québec H3T 1P1, Canada

Biomedical Engineering², Université de Montréal, CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal Québec H3C 3J7; 3744 rue Jean-Brillant, Montréal, Québec H3T 1P1, Canada

Supported by CRSNG grant to Vasile Diaconu

Cet article est en préparation et sera soumis pour publication dans un court délai.

INTRODUCTION

It is generally accepted that blood supply to the human eye can be regulated, following local changes related to functional activity and metabolic demand, by a physiological process called autoregulation. The role of this mechanism would be to maintain a relatively constant ocular blood flow (OBF) despite changes that may occur in ocular perfusion pressure (OPP). This blood flow regulation would be achieved by continuous adjustments to the vascular tone of the blood vessels (Hayreh, 2001; Pournaras *et al.*, 2008). It was shown that blood flow regulation could occur at the ophthalmic artery level (Michelson *et al.*, 1994), at the retinal circulation level (Harris *et al.*, 1996) and at the optic nerve head level (Movaffaghy *et al.*, 1998; Pillunat *et al.*, 1985; Riva *et al.*, 1997). However, there is a limit to which the blood vessels can contract or dilate. As a consequence, the OBF regulation mechanism cannot regulate the OBF under all conditions (Hayreh, 2001). Many studies tried to determine the limits of the OBF regulation mechanism in healthy subjects by evaluating the effect of OPP variations on the OBF. In these experiments, the OPP was modified — either by increasing the intraocular pressure (IOP) using a suction cup (Riva *et al.*, 1997; Grunwald *et al.*, 1982; Riva *et al.*, 1981; Findl *et al.*, 1997) or by isometric (Dumskyj *et al.*, 1996; Movaffaghy *et al.*, 1998; Robinson *et al.*, 1986) or dynamic (Harris *et al.*, 1996; Okuno *et al.*, 2006; Michelson *et al.*, 1994; Kozobolis *et al.*, 2008; Németh *et al.*, 2002; Iester *et al.*, 2007) exercises. The OBF was then measured using laser Doppler flowmetry (Riva *et al.*, 1997; Movaffaghy *et al.*, 1998), scanning laser Doppler flowmetry (Okuno *et al.*, 2006; Iester *et al.*, 2007), color Doppler imaging (Kozobolis *et al.*, 2008; Németh *et al.*, 2002) or video fluorescein angiography (Harris *et al.*, 1996). The

contradictory conclusions of these studies suggest that the technologies used to evaluate the blood flow in the structures of the retina are not reliable for the measurement of the normal biological variability of blood flow in retinal vessels (Flammer *et al.*, 2002). Thus, many important physiological aspects of ocular circulation remain to be clarified (Pournaras *et al.*, 2008).

The recent developments in non-invasive techniques investigating ocular blood parameters propose instruments capable of performing real-time, continuous measurements of blood oxygenation in the optic nerve head capillary structures (BO_{ONH}) under moderate and constant retinal lighting conditions with 2% accuracy (Diaconu, 2009). The goal of the present study was to investigate the effect of dynamic exercise on the BO_{ONH} using novel models and methods. A dynamic physical effort leads to a decrease in IOP (Harris *et al.*, 1992; Lempert *et al.*, 1967; Marcus *et al.*, 1970) and activates the sympathetic nervous system, which in turn increases the contractility, the heart rate and the blood pressure (BP) (Marieb, 2005). It is for this reason that many studies focusing on the autoregulation of the ocular blood flow in humans have used dynamic physical exercise as a modulator of the OPP (Michelson *et al.*, 1994; Robinson *et al.*, 1986; Németh *et al.*, 2002; Price *et al.*, 2003; Forcier *et al.*, 1997; Okuno *et al.*, 2006; Harris *et al.*, 1996; Kozobolis *et al.*, 2008). For the sake of comparison, this approach was also selected for the present study.

METHODS

Subjects

Six non-smoking healthy men (mean age: 22; range: 20-25 years) participated in the study. Subjects were university students familiar with the procedures. They presented no systemic disease and took no medication. For all subjects, ophthalmic examination — including slit lamp biomicroscopy, measurement of visual acuity, objective refraction, Goldmann tonometry and funduscopy examination — produced normal findings. Only subjects with excellent target fixation were accepted into the study. Exclusion criteria were ocular disease, acute infection, known diabetes mellitus, epilepsy, history of systemic hypertension or abnormal clinical optic disc appearance. The baseline mean arterial blood pressure (BPM) among the subjects ranged from 67,67 to 100,00 mm Hg while the baseline IOP ranged from 13 to 20 mm Hg. All subjects were asked to refrain from consuming alcohol and caffeine for at least 6 hours before the experiment. Subjects were required to fast for at least 2 hours before the experiment and exercise was prohibited for 1 hour before the experiment. The protocol of the study followed the guidelines of the Declaration of Helsinki. Signed informed consent was obtained from all subjects after the nature of the study was explained and all participants were informed of their right to withdraw from experimentation at any point in the study.

Dynamic exercise

In order to standardize the physical effort yielded, a computerized stationary bicycle was used (860Rb, DiamondBack, Kent, USA). An integrated microprocessor allowed automatic adjustment of the effort intensity via handle sensors. This ensured that a high level of exercise corresponding to a pulse rate (PR) of 160 beats per minute was always reached after a session of 15 minutes of exercise. When the targeted PR was reached, the cycling pace and/or the resistance of the pedals were adjusted to maintain a constant PR. Similar studies have been conducted to evaluate the effect of dynamic exercise on OBF (Michelson *et al.*, 1994; Robinson *et al.*, 1986; Németh *et al.*, 2002; Price *et al.*, 2003; Forcier *et al.*, 1997; Okuno *et al.*, 2006; Harris *et al.*, 1996; Kozobolis *et al.*, 2008).

Blood oxygenation measurement

BO_{ONH} was derived from the full spectrum of reflectometry measurements using a multichannel spectroscopy technique showed in Figure 1 (800 wavelengths from 420 nm to 660 nm for each 500 ms integration time). More details on the apparatus and the measurement technique were previously published (Diaconu, 2009; Vucea *et al.*, in press).

Derived hemoglobin oxygenation model

The mathematical equation that derives blood oxygenation from the spectral reflectometry measurements was expressed as a linear combination of several terms of $S_i(l)$,

representing the spectral signature functions of hemoglobin and oxyhemoglobin as well as several terms representing ocular media, melanin and scattering (Diaconu, 2009).

A multi-Gaussian function was also included in the model to compensate for the non-compatibility of the model and the experimental data in the red spectral area (Vucea *et al.*, in press).

$$\text{Eq. (1)} \quad A(\lambda) = m_1 * S_{Hb}(\lambda) + m_2 * S_{OHb}(\lambda) + m_3 * \lambda^{-n} + m_4 * k - \sum_{i=1} m_{4+i} * N(\mu_i, \sigma^2)$$

The role of the multi-Gaussian function was to subtract the noise from the overall reflectometry function and to protect the model from any given interfering signal. The intensity of light scattered in the red wavelengths zone (Red Scattering Factor) derived by the multi-Gaussian function from Eq. (1) represents a parameter related to the total blood volume in the observed optical patch correlated with the change in capillaries blood content or diameter. Increasing the Red Scattering Factor (RSF) value predicts a vasodilatation (Vucea *et al.*, in press). This model expresses the reflectometry function from the eye structures as an absorption factor:

$$\text{Eq. (2)} \quad A(l) \% = \text{Incident light (l)}/\text{Reflected light (l)}.$$

An algorithm for the system of equations (1) was established in C⁺⁺. The **m**, **n** and **k** parameters were thus calculated from the system of equations (1) by using 600 values of the absorption function (A(l)) corresponding to the spectral zone from 530 nm to 640 nm. The results obtained from the parameters **m**, **n** and **k** were used to verify the A(l) values corresponding to the subsequent spectral zone from 420 nm to 530 nm. The oxyhemoglobin

percentages were derived using the m_1 and m_2 parameters in the following respective formulas:

$$\text{Eq. (3)} \quad \text{OHb\%} = m_2 / (m_1 + m_2)$$

Experimental Protocol

Once the subject arrived on our premises, his right eye (OD) was dilated using tropicamide 1% and phenylephrine 2.5%. A 20 minute acclimation period followed, where the subject was to remain seated in a silent room at 25 degrees Celsius. The baseline measurements could then be obtained. These consisted in taking the BP using an automated sphygmomanometer (Escort M10, Invivo, Orlando, USA), the IOP of the OD using a Goldmann applanation tonometer (Haag Streit, Koeniz, Switzerland), as well as measuring the BO_{ONH} of the OD for a period of 120 seconds. Then, an exercise session of 15 minutes where the PR of the subject was progressively increased to reach a target value of 160 beats per minute followed. A second measurement of the BO_{ONH} of the OD for a period of 120 seconds followed. After each BO_{ONH} measurement session, the BP as well as the IOP were measured. Finally, 15 minutes after the end of the exercise session, the BP and the IOP were measured again. The PR and the blood oxygen saturation (SpO_2) were monitored throughout the experiment using a finger pulse oximeter (Escort M10, Invivo, Orlando, USA). The instruments were positioned and adjusted in such a way to allow quick data collection.

The BPm was calculated using the systolic pressure (BPs) and the diastolic pressure (BPd) in the following equation:

$$\text{Eq. (4)} \quad \text{BPm} = \text{BPd} + 1/3(\text{BPs} - \text{BPd})$$

The OPP was calculated using the BPm and the IOP in the following equation:

$$\text{Eq. (5)} \quad \text{OPP} = 2/3 \text{ BPm} - \text{IOP}$$

The BO_{ONH} was measured in a specific temporal inferior zone of the neuroretinal rim. Previous results on blood flow had already been collected in this specific area (Riva *et al.*, 2001; Fuchsjäger-Mayrl *et al.*, 2004; Riva *et al.*, 2004; Findl *et al.*, 1997). Special care was taken in order to target the same area of the neuroretinal rim for each subject and no measurements were obtained on large blood vessels. In order to minimize interpretation errors, the signals of winks and ocular movements were eliminated. The above procedure was respected for each subject.

Results and Discussion

In the present study, a 15-minute high intensity exercise leading to a PR of 160 beats per minute was performed to observe its impact on the regulation of blood flow and oxygenation in the capillaries of the OD of young male subjects.

After the physical exercise sessions:

- i) a significant decrease in IOP, ranging from 8% to 53%, was observed for all subjects;
- ii) an increase in the BPm (up to 36%) was observed for all but one subjects;
- iii) the BO_{ONH} decreased by as much as 25%;

- iv) the capillary blood volume (BVol) increased for subjects who showed weak variation in BO_{ONH} and decreased for subjects that showed a decrease in capillaries blood oxygenation.

Following the exercise session, all but one subjects showed a typical increase in their BPs and BPd. For the other subject (S5), the exercise session caused a slight increase in the BPs but a decrease in the BPd. For all subjects, the exercise session caused a reduction of the IOP ($32,0\% \pm 16,2\%$). For all subjects, the SpO_2 remained constant throughout the experiment.

The figure 2 shows an example of the online recording of BO_{ONH} for one subject (S1) before and after exercise. The RSF derivatives values, proposed as an estimator for the capillary blood volume (Bvol) or diameter (Vucea *et al.*, 2011), are also shown. The RSF parameter represent the non-compatibility between the spectral reflectometry function of the retinal vessels and a typical absorption function of the hemoglobin and oxyhemoglobin in the red spectral zone. A previous study by Schweitzer *et al.* (1999) also suggested that in the red spectral zone, the diffusion of light on the erythrocytes depends on the blood volume exposed in the light's path. In fact, Vucea *et al.* (2011) have proposed a method to quantify the blood volume in the light's path by introducing a multi-gaussian function in the linear model proposed by Diaconu (2009) to derive the blood oxygenation. The results show that following dynamic exercise, both the BO_{ONH} and the Bvol decreased. These effects varied depending on the subject.

Figure 3 shows the average values of BO_{ONH} and Bvol for each subject, measured before and after exercise. It can be seen that, following exercise, the BO_{ONH} tends to decrease, except for subject S6.

For three subjects (S1, S4 and S5), the exercise session caused an important reduction of the BO_{ONH} ; 25%, 10,3% and respectively 9,9%. In the present study, the SpO_2 remained constant throughout the experiment for all subjects. This suggests that the changes in BO_{ONH} following exercise must be a consequence of the changes in the blood flow in the capillaries. The results of RSF presented in Figure 3 reveal that there is no obvious relationship between BO_{ONH} and Bvol. In four subjects (S2, S3, S4, S6), the Bvol increased or remained unchanged following exercise. For two of these (S2 and S3), the exercise session caused an increase in the Bvol and a significant reduction in BO_{ONH} . In two subjects (S1, S5), both BO_{ONH} and Bvol decreased following exercise.

Table 1 presents, for each subject, the mean values of BO_{ONH} , RSF – proposed as an estimator for Bvol – , BPM, IOP, OPP and SpO_2 measured before and after the exercise session. Table 1 also presents the standard deviation, expressed in percentage, for all the parameters reported. From the results presented in Table 1 it can be noted that exercise did affect the BO_{ONH} . This suggests that exercise induces changes in the blood flow of the optic nerve head capillaries. The results from Table 1 also indicate that the decrease in IOP after exercise ranged from 8 % to 53%. Several previous studies have confirmed that the IOP decreases after a dynamic exercise in human (Harris *et al.*, 1992; Lempert *et al.*, 1967; Marcus *et al.*, 1970). However, the underlying mechanism of reduction in IOP following dynamic exercise has not been fully defined (Risner *et al.*, 2009). Yet, it is known that

physical fitness is associated with lower baseline IOP and a lower variation in IOP in response to exercise (Risner *et al.* 2009). Furthermore, following a dynamic exercise, both IOP and BO_{ONH} were specifically affected in each subject. Finally, after reaching a PR of 160 beats per minute, the BPm of five subjects showed an increase from 12% to 36%. The other subject (S5) experienced a decrease of BPm following the exercise session.

Figure 4 shows the correlations between the variations in IOP and BO_{ONH} for each subject. A quadratic function was used to model these correlations.

The correlations shown in Figure 4 suggest that following an intense dynamic exercise the subjects who demonstrated an important reduction in IOP also experienced an important reduction in BO_{ONH} (i.e. blood flow). Several studies showed that the IOP variations might affect the retinal blood flow. Using animal models, it has been clearly demonstrated that increases in IOP trigger a reduction in blood oxygenation in the optic nerve structures (Stefansson *et al.*, 2005). From the correlations found in Figure 4, one could wonder if there is a direct relationship between the changes in IOP and blood flow due to exercise or if they are affected independently caused by specific systemic physiological changes. Many authors observed a sympathetic mechanism that reduces the blood flow in the uvea of some animals (cat, rabbit and monkey) following an increase in systemic arterial perfusion pressure. It was suggested that the physiological aim of this mechanism was to control the OBF in order to prevent eye over-perfusion and breakdown of the blood-aqueous barrier when arterial BP increases (Michelson *et al.*, 1994; Alm, 1977; Bill and Linder, 1976). Studies in humans reported an elevation of vascular resistance of the ophthalmic artery in reaction to increases in systemic arterial BP following physical exercise (Michelson *et al.*,

1994; Robinson *et al.*, 1986). The increase in ocular vascular resistance in reaction to an increase in systemic arterial BP seems to be a reasonable explanation for the results observed here, which indicate that the OBF is reduced when the systemic arterial BP increases. However, previous investigations did not associate the reduction in IOP that followed physical exercises to changes in the outflow facility or the episcleral venous pressure. Previous studies proposed that the decrease in IOP may rather be related to an increase in lactate concentration in the blood, in plasma osmolarity and to a decrease in blood pH (Marcus *et al.*, 1970).

Figure 5 shows correlations between variations in IOP and BPm, as well as correlations between variations in IOP and OPP in different subjects. The correlations shown in Figures 4 and 5 suggest that after an intense dynamic exercise, the subjects who exhibited a large increase in BPm and OPP (S3, S6), had maintained their levels of IOP and of BO_{ONH} (i.e. blood flow). On the other hand, the subjects who demonstrated small increases in BPm at a high PR (S1, S2, S4), exhibited large IOP reductions – which correlated with more important decreases in BO_{ONH} (i.e. blood flow). These results suggest that the variations in BO_{ONH} are indirectly correlated with variations in OPP and BPm. Thus, the increase in vascular resistance would not be triggered by increases in OPP or BPm. It seems that the sympathetic nerve mechanism, which manages vascular resistance, may be activated by the increase in PR rather than by BP or OPP. This suggestion is supported by the fact that, in our experimental protocol, the PR was constant for all the subjects and thus the sympathetic nerve mechanism (i.e. vascular resistance) would be uniformly activated for all the subjects. Under such conditions, subjects who developed a

BPM significantly high enough would be able to maintain a high OPP, compensating for the increase in the ocular vascular resistance and maintaining a consistent ocular blood supply (Michelson *et al.*, 1994). The increases in BPs and in PR represent a natural consequence to an intense dynamic exercise. However, it is well known that, following an intense physical exercise, subjects present a typical BPs response in relation with the increase in PR. After exercise, the BPd is supposed to remain unchanged; a consequence of metabolic vasodilatation in peripheral vessels (Franz, 1985). A rise in BPd has been reported in normotensive subjects, suggesting an increased peripheral vascular resistance and a reduced capacity for exercise-induced metabolic vasodilatation (Wilson *et al.*, 1990). Studies have reported that during intense physical exercise an endurance-trained person is more likely to exhibit significantly greater increase in BPs than an untrained person. It has been proposed that to determine abnormal ranges of BP response during exercise – in relation to PR increase –, the gender, age, and physical fitness must be taken into consideration (Tanaka *et al.*, 1996; Steinhaus *et al.*, 1988).

The results of the variation of BO_{ONH} according to the dynamic exercise presented here could then represent the capacity of each subject to manage an intense dynamic exercise. To verify this hypothesis, a second set of experiments was arranged one month later with four subjects taking part in the first experimental session (S3, S4, S5, S6). Two subjects (S4, S5) who showed an important reduction in BO_{ONH} in the first experimental testing session and two subjects (S3, S6) who showed the capacity to maintain capillaries blood oxygenation in small variations were asked back. The results obtained from the second experimental session show the same trends to those obtained for each subject during

the first experimental session (data not shown). These results confirmed that after intense dynamic exercise the regulation of OBF was representative for each subject and could depend on each subject's capacity to maintain a raised systemic BP at an elevated PR.

In accord with previous studies on this topic (Marcus *et al.*, 1970), the decrease in IOP may be related to changes in metabolic composition of blood induced by physical effort (increase in lactate concentration in blood, in plasma osmolarity or decrease in blood pH). The variation in systemic BP during exercise may be related to similar metabolic changes that induce vasodilatation in systemic peripheral vessels (Franz, 1985). Therefore, it can be suggested that the metabolic changes in blood induced by physical effort – which are typical for each subject – can represent the connection between IOP and variations in systemic BP. This in turn could explain the correlations shown in Figure 5. On the other hand, the variations in systemic BP affect the subject OPP and implicitly the OBF and BO_{ONH} . Consequently the metabolic changes in blood induced by physical effort could represent the common cause for the variations in IOP and in the BO_{ONH} – which could explain the correlations shown in Figure 4.

Figure 6 shows the correlations between the variations in IOP and the diameter of the optic nerve head capillaries for each subject. From Figure 6 it is noted that, following intense physical exercise, there could be an increase in the capillaries diameter for the subjects who exhibit relatively small decreases in IOP and BO_{ONH} and a significant increase of BP. For these subjects it seems probable that a local regulation mechanism acts to increase the Bvol and to prevent the BO_{ONH} from decreasing. However, this mechanism, which acts to increase the Bvol after an intense physical effort, is directly correlated with

the BP and is inversely correlated with the IOP. Therefore, the existence of a mechanism which acts to increase the Bvol and to prevent the decrease in BO_{ONH} remains, for the moment, only a hypothesis.

A previous study (Stefansson *et al.*, 2005) suggests that optic nerve blood oxygenation is regulated by IOP, systemic BP, retinal blood vessel resistance and local oxygen consumption. Based on the results of the present study, it could be added that the variation in capillary diameter is linked to local factors, like the BP inside the capillary. This pressure relies on venous BP being in equilibrium with IOP and on the retinal arterial BP. It is suggested that, for subjects who maintain relatively high levels of IOP and show a significant increase in the BPm following physical effort, the widening of these structures is the result of an over-pressure inside the capillary vessel. On the other hand, the data presented in Figure 6 suggest that there could be a decrease in the capillaries diameter for the subjects who exhibit a large IOP decrease and a small BPm increase after exercise. For these subjects who undergo the most important blood oxygenation reductions, it seems that an undefined mechanism acts in order to reduce the Bvol. It is thought that the reduction in Bvol could be the result of a decrease in BP inside of the capillary. Therefore, after an intense dynamic exercise, there may be a decrease in the Bvol for subjects who show a major IOP reduction and modest increase in the retinal arterial BP. Results from subjects S1 and S5 show that a notable reduction in IOP following an intense dynamic exercise could have a major effect not only on the reduction of blood flow (major reduction of the capillaries blood oxygenation) but also on the blood volume contained in the vascular structures of the retina. Previous studies did not associate the reduction in IOP that

followed physical exercise to the change in the outflow facility, but the results on subjects S1 and S5 indicate that the reduction in IOP at a high PR could lead to emptying the eye from the blood as long as the BP is not sufficiently high to compensate for the vascular resistance increase.

The variability of these parameters is specific to each subject and could reflect the capacity of each subject to manage intense physical activity. The correlations shown in Figures 4, 5 and 6 between the variations in IOP, BO_{ONH} , BPm and BVol are in agreement with some previous studies (Stefansson *et al.*, 2005) suggesting that the optic nerve blood oxygenation is regulated by the IOP, the BPm and the retinal blood vessels resistance.

Increases in IOP trigger a reduction in blood oxygenation in the optic nerve structures (Stefansson *et al.*, 2005) and improve blood flow. The present study shows how a decrease in IOP might not be always favorable for the eye metabolism. The eye should maintain a certain tonicity. Therefore, the IOP should remain at a value reasonably elevated to prevent the loss of blood volume in the vascular structures of the eye and to maintain a sufficient BP inside the vessel. The retinal blood vessel resistance plays an important role for maintaining ocular tonicity. An important suggestion from the present study is that the sympathetic mechanism which regulates vascular resistance may be activated by the increase in the PR rather than by the BPm or OPP.

TABLEAUX

	BL	AE		BL	AE		BL	AE		BL	AE		BL	AE	
	BO _{ONH}	BO _{ONH}	var%	RSF	RSF	var%	BPm	BPm	var%	IOP	IOP	var%	OPP	OPP	var%
S1	70	63	-10	0,37	0,28	-24	93	107	14	18	10	-44	50	64	28
S2	71	69	-3	0,04	0,05	25	86	97	12	16	12	-25	47	56	20
S3	67	66	-2	0,30	0,32	7	85	105	23	21	16	-24	43	60	38
S4	73	65	-10	0,23	0,23	0	100	119	19	13	8	-38	58	74	27
S5	59	44	-25	0,07	0,06	-18	81	71	-12	19	9	-53	41	42	1
S6	64	66	4	0,13	0,18	38	76	103	36	13	12	-8	42	60	45

Table 1

The mean values of BO_{ONH}, RSF – proposed as an estimator for Bvol –, BPm, IOP, OPP and SpO₂ measured before and after exercise for each subject.

FIGURES

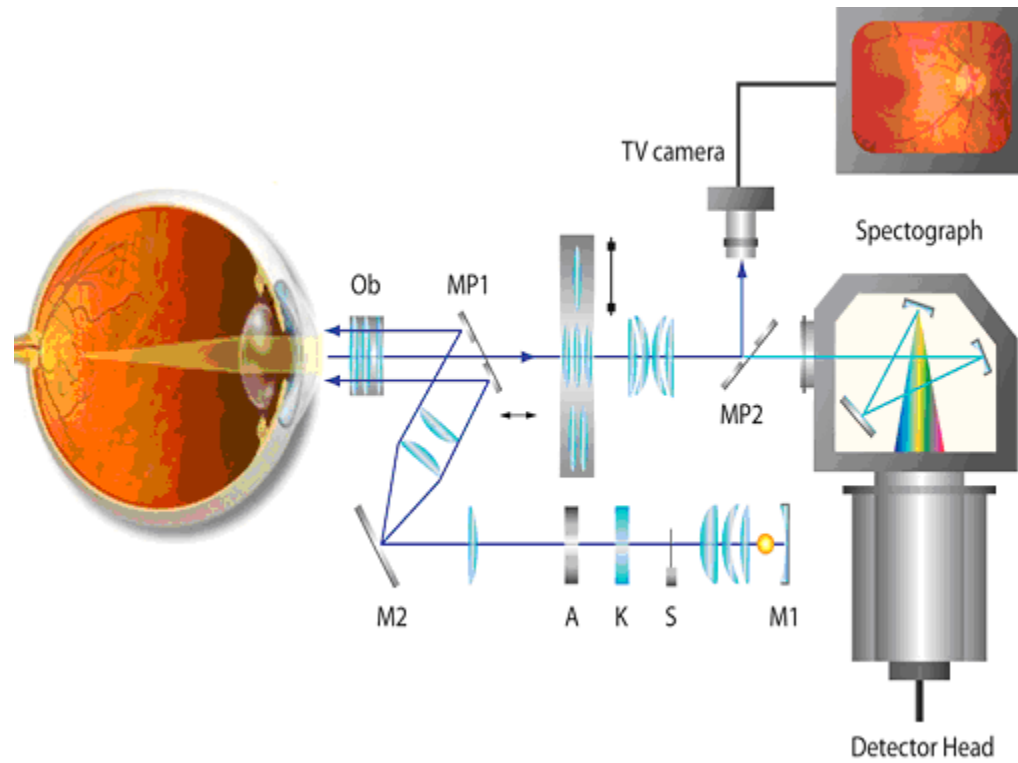


Figure 1

The multichannel reflectometry technique which propose a coupling between a multichannel spectroscopy system and an eye fundus camera

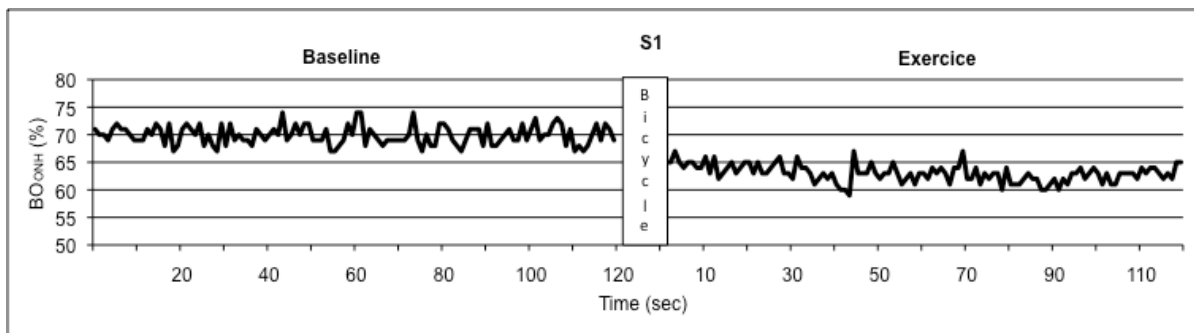


Figure 2a

Example of the online recording of BO_{ONH} during two experimental sessions – before and after exercise.

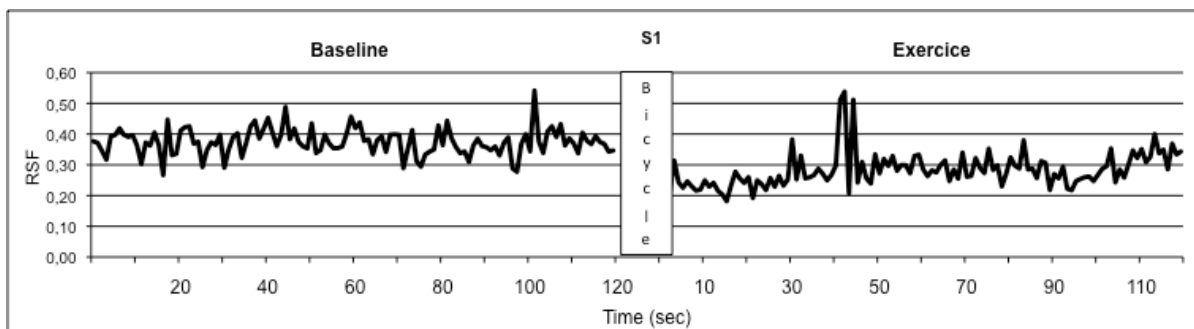


Figure 2b

Example of the online recording of RSF values proposed as an estimator for $BVol$ during two experimental sessions – before and after exercise.

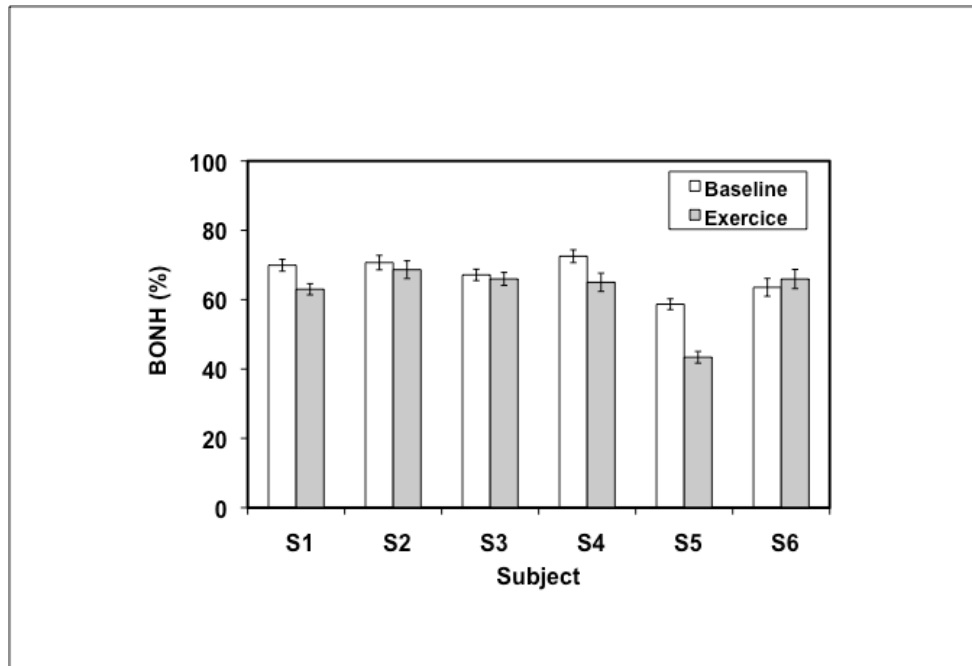


Figure 3a

The average values of BO_{ONH} for each subject, measured before (white) and after exercise (gray).

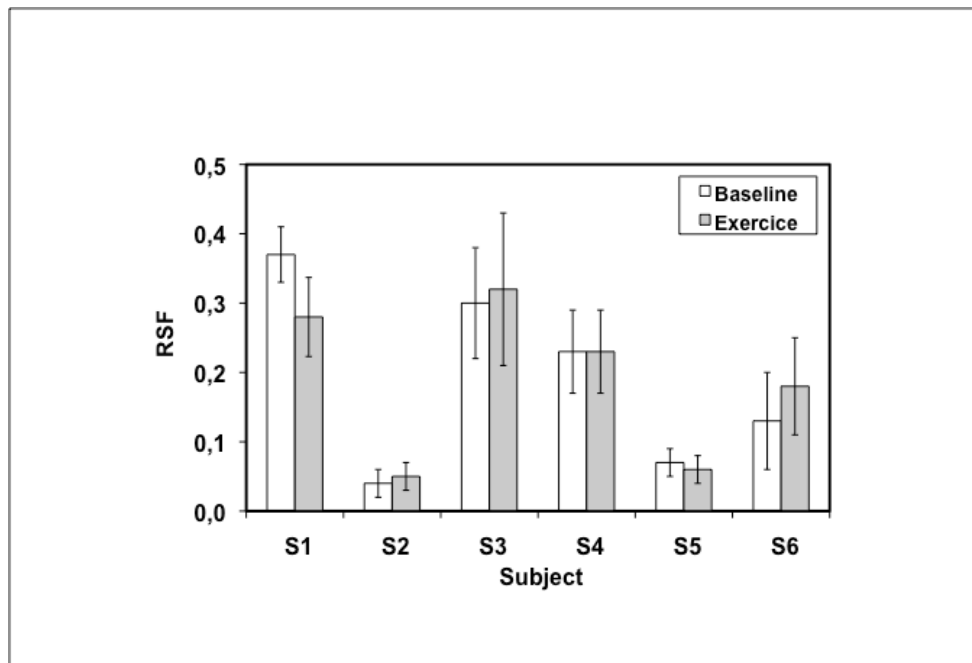


Figure 3b

The average values of RSF for each subject, measured before (white) and after exercise (gray).

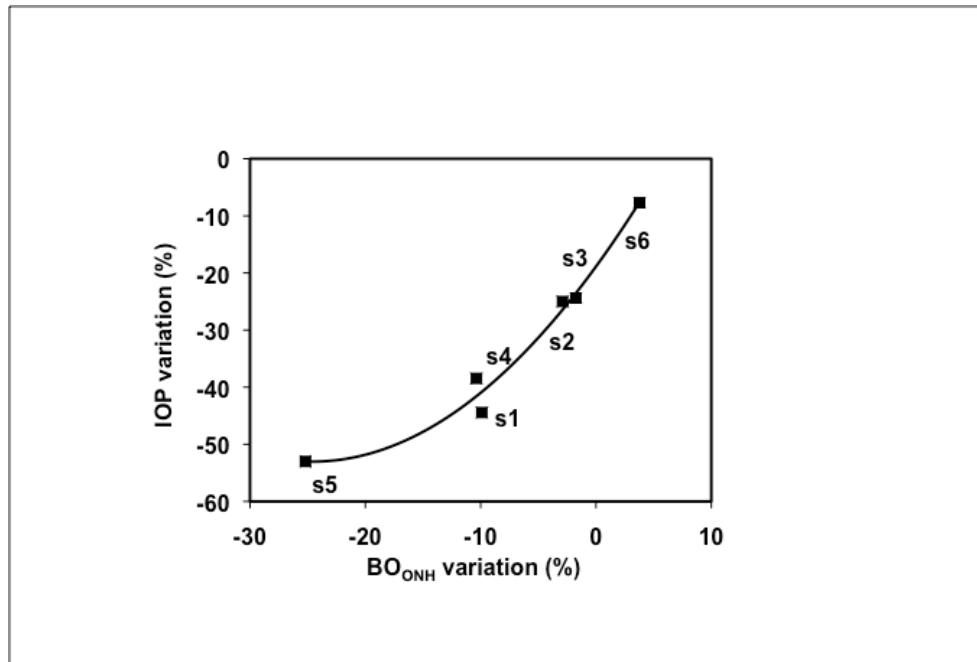


Figure 4

The correlations between the variations in IOP and BO_{ONH} for each subject.

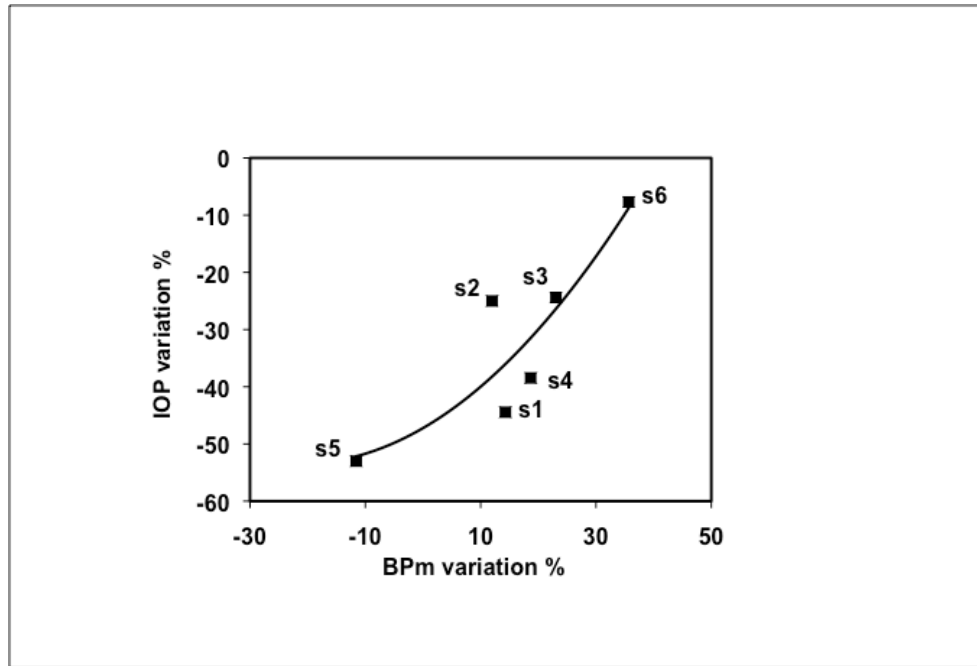


Figure 5a
The correlations between variations in IOP and BPM for each subject.

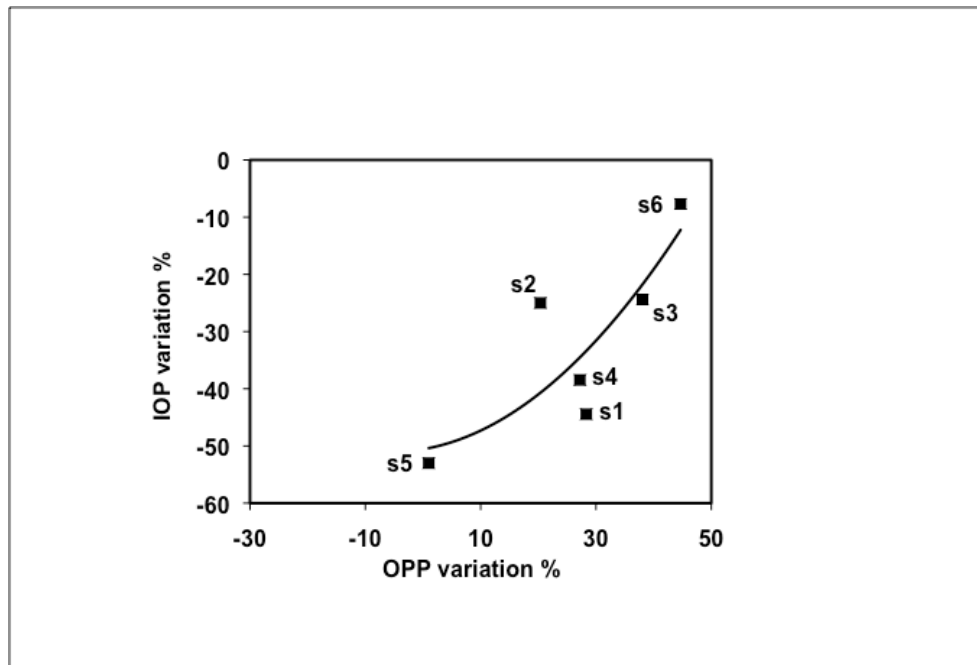


Figure 5b
The correlations between variations in IOP and OPP for each subject.

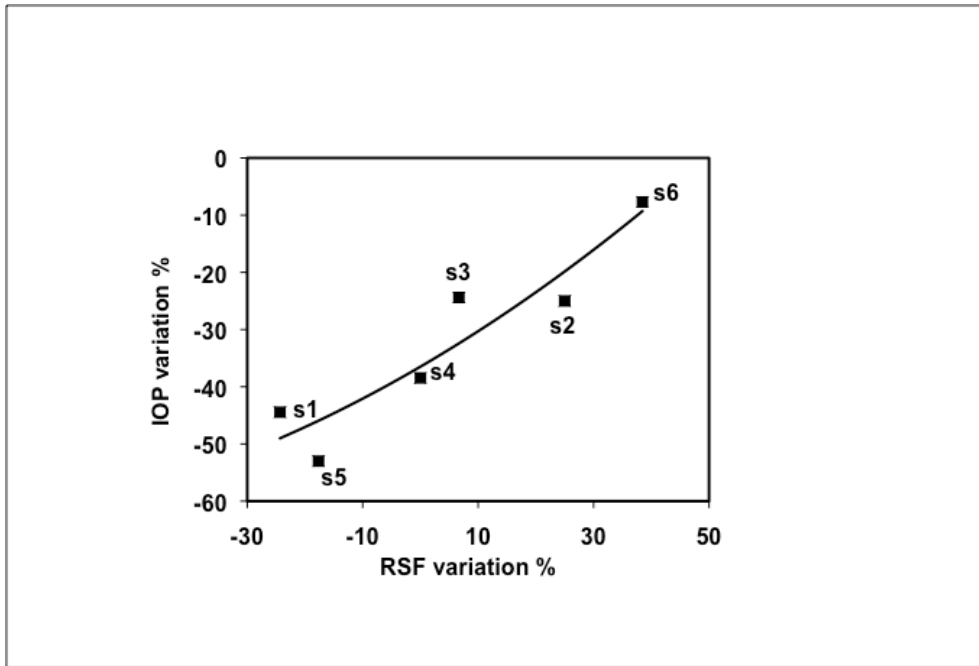


Figure 6
The correlations between the variations in IOP and RSF for each subject.

6. Conclusion

La méthode de spectrophotométrie non-invasive *in vivo* et l'algorithme d'analyse développés par Diaconu (Diaconu 2009 ; Vucea *et al.*, 2011) peuvent être utilisés pour donner des mesures précises de la CO_{TNO} . De plus, la mesure *in vivo* de la CO_{TNO} permet d'évaluer le mécanisme d'autorégulation de l'apport sanguin oculaire. Chez des sujets jeunes et en santé, ce mécanisme intervient en réponse à une activité physique dynamique. Par contre, la présence de changements notables et répétables de l'oxygénation chez certains sujets en réponse à une activité physique dynamique fait foi de la variabilité du mécanisme d'autorégulation de l'apport sanguin oculaire.

Les résultats de la présente étude laissent croire que cette méthode pourrait représenter un potentiel intéressant dans l'étude et éventuellement le diagnostic de pathologies oculaires ayant pour cause une mauvaise régulation de l'oxygène.

7. Bibliographie

Alm A. The effect of sympathetic stimulation on blood flow through the uvea, retina and optic nerve in monkeys (*Macaca irus*). *Exp Eye Res.* 1977; 25:19-24.

Ashkenazi I, Melamed S, Blumenthal M. The effect of continuous strenuous exercise on intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1992;33:2874-2877.

Bill A, Linder J. Sympathetic control of cerebral blood flow in acute arterial hypertension. *Acta Physiol Scand.* 1976;96:114-21.

Bonomi L, Marchini G, Marraffa M, Morbio R. Vascular risk factors for primary open-angle glaucoma: the Egna-Neumarkt Study. *Ophthalmology.* 2000;107:1287-1293.

Breil P, Krummenauer F, Schmitz S, Pfeiffer N. The relationship between retrobulbar blood flow velocity and glaucoma damage. *Ophthalmologe.* 2002;99:613-616.

Brys M, Brown CM, Marthol H, Franta R, Hilz MJ. Dynamic cerebral autoregulation remains stable during physical challenge in healthy persons. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H1048-1054.

Butt Z, O'Brien C. Reproducibility of Pulsatile Ocular Blood Flow Measurements. *J Glaucoma.* 1995;4:214-218.

Carey BJ, Eames PJ, Blake MJ, Panerai RB, Potter JF. Dynamic cerebral autoregulation is unaffected by aging. *Stroke.* 2000;31:2895-2900.

Chung HS, Harris A, Kagemann L, Martin B. Peripapillary retinal blood flow in normal tension glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 1999;83:466-9.

Delori FC. Non invasive technique for oxymetry of blood in retinal vessels, *Appl. Opt.* 1988;27:1113-1125.

Diaconu V. Multichannel spectroreflectometry: a noninvasive method for assessment of on-line hemoglobin derivatives. *Appl Opt.* 2009;48:52-61.

Drance SM. Glaucoma: A look beyond intraocular pressure. *Am J Ophthalmol.* 1997;123:817-819.

Dumskyj MJ, Eriksen JE, Doré CJ, Kohner EM. Autoregulation in the human retinal circulation: assessment using isometric exercise, laser Doppler velocimetry, and computer-assisted image analysis. *Microvascular Research.* 1996;51:378-392.

Emre M, Orgul S, Gugleta K, Flammer J. Ocular blood flow alteration in glaucoma is related to systemic vascular dysregulation. *Br J Ophthalmol.* 2004;88:662-666.

Ernest JT. In vivo measurement of optic-disk oxygen tension. *Invest Ophthalmol.* 1973;12:927-931.

Ernest JT. Autoregulation of optic-disk oxygen tension. *Invest Ophthalmol.* 1974;13:101-106.

- Ernest JT. Optic disk oxygen tension. *Exp Eye Res.* 1977;24:271-278.
- Findl O, Strenn K, Wolzt M, *et al.* Effects of changes in intraocular pressure on human ocular haemodynamics. *Curr Eye Res.* 1997;16:1024-1029.
- Flammer, J, Haefliger, IO, Orgu.l, S, Resink, T. Vascular dysregulation: a principal risk factor for glaucomatous damage? *J. Glaucoma.* 1999;8:212–219.
- Flammer J, Mozaffarieh M. Autoregulation, a balancing act between supply and demand. *Can J Ophthalmol.* 2008;43:317-321.
- Flammer J, Orgul S, Costa VP, *et al.* The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 2002;21:359-393.
- Forcier P, Kergoat H, Lovasik JV. Macular Hemodynamic Responses to Short-term Acute Exercise in Young Healthy Adults. *Vision Res.* 1998;38:181-186.
- Friedman DS, Wolfs RC, O'Colmain BJ, *et al.* Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the United States. *Arch Ophthalmol.* 2004;122:532-538.
- Franz IW. Ergometry in the assessment of arterial hypertension. *Cardiology.* 1985;72:147-59.
- Fuchsjäger-Mayrl G, Wally B, Georgopoulos M, *et al.* Ocular blood flow and systemic blood pressure in patients with primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:834-839.
- Galassi, F., Sodi, A., Ucci, F., Harris, A., Chung, H.S., 1998. Ocular haemodynamics in glaucoma associated with high myopia. *Int. Ophthalmol.* 1998;22 :299–305.
- Galassi F, Sodi A, Ucci F, Renieri G, Pieri B, Baccini M. Ocular hemodynamics and glaucoma prognosis: a color Doppler imaging study. *Arch Ophthalmol.* 2003;121:1711–1715.
- Grieshaber MC, Flammer J. Blood flow in glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol.* 2005;16:79-83.
- Grunwald JE, Sinclair SH, Riva CE. Autoregulation of the retinal circulation in response to decrease of intraocular pressure below normal. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1982;23:124-127.
- Hafez AS, Bizzarro RL, Lesk MR. Evaluation of optic nerve head and peripapillary retinal blood flow in glaucoma patients, ocular hypertensives, and normal subjects. *Am J Ophthalmol.* 2003;136:1022-1031.
- Hafez AS, Bizzarro RL, Rivard M, Lesk MR. Changes in optic nerve head blood flow after therapeutic intraocular pressure reduction in glaucoma patients and ocular hypertensives. *Ophthalmology.* 2003;110:201-210.

- Harris A, Arend O, Bohnke K, Kroepfl E, Danis R, Martin B. Retinal blood flow during dynamic exercise. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1996;234:440-444.
- Harris A, Chung HS, Ciulla TA, Kagemann L. Progress in measurement of ocular blood flow and relevance to our understanding of glaucoma and age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res*. 1999;18:669-687.
- Harris A, Dinn RB, Kagemann L, Rechtman E. A review of methods for human retinal oximetry. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2003 ;34.
- Harris A, Kagemann L, Ehrlich R, Rospigliosi C, Moore D, Siesky B. Measuring and interpreting ocular blood flow and metabolism in glaucoma. *Can J Ophthalmol*. 2008;43:328-336.
- Harris A, Malinovsky VE, Cantor LB, Henderson PA, Martin BJ. Isocapnia blocks exercise-induced reductions in ocular tension. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992;33:2229-2232.
- Harris, A.,Sergott,RC, Spaeth, GL, Katz, JL, Shoemaker, JA, Martin, BJ. Color Doppler analysis of ocular vessel blood velocity in normal-tension glaucoma. *Am. J. Ophthalmol*. 1994 ;118:642-649.
- Hayreh SS. The 1994 Von Sallman Lecture. The optic nerve head circulation in health and disease. *Exp Eye Res*. 1995;61:259-272.
- Hayreh SS. Evaluation of optic nerve head circulation: review of the methods used. *J Glaucoma*. 1997;6:319-330.
- Hayreh SS. Blood flow in the optic nerve head and factors that may influence it. [Review]. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2001;20:595-624.
- Hayreh SS, Revie IH, Edwards J. Vasogenic origin of visual field defects and optic nerve changes in glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 1970;54:461-472.
- Ide K, Secher NH. Cerebral blood flow and metabolism during exercise. *Prog Neurobiol*. 2000;61:397-414.
- Iester M, Torre PG, Bricola G, Bagnis A, Calabria G. Retinal blood flow autoregulation after dynamic exercise in healthy young subjects. *Ophthalmologica*. 2007;221:180-185.
- Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, *et al*. The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 2002;120:701-713.
- Kerrigan-Baumrind LA, Quigley HA, Pease ME, Kerrigan DF, Mitchell RS. Number of ganglion cells in glaucoma eyes compared with threshold visual field tests in the same persons. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:741-748.

- Kielar RA, Teraslinna P, Rowe DG, Jackson J. Standardized aerobic and anaerobic exercise: differential effects on intraocular tension, blood pH, and lactate. *Invest Ophthalmol.* 1975;14:782-785.
- Klein BE, Klein R, Sponsel WE, *et al.* Prevalence of glaucoma. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology.* 1992;99:1499-1504.
- Kolodjaschna J, Berisha F, Lung S, Schima H, Polska E, Schmetterer L. Comparison of the autoregulatory mechanisms between middle cerebral artery and ophthalmic artery after thigh cuff deflation in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:636-640.
- Kozobolis VP, Detorakis ET, Konstas AG, Acharopoulos AK, Diamandides ED. Retrobulbar blood flow and ophthalmic perfusion in maximum dynamic exercise. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2008;36:123-129.
- Krejci RC, Gordon RB, Moran CT, Sargent RG, Magun JC. Changes in intraocular pressure during acute exercise. *Am J Optom Physiol Opt.* 1981;58:144-148.
- Lassen NA. Cerebral blood flow and oxygen consumption in man. *Physiol Rev.* 1959;39:183-238.
- Leibowitz, HM, Krueger, DE, Maunder, LR, Milton, RC, Kini, MM, Kahn, HA, Nickerson, RJ, Pool J, Colton, TL, Ganley, JP, Loewenstein, JI, Dawber, TR. The Framingham Eye Study monograph: An ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973–1975. *Surv. Ophthalmol.* 1980;24:335-610.
- Lempert P, Cooper KH, Culver JF, Tredici TJ. The effect of exercise on intraocular pressure. *Am J Ophthalmol.* 1967;63:1673-6.
- Lesk MC. Open-angle glaucoma -- an epidemiologic overview. *Ophthalmic Epidemiol.* 2007;14:166-172.
- Lesk MC, Connell AM, Wu SY *et al.* Incidence of open-angle glaucoma: the Barbados Eye Studies. *Arch Ophthalmol.* 2001;119:89–95.
- Lesk MC, Heijl A, Hyman L *et al.* Predictors of long-term progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology.* 2007;114:1965-1972.
- Lesk MC. Ocular perfusion pressure and glaucoma: clinical trial and epidemiologic findings. *Curr Opin Ophthalmol.* 2009;20:73-78.
- Marcus DF, Krupin T, Podos SM, Becker B. The effect of exercise on intraocular pressure. II. Rabbits. *Invest Ophthalmol.* 1970;9:753-7.
- Marieb.EN. Anatomie et physiologie humaine. 3^e éd. ERPI. 2005. p.665.
- Marieb.EN. Anatomie et physiologie humaine. 3^e éd. ERPI. 2005. p. 719-721.

- Michelson G, Groh M, Gründler A. Regulation of ocular blood flow during increases of arterial blood pressure. *Br J Ophthalmol*. 1994;78:461-465.
- Mitchell P, Smith W, Attebo K, Healey PR. Prevalence of open-angle glaucoma in Australia. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 1996;103:1661-1669.
- Movaffaghy A, Chamot SR, Petrig BL, Riva CE. Blood flow in the human optic nerve head during isometric exercise. *Exp Eye Res*. 1998;67:561-568.
- Mozaffarieh M, Flammer J. Is there more to glaucoma treatment than lowering IOP? *Surv Ophthalmol*. 2007;52:S174-9.
- Németh J, Knézy K, Tapasztó B, Kovacs R, Harkani Z. Different autoregulation response to dynamic exercise in ophthalmic and central retinal arteries: a color Doppler study in healthy subjects. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2002;240:835-840.
- Offenhauser N, Thomson K, Caesar K, Lauritzen M. Activity-induced tissue oxygenation changes in rat cerebellar cortex: interplay of postsynaptic activation and blood flow. *J Physiol*. 2005;565:279-294.
- Ogoh S. Autonomic control of cerebral circulation: exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2008;40:2046-54.
- Ogoh S, Ainslie PN. Cerebral blood flow during exercise: mechanisms of regulation. *J Appl Physiol*. 2009;107:1370-1380.
- Okuno T, Sugiyama T, Kohyama M, Kojima S, Oku H, Ikeda T. Ocular blood flow changes after dynamic exercise in humans. *Eye*. 2006;20:796-800.
- Osborne NN. Mitochondria: Their role in ganglion cell death and survival in primary open angle glaucoma. *Exp Eye Res*. 2010;90:750-757.
- Perruccio AV, Badley EM, Trope GE. Self-reported glaucoma in Canada: findings from population-based surveys, 1994-2003. *Can J Ophthalmol*. 2007;42:219-226.
- Pillunat LE, Stodtmeister R, Wilmanns I. Autoregulation of ocular blood flow during changes in intraocular pressure. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1985;223:219-223.
- Polak K, Schmetterer L, Riva CE. Influence of flicker frequency on flicker-induced changes of retinal vessel diameter. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:2721-2726.
- Pournaras CJ, Riva CE. [Studies of the hemodynamics of the optic head nerve using laser Doppler flowmetry]. *J Fr Ophtalmol*. 2001;24:199-205.
- Pournaras CJ, Rungger-Brändle E, Riva CE, Hardarson SH, Stefansson E. Regulation of retinal blood flow in health and disease. [Review]. *Prog Retin Eye Res*. 2008;27:284-330.

- Price EL, Gray LS, Humphries L, Zweig C, Button NF. Effect of Exercise on Intraocular Pressure and Pulsatile Ocular Blood Flow in a Young Normal Population. *Opt Vis Sci.* 2003;80:460-466.
- Rassam SM, Patel V, Kohner EM. The effect of experimental hypertension on retinal vascular autoregulation in humans: a mechanism for the progression of diabetic retinopathy. *Exp Physiol.* 1995;80:53-68.
- Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, *et al.* Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ.* 2004;82:844-851.
- Rezaie T, Child A, Hitchings R, *et al.* Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science.* 2002;295:1077-1079.
- Risner D, Ehrlich R, Kheradiya NS, Siesky B, McCranor L, Harris A. Effects of exercise on intraocular pressure and ocular blood flow: a review. *J Glaucoma.* 2009;18:429-36.
- Riva CE, Falsini B, Logean E. Flicker-evoked responses of human optic nerve head blood flow: luminance versus chromatic modulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:756-762.
- Riva CE, Hero M, Titze P, Petrig B. Autoregulation of human optic nerve head blood flow in response to acute changes in ocular perfusion pressure. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1997;235:618-626.
- Riva CE, Logean E, Falsini B. Temporal dynamics and magnitude of the blood flow response at the optic disk in normal subjects during functional retinal flicker-stimulation. *Neurosci Lett.* 2004;356:75-78.
- Riva CE, Sinclair SH, Grunwald JE. Autoregulation of retinal circulation in response to decrease of perfusion pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1981;21:34-38.
- Robinson F, Riva CE, Grunwald JE, Petrig BL, Sinclair SH. Retinal blood flow autoregulation in response to an acute increase in blood pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1986;27:722-726.
- Riva CE, Hero M, Titze P, Petrig B. Autoregulation of human optic nerve head blood flow in response to acute changes in ocular perfusion pressure. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1997;235:618-626.
- Satilmis M, Orgul S, Doubler B, *et al.* Rate of progression of glaucoma correlates with retrobulbar circulation and intraocular pressure. *Am J Ophthalmol.* 2003;135:664-669.
- Scheinberg P, Blackburn LI, Rich M, Saslaw M. Effects of vigorous physical exercise on cerebral circulation and metabolism. *Am J Med.* 1954;16:549-54.
- Scheinberg P, Blackburn I, Saslaw M, Rich M, Baum G. Cerebral circulation and metabolism in pulmonary emphysema and fibrosis with observations on the effects of mild exercise. *J Clin Invest.* 1953;32:720-728.

Schweitzer D, Hammer M, Kraft J, Thamm E, Königsdörffer E, Strobel J. In vivo measurement of the oxygen saturation of retinal vessels in healthy volunteers, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 1999 ;46:1454-65.

Schweitzer D, Leistriz L, Hammer M, Scibor M, Bartsch U, Strobel J, Calibration-free measurement of the oxygen saturation in retinal vessels of men, *Proc. SPIE.* 1995;2393:210-218.

Schweitzer D, Thamm E, Hammer M, Kraft J. A new method for the measurement of oxygen saturation at the human ocular fundus. *Int Ophthalmol.* 2001;23:347-353.

Shibata N, Kobayashi M. The role for oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Brain Nerve.* 2008;60:157-170.

Siesky B, Harris A, Kagemann L, *et al.* Ocular blood flow and oxygen delivery to the retina in primary open-angle glaucoma patients: the addition of dorzolamide to timolol monotherapy. *Acta Ophthalmol.* 2010;88:142-149.

Société canadienne d'ophtalmologie. Guide factuel de pratique clinique de la Société canadienne d'ophtalmologie pour la gestion du glaucome chez l'adulte. *Can J Ophthalmol.* 2009;44.

Sommer A, Tielsch JM, Katz J, *et al.* Relationship between intraocular pressure and primary open angle glaucoma among white and black Americans. The Baltimore Eye Survey. *Arch Ophthalmol.* 1991;109:1090-1095.

Stefansson E, Pedersen DB, Jensen PK, *et al.* Optic nerve oxygenation. *Prog Retin Eye Res.* 2005;24:307-332.

Steinhaus LA, Dustman RE, Ruhling RO, *et al.* Cardio-respiratory fitness of young and older active and sedentary men. *Br J Sports Med.* 1988;22:163-6.

Sung VC, Koppens JM, Vernon SA, Pawson P, Rubinstein M, King AJ, Tattersall CL. Longitudinal glaucoma screening for siblings of patients with primary open angle glaucoma : The Nottingham Family Glaucoma Screening Study. *Br J Ophthalmol.* 2006;90:59-63.

Tanaka H, Bassett DR Jr, Turner MJ. Exaggerated blood pressure response to maximal exercise in endurance-trained individuals. *Am J Hypertens.* 1996;9:1099-103.

The AGIS Investigators. The advanced glaucoma intervention study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. *Am J Ophthalmol.* 2000;130:429-440.

Tielsch JM, Katz J, Sommer A *et al.* Hypertension, perfusion pressure, and primary open-angle glaucoma. A population based assessment. *Arch Ophthalmol.* 1995;113:216-221.

Vucea V, Bernard PJ, Sauvageau P, Diaconu V. Blood Oxygenation Measurements by Multi-Channel Reflectometry on the Venous and Arterial Structures of the Retina. *Appl Opt.* In press.

Wilson MF, Sung BH, Pincomb GA, Lovallo WR. Exaggerated pressure response to exercise in men at risk for systemic hypertension. *Am J Cardiol.* 1990;66:731-6.

Yin ZQ, Vaegan, Millar TJ, Beaumont P, Sarks S. Widespread choroidal insufficiency in primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma.* 1997; 6:23-32.

Zobl EG, Talmers FN, Christensen RC, Baer LJ. Effect of exercise on the cerebral circulation and metabolism. *J Appl Physiol.* 1965;20:1289-1293.

Annexe 1 - Article 2

Blood Oxygenation Measurements by Multi-Channel Reflectometry on the Venous and Arterial Structures of the Retina

Cet article, publié dans *Applied Optics* le 10 septembre 2011, s'inscrit dans le contexte du présent mémoire en proposant un modèle non-invasif de spectrophotométrie capable de mesurer en temps réel et avec grande précision la CO_{TNO} .

Blood oxygenation measurements by multichannel reflectometry on the venous and arterial structures of the retina

Valentina Vucea,² Pierre-Jean Bernard,³ Patrick Sauvageau,¹ and Vasile Diaconu^{1,2,*}

¹School of Optometry, University of Montréal, CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec H3C 3J7, Canada

²Biomedical Engineering, University of Montréal, CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec H3C 3J7, Canada

³Biomedical Science, University of Montréal, CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec H3C 3J7, Canada

*Corresponding author: [REDACTED]

Received 6 July 2011; revised 8 August 2011; accepted 8 August 2011; posted 8 August 2011 (Doc. ID 150580); published 9 September 2011

The aim of the present study was to propose a model and a method to derive the oxyhemoglobin blood content in the retinal veins and arteries by full spectrum reflectometry measurements in the spectral zone from 430 to 680 nm. We proposed a mathematical equation expressed as a linear combination of two terms $S_{\text{OHb}}(\lambda)$ and $S_{\text{Hb}}(\lambda)$ representing the normalized spectral absorption functions of the hemoglobin and the oxyhemoglobin, one term λ^{-n} representing the ocular media absorption with scattering, and a family of multi-Gaussian functions, which usefully compensate for the noncompatibility of the model and the experimental data in the red spectral zone. The present paper suggests that the spectral reflection function in the area from 520 to 580 nm is optimal in calculating the oxyhemoglobin concentration of the blood contained in the endothelial structures of retinal vessels. The model calculation needs a function $(1/\lambda)^{-n}$ that corrects for the ocular media absorption and light scattering on the vessels' structures. For the spectral area of lights with wavelength larger than 580 nm, the reflected light represents mainly the light scattering on the red blood cells. © 2011 Optical Society of America

OCIS codes: 170.1460, 170.3890.

1. Introduction

Alterations of retinal blood flow are the cause of the majority of ocular diseases. Blood flow and blood oxygenation represent the most important parameters to characterize the retinal metabolism. Presently, there is a large interest in measuring these parameters *in vivo* by noninvasive methods. While the methods proposed to estimate blood flow in retinal structures seem to be useful [1,2], the existing methods utilized for the noninvasive blood oxygenation measurements in retinal vessels have inherent limitations, making a clinical application currently impracticable [3].

Several technologies have been proposed to measure retinal blood oxygenation by photometric methods by using specific wavelengths from the visible or near-infrared spectrums [4–7]. These technologies are based on theoretical studies [8] that propose that, by using three specific wavelengths, it is possible to estimate the blood oxygenation in a sample of blood without calibration. However, the retinal vessels represent a heterogeneous medium in continuous motion. Thus, the measurements of retinal blood oxygenation by photometric methods using only a few specific wavelengths represent a rough estimation.

Recent developments in this field suggest estimating the retinal blood oxygenation by full spectrum reflectometry measurements using multichannel

spectrometers that perform fast photometric measurements for a large range and a high number of wavelengths [9,10]. It was demonstrated [11] that by increasing the number of wavelength measurements, the precision of the blood oxygenation evaluation increases with about the square root of the considered wavelength number.

Spectral reflectometry measurements using the multichannel technique have shown that the reflectometry function obtained from a retinal structure represents a combined complex of different scatter and absorption functions. So the overall reflection function contains the spectral absorption components of the blood mixed with the spectral absorption components of all eye structures, traversed by the light towards the retina and from back reflection towards the exit of the eye. Furthermore, the light scattered by the red blood cells and vessel structures represents an important contribution to the overall reflection function [10].

In fact, the reflectometry function in the visible spectral region from veins and arteries was not completely explained by any recent model [10]. In consequence, Schweitzer *et al.* [10] proposed to derive the oxyhemoglobin blood content in veins and arteries by using the reflectometry data from the spectral zone of 510 to 586 nm. In this spectral zone, the blood absorption has a major contribution to the overall reflectometric function while the ocular media absorption and erythrocytes scattering are minimal. The same authors concluded that for wavelengths larger than 590 nm, the spectral reflectometry data is largely affected by the light reflected by the red blood cells.

A particular condition was exposed by Diaconu [12], who discovered that the reflectometry function obtained from the optic nerve capillary structures involves the same spectral characteristics as the reflectometry function from a sheet of white paper tinted with blood. He proposed a linear mathematical model that fully explains the reflectometry functions from the capillary structures of the optic nerve area in the visible spectral zone from 430 to 680 nm. The proposed procedure consists of applying the mathematical model to only one wavelength zone of the reflectometry function and to use the results to explain the other wavelength zone of the reflectometry function. By using this procedure, it can be verified if the model results represent a valid solution for all the experimental data that contain noise.

The aim of the present study was to derive the oxyhemoglobin blood content in the retinal veins and arteries by reflectometry measurements in the spectral zone from 430 to 680 nm using the model and method proposed by Diaconu [12] for the optic nerve capillary structures.

In fact, we consider that the structural composition of the limiting membrane of the blood vessel and its diameter represent the principal physiological characteristics that change the optical reflection properties on the different vessel types. By examining the

retina using a simple ophthalmoscope, it is evident that the light reflected from an artery or a vein is of less intensity compared to the light reflected from the microcapillaries' structures.

The veins and the arteries have relatively large diameters that allow a more important blood volume in a deeper path to be exposed to the illumination. In fact, under white light retinal illumination, the veins and arteries appear red (light red for the arteries and dark red for the veins), whereas the coloring of the capillaries' structures from the optical nerve zone appear more of a reddish white, demonstrating that the long wavelengths are relatively more reflected by the veins' and arteries' structures when compared to the zone containing the capillaries' structures.

2. Methods

The reflectometry spectral function was continuously recorded by the multichannel technique, as shown in Fig. 1 (800 wavelengths from 430 to 680 nm for each 500 ms), on arteries, veins, and the optic nerve capillary zone, during 20 s at 0.5 s integrals for a steady-state intensity of a white light retinal illumination from six healthy subjects. More details on a similar apparatus and the measurement technique were presented previously [12]. In the actual apparatus, the coupling between the fundus camera, the CCD video camera, and the spectrograph was accomplished using a pinhole mirror that reflects the whole image of the retina to the video camera except for the axial zone, where a pinhole 0.5 mm in diameter lets the light enter through to the spectrograph. The electron multiplication CCD camera for spectroscopy has been programmed in a special horizontal binding mode where four horizontal elements are grouped together. This horizontal binding mode reduces the measured wavelength number from 1600 to 800 and improves the signal–noise ratio.

Three different measurement sessions were obtained from each subject at 1 h intervals. Before and

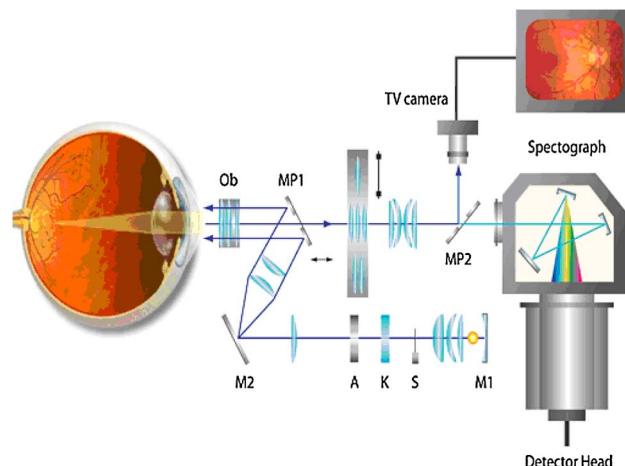


Fig. 1. (Color online) Schematic view of the multichannel reflectometry system for the eye. Ob, lens; MP1, mirror pinhole 1; MP2, mirror pinhole 2; M1, mirror 1; M2, mirror 2; A, aperture; K, neutral filter; S, shatter.

after each measurement session, the spectral intensity of the incident light was measured using an artificial eye with a matte surface of BaSO₄ considered as a neutral reflector at the site of the retinal fundus. The incident spectral light and the reflected light from the retinal structures were corrected for the dark signal.

3. Model

The mathematical equation used to derive the hemoglobin and the oxyhemoglobin contribution spectra to the overall reflectometry absorption function $A(\lambda)$ from the optic nerve, veins, and arteries, was expressed as a linear combination of two terms, $S_{\text{OHb}}(\lambda)$ and $S_{\text{Hb}}(\lambda)$, representing the normalized spectral absorption functions of the hemoglobin and the oxyhemoglobin and one term λ^{-n} representing the ocular media absorption with scattering. One constant factor k was also included in the model,

$$A(\lambda) = m_1 * S_{\text{Hb}}(\lambda) + m_2 * S_{\text{OHb}}(\lambda) + m_3 * \lambda^{-n} + m_4 * k. \quad (1)$$

The m_1, \dots, m_4 parameters represent the contribution of each term from Eq. (1) to the overall reflectometry absorption function $A(\lambda)$. Oxyhemoglobin concentration has been calculated using the formula $\text{OHb}\% = m_2 / (m_1 + m_2)$. The model has been applied to only one wavelength zone of the reflectometry spectral function, and the results of the model have been used to explain the other wavelength zone of the reflectometry function.

In the second model, we include in a multi-Gaussian function to compensate for the noncompatibility of the model and the experimental data in the red spectral zone,

$$A(\lambda) = m_1 * S_{\text{Hb}}(\lambda) + m_2 * S_{\text{OHb}}(\lambda) + m_3 * \lambda^{-n} + m_4 * k - \sum_{i=1}^n m_{4+i} * N(\mu_i, \sigma^2). \quad (2)$$

The role of the multi-Gaussian function was to subtract the noise from the overall reflectometry function and to protect the model for any given interfering signal. The noise may be created by the light scattered or absorbed on any given structure not predicted by the model.

The laboratory simulations showed that such a model predicts a null multi-Gaussian function when the model is applied to the spectral data without noise or additional interfering signal. However, the multi-Gaussian functions can reconstitute and separate any given spectral signal induced into the data formerly not predicted by the model.

In the present study, μ represented a vector of 18 equidistant elements on the wavelength scale from 580 to 670 nm with an interval of $\sigma = 5$ nm.

Then, $\mu = [580 \text{ nm} : 5 \text{ nm} : 670 \text{ nm}]$ and $n = \text{length}(\mu) = 18$.

4. Results and Discussions

Figure 2 shows an example of reflectivity absorption function (430 to 640 nm) from the optic nerve, vein, and artery, as well as the model fit contributions predicted by the Eq. (1) system applied to the spectral data from 530 to 590 nm.

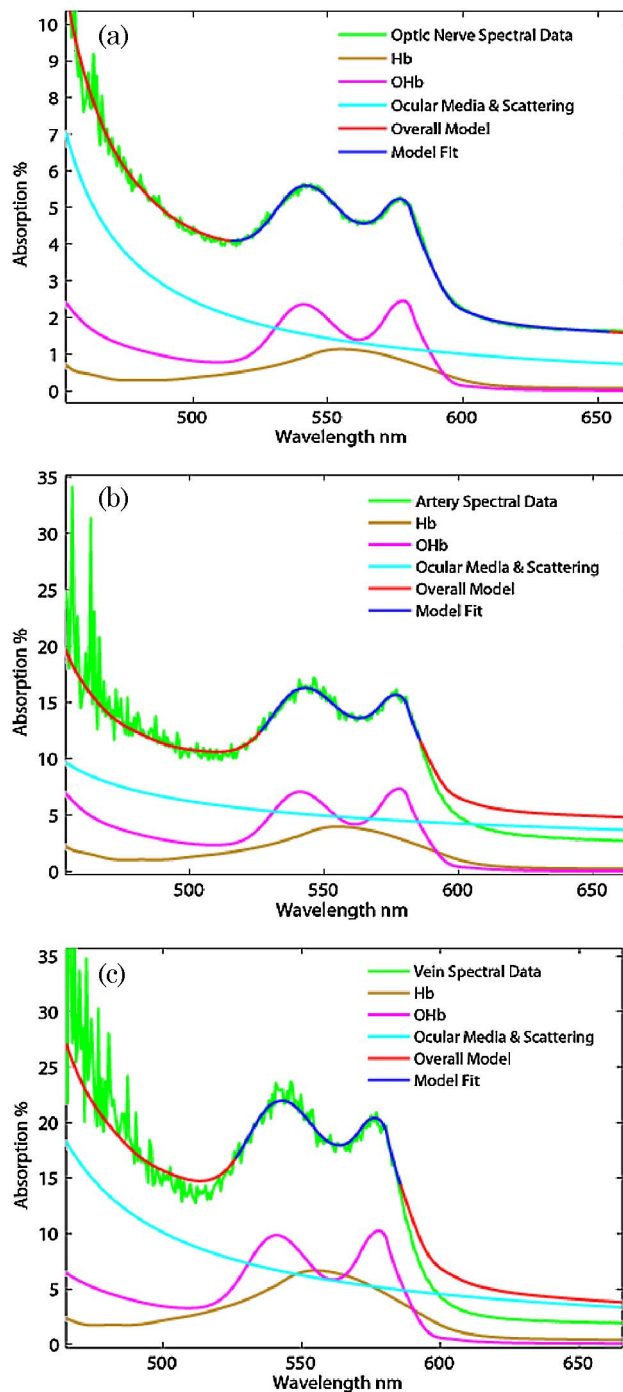


Fig. 2. (Color online) Graphical representation of the model fit applied to the experimental data obtained from (a) optic nerve capillaries, (b) arteries, and (c) veins. The contributions of hemoglobin, oxyhemoglobin, and optical medium absorption including the scatterings are shown.

Figure 2 also illustrates the contributions of the hemoglobin, the oxyhemoglobin, and the ocular medium absorption with light scattering predicted by the model to explain the overall reflectivity absorption function.

The results shown in Fig. 2 reveal that the model results represented by Eq. (1) applied for the spectral data from 530 to 590 nm can well explain the entire reflectometry function (430 to 640 nm) from the optic nerve structures [12]. However, the model results cannot explain the reflectivity function on the veins and arteries in the red spectral zone.

From the model results presented in Fig. 2, we understand that the reflectometry spectral data from veins and arteries include two reflectivity mechanisms. One mechanism is evident in the spectral zone from 430 to 590 nm where the light reflection on the veins and arteries is similar with the reflection mechanism on the microcapillary structures. A linear model can explain the reflectometry function in this spectral zone. A distinct reflection mechanism is evident in the red spectral zone where the absorption function is reduced when compared with the model prediction applied to the spectral data from the 430 to 590 nm zone. In fact, the model predicts that there are relatively more red light reflections on the veins and arteries than on the capillary structures. This result confirms the Schweitzer *et al.* [10] proposal, so that in the red spectral zone, the light scattering the red blood cells is important and depends on the blood volume exposed to the light path.

To explain the mechanisms involved in light reflection and absorption on veins and arteries, we propose a hypothetical model represented by Eq. (3), where the reflected light from the blood vessels represent two different scattering and absorption mechanisms:

$$I_S(\lambda) = I_{S1}(\lambda) + I_{S2}(\lambda). \quad (3)$$

One mechanism is represented by the light scattered and absorbed on the frontal structure of the blood vessels in which a very small fraction of the incident light is absorbed by a very thin film of the blood contained in endothelial structures [Eq. (4)]. This mechanism is similar to the model suggested by Diaconu [12] to explain the light scattering and absorption of the microcapillaries structures.

$$I_{S1}(\lambda) = K * I_0(\lambda) * [m_1 * S_{HB}^{-1}(\lambda) + m_2 * S_{OHb}^{-1}(\lambda)], \quad (4)$$

where K represents the fraction of incident light (I_0) scattered on the endothelial structures, m_1 and m_2 represent the coefficients for the hemoglobin and oxyhemoglobin blood content, and $S_{HB}(\lambda)$ and $S_{OHb}(\lambda)$ represent the hemoglobin and oxyhemoglobin spectral absorption functions.

In the second mechanism, a very large fraction of the incident light penetrates the blood vessels' volume. This light will be partially backscattered on the red blood cells found inside the blood vessel [10] and partially absorbed by the erythrocytes while

crossing twice the blood volume, following a reflection on the structures of the eye behind the vessel.

$$I_{S2}(\lambda) = K_S * [I_0(\lambda) - I_{S1}(\lambda)] * \{1 - 10 \exp\{-2 * d_v * [m_1 * S_{HB}(\lambda) + m_2 * S_{OHb}(\lambda)]\}\}, \quad (5)$$

where d_v represents the vessel diameter and K_S represents the scattering and reflection fraction.

Equation (5) expresses the mechanism where a fraction of the light is scattered on the red blood cells and another fraction is absorbed by erythrocytes traveling twice the blood volume $2 * d_v$ following a reflection on the structures of the eye behind the vessel [13].

The model results for the two mechanisms of scattering and absorption represented by Eq. (3) are illustrated in Fig. 3.

From Fig. 3, we notice that in the spectral area from 400 to 580 nm, the reflectometry function results mainly from the diffusion on the frontal endothelial structure of the blood vessels. In other words, the light, which will have to cross the blood vessel volume, is strongly absorbed by it. The contribution of this light to the reflectometry function is negligible in the spectral zone from 400 to 580 nm. However, the light of wavelengths larger than 590 nm is less absorbed by the blood, making the blood almost transparent to this light. The data represented in Fig. 3 show that in the spectral area for wavelengths larger than 590 nm, the light that is scattered on the red blood cells or reflected on the retina structures behind the blood vessels could be dominant compared to the light scattered on the frontal structure of the blood vessels.

The model represented by Eq. (2) was proposed to regulate for noncompatibility between the Eq. (1) model and the reflectometry experimental data in the red spectral zone. The multi-Gaussian functions can predict the amount of the light scattered on the red blood cells that depend on the blood vessel diameter.

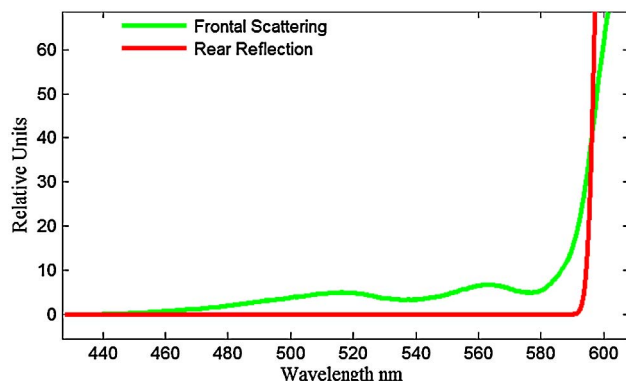


Fig. 3. (Color online) Graphical representation for the two mechanisms representing the frontal scattering on the endothelial structure of blood vessels and the rear reflection with scattering on the hematocrits [Eq. (3)].

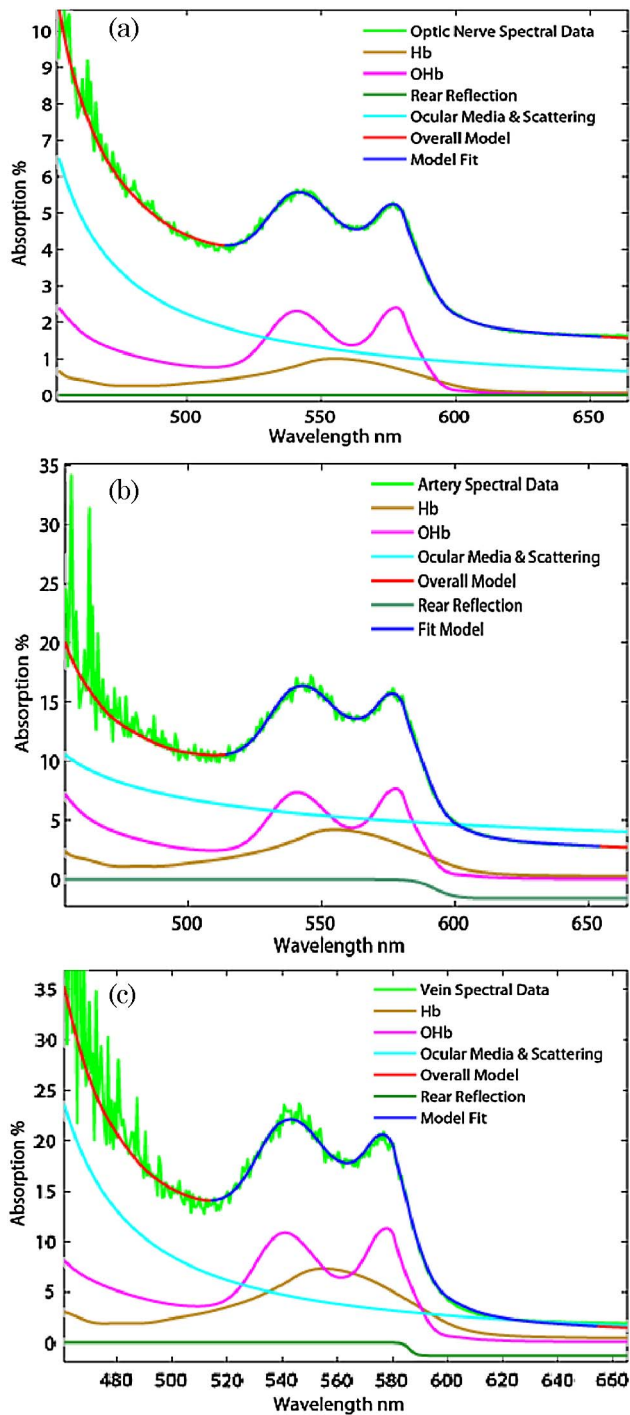


Fig. 4. (Color online) (a) Graphical representation for the calculated fitting curve by the second model [Eq. (2)] applied to the experimental data obtained from the (a) optic nerve, (b) arteries, and (c) veins. The contributions of hemoglobin, oxyhemoglobin, and optical medium absorption including the scatterings are shown. The rear reflection (red scattering light) estimated by the multi-Gaussian function is also represented in the figure.

In Fig. 4 are shown examples of diverse spectral reflectometry absorption functions for the optic nerve, vein, and artery alongside the model fit predicted by the system of Eq. (2) applied for the reflectometry data from the 530 to 680 nm spectral zone.

The results shown in Fig. 4 demonstrate that the system of Eq. (2) can well explain the overall spectral reflectometry function measured from the optic nerve head capillaries', veins', and arteries' structures. The multi-Gaussian functions illustrate the amount of light scattered on the red blood cells, an amount relatively significant for both veins and arteries.

Figure 5 shows an example of the blood oxygenation values derived with the second model applied for 30 consecutive reflectometry measurements on the artery, vein, and optic nerve capillaries of a subject. The results from Fig. 5 can be grouped into three ranges of blood oxygenation values with average values of about 75% for arteries, 50% for veins, and 65% for optic nerve capillaries.

The range of blood oxygenation values in arteries is greater than the oxygenation values found in capillary structures. On the other hand, the venous oxygenation values are always lower than those of capillary structures. It should also be noted that the blood oxygenation values derived from venous and arterial structures present a wide variability compared to the blood oxygenation values derived from capillary structures.

The eye motion represents the primary cause of the variability of blood oxygenation estimation by reflectometry measurements. The optic nerve zone represents the best area in the eye for reflectometry

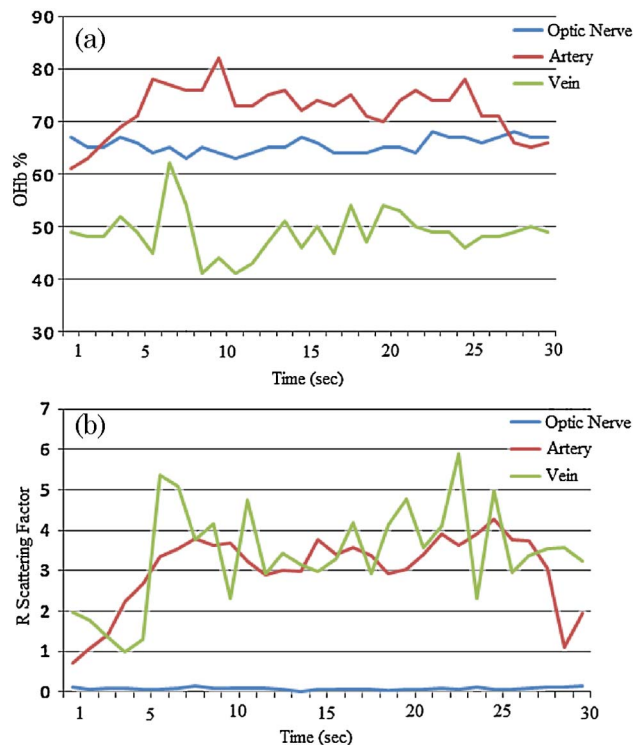


Fig. 5. (Color online) (a) Example of blood oxygenation values derived with the second model and (b) intensity of the light scattered in the red wavelength zone (R scattering factor) of the reflectometry function derived by the multi-Gaussian function from the second model applied for 30 consecutive reflectometry measurements on the arteries, veins, and optic nerve capillaries from one subject.

measurements compared to veins and arteries because of its high reflectivity factor and relatively large and homogeneous area.

The veins and arteries present a curved reflectivity surface. The detection of the light reflected from artery or vein depends greatly on the relative position of the sensor direction to the blood vessel axis. In consequence, the eye motion plays a significant role in the variability of the reflectometry measurements on the veins and arteries and implicitly on the derivative values of blood oxygenation.

Figure 5(b) shows the intensity of light scattered in the red wavelength zone (R scattering factor) derived by the multi-Gaussian function from the second model. The data presented in Fig. 5(b) confirm that the R scattering factor values are in direct correlation with the blood vessel diameter. It is noticeable that for reflectometry measurements from the optic nerve zone, the R scattering factor shows very low values that are consistent with the small diameter of capillaries.

Figure 6 shows possible correlations between the oxygenation values and the R scattering factor derived from 30 consecutive measurements from an artery, a vein, and an optic nerve capillary zone of a

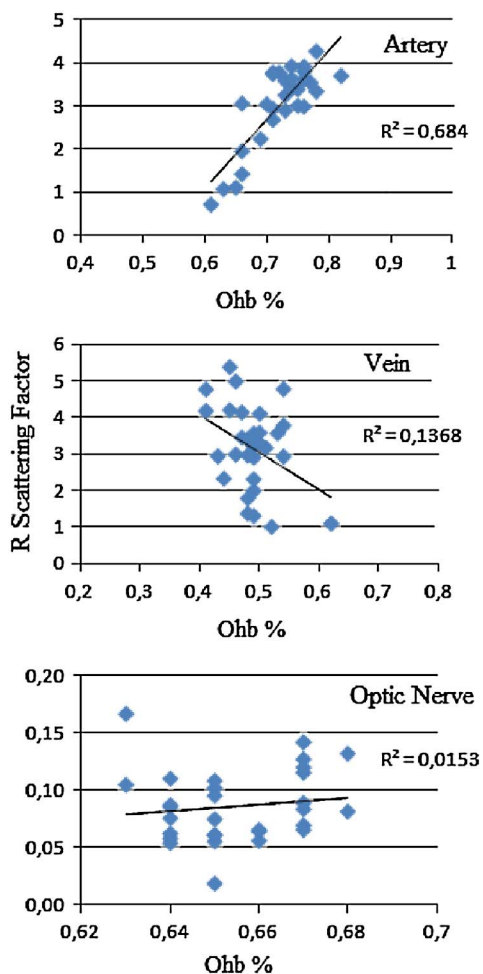


Fig. 6. (Color online) Correlation between the oxygenation values and the R scattering factor for the results from artery, vein, and optic nerve capillaries.

subject. From Fig. 6 we understand that the R scattering factor can be in direct correlation with the arterial blood oxygenation values and in inverse correlation with the venous blood oxygenation values. The correlation between the blood oxygenation values and the R scattering factor from the optic nerve capillaries is low, which is consistent with the homogeneity of the optic nerve zone. From the correlation of the results shown in Fig. 6, we understand that it is possible to select the blood oxygenation values corresponding to the axial position of the sensor direction relative to the blood vessel axis, considering that the maximum values of the R scattering factor are obtained when the sensor's direction is aimed at the blood vessel axis.

In this case, the R scattering factor values will be useful to reduce the variability of blood oxygenation values corresponding to eye motion. However, the data represented in Fig. 6 show that the reflectometry measurements corresponding to the axial position of the sensor's direction relative to the blood vessel axis grant maximum oxygenation values for measurements from the arteries and minimum oxygenation values for measurements from the veins [10]. We suggest that the sensor positions outside of the blood vessel axis will allow the capture of a stray light scattered from the adjacent structures of the vessel that are reflected on the wall vessel. Generally, the blood oxygenation of the capillary structures beside the large retinal vessel is lower than the arterial blood oxygenation and elevated more than the venous blood oxygenation. Then the stray light scattered from the adjacent structures of a vessel contributes to reducing the blood oxygenation estimation in arteries while increasing the estimated value of the blood oxygenation in veins.

Figure 7 shows the results for oxyhemoglobin blood content (percent) measured from arteries', veins', and optic nerve capillaries' zones in 12 subjects.

Similar to the results presented in Fig. 5 from one subject, the results presented in Fig. 7 can be grouped into three ranges of blood oxygenation with average values of about 73% for arteries, 47% for veins, and 63% for optic nerve capillaries.

It is notable that the arterial blood oxygenation values derived by this model are 10% lower than

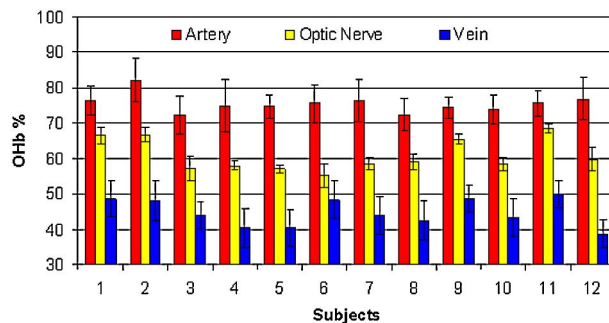


Fig. 7. (Color online) Mean values for oxyhemoglobin blood content (percent) measured from arteries', veins', and optic nerve capillaries' zones in 12 subjects.

the arterial blood oxygenation values reported by Schweitzer *et al.* [10]. This difference could have two causes.

i. The technique of the reflectometry signal measurement could cause it because if the reflectometry signal is collected from a larger area of the artery, more diffused light from the adjacent zone of the vessel is collected, which induces a decrease of the derived blood oxygenation values.

ii. The model for oxyhemoglobin derivation contains the function λ^{-n} , which corrects the reflectometry data for the ocular media absorption and the diffusion of the light on the blood vessel. Without this correction, the derived blood oxygenation values would be higher.

However, the variability of the arterial blood oxygenation values between the various subjects is relatively low compared to that of the venous blood oxygenation variability. One explanation may be that the retinal arterial blood oxygenation depends on the systemic arterial blood oxygenation, which is a uniform parameter for people in good health. The venous blood oxygenation of the retina depends on the arterial blood oxygenation, but also on the retinal metabolism and blood flow. Our results on the venous blood oxygenation suggest that the retinal metabolism or retinal blood flow can be specific to each subject, even if the same quantity of light were employed to illuminate the retina during the measurements [14,15].

5. Conclusions

The results of the model revealed that the retinal spectral reflectometry signal is complex, containing scattering, reflection, and absorption lights, each type of light presenting a specific predominance in the different spectral zones of the retinal reflectometry function.

i. The spectral absorption function of the blood is dominant in the spectral zone from 520 to 580 nm.

ii. The ocular media spectral absorption function and the light scattering on the blood vessels' structures are dominant in the spectral zone with wavelengths shorter than 520 nm.

iii. In the spectral zone of wavelengths larger than 590 nm, the light scattering on the red blood cells and the light reflection from the eye structures behind the vessel is dominant.

The present paper suggests that the spectral reflection function in the area from 520 to 580 nm is optimal in calculating the oxyhemoglobin concentration of the blood contained in the endothelial structures of retinal vessels. The model calculation needs a function $(1/\lambda)^{-n}$ that corrects for the ocular media absorption and light scattering on the vessels' structures. The $(1/\lambda)^{-n}$ function must be modeled so that the model results from the spectral zone of 520 to 580 nm are also a solution for the reflectometry

function in the 430 to 520 nm spectral zone [12]. For the spectral area of lights with wavelengths larger than 580 nm, the reflected light mainly represents the light scattering on the red blood cells.

The quantity of this light (R scattering factor) may be derived using a multi-Gaussian function. The R scattering factor representing the amount of the scattered light in the red wavelength zone may be a useful parameter to estimate the relative variation in retinal vessel diameter and can also be helpful in correcting the errors in blood oxygenation estimation caused by eye motion.

References

1. C. E. Riva and G. T. Feke, "Laser Doppler velocimetry in the measurement of retinal blood flow," in *The Biomedical Laser: Technology and Clinical Applications*, L. Golman, ed. (Springer, 1981), pp. 135–161.11.
2. G. T. Feke and C. E. Riva, "Laser Doppler measurements of blood velocity in human retina vessels," *J. Opt. Soc. Am.* **68**, 526–531 (1978).
3. A. Harris, R. B. Dinn, L. Kagemann, and E. Rechtman, "A review of methods for human retinal oximetry," *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging* **34**, 152–164 (2003).
4. R. N. Pittman and B. R. Duling, "A new method for the measurement of percent oxyhemoglobin," *J. Appl. Physiol.* **38**, 315–320 (1975).
5. J. M. Beach, J. S. Tiedeman, M. F. Hopkins, and Y. S. Sabharwal, "Multispectral fundus imaging for early detection of diabetic retinopathy," *Proc. SPIE* **3603**, 114–121 (1999).
6. J. M. Beach, K. J. Schwentzer, S. Srinivas, D. Kim, and J. S. Tiedeman, "Oximetry of retinal vessel by dual-wavelength imaging: calibration and influence of pigmentation," *J. Appl. Physiol.* **86**, 748–758 (1999).
7. H. S. Hardarson, A. Harris, R. A. Karlsson, G. H. Halldorsson, L. Kagemann, E. Rechtman, G. M. Zoega, T. Eysteinnsson, J. A. Benediktsson, A. Thorsteinsson, P. K. Jensen, J. Beach, and E. Stefánsson, "Automatic retinal oximetry" *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* **47**, 5011–5016 (2006).
8. F. C. Delori, "Noninvasive technique for oxymetry of blood in retinal vessels," *Appl. Opt.* **27**, 1113–1125 (1988).
9. D. Schweitzer, E. Thamm, M. Hammer, and J. Kraft, "A new method for the measurement of oxygen saturation at the human ocular fundus," *Int. Ophthalmol.* **23**, 347–353 (2001).
10. D. Schweitzer, M. Hammer, J. Kraft, E. Thamm, E. Königsdörffer, and J. Strobel, "In vivo measurement of the oxygen saturation of retinal vessels in healthy volunteers," *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **46**, 1454–1465 (1999).
11. D. Schweitzer, L. Leistritz, M. Hammer, M. Scibor, U. Bartsch, and J. Strobel, "Calibration-free measurement of the oxygen saturation in retinal vessels of men," *Proc. SPIE* **2393**, 210–218 (1995).
12. V. Diaconu, "Multichannel spectroreflectometry: a noninvasive method for assessment of on-line hemoglobin derivatives," *Appl. Opt.* **48**, D52–D61 (2009).
13. M. Hammer, S. Leistritz, L. Leistritz, and D. Schweitzer, "Light paths in retinal vessel oximetry," *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **48**, 592–598 (2001).
14. G. Birol, S. Wang, E. Budzynski, N. D. Wangsa-Wirawan, and R. A. Linsenmeier, "Oxygen distribution and consumption in the macaque retina," *Am. J. Physiol.* **293**, 1696–1704 (2007).
15. C. E. Riva, J. E. Grunwald, and B. L. Petrig, "Reactivity of the human retinal circulation to darkness: a laser Doppler velocimetry study," *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* **24**, 737–740 (1983).