

Influencia del tamaño del disco óptico en la medición de la Capa de Fibras Nerviosas de la Retina realizada por Cirrus OCT

Influence of optic disc size on the retinal nerve fiber layer thickness measurement using Cirrus OCT

OLMO N¹, VELÁZQUEZ-VILLORIA Á², SAENZ DE VITERI M², MORENO-MONTAÑÉS J¹

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la relación entre el tamaño del disco óptico y la medición de la Capa de Fibras Nerviosas de la Retina (CFNR) realizada por Cirrus OCT. Investigar su influencia en la capacidad diagnóstica.

Diseño: Observacional, estudio transversal.

Método: Se incluyeron 588 ojos (290 controles y 298 glaucomatosos). El tamaño del disco se determinó midiendo el diámetro vertical, horizontal y su área. En el grupo control, se evaluó la asociación entre la CFNR y el tamaño del disco mediante regresión lineal. El total de la muestra se dividió en cuartiles (área $\leq 1,56$ mm²; 1,57-1,78 mm²; 1,79-2,08 mm²; $\geq 2,09$ mm²), y se calcularon áreas bajo las curvas (AUC) ROC para cada grupo. Mediante el test de la t de Student para datos independientes se comparó el tamaño del disco entre ojos con diagnóstico incorrecto (falsos positivos –FP– y falsos negativos –FN–) y correcto (verdaderos positivos –VP– y verdaderos negativos –VN–).

Resultados: Para la medición de la CFNR media (Average), únicamente se encontró una correlación estadísticamente significativa ($r=0,16$, $p=0,02$) con el diámetro vertical. Sin embargo, para la medición en el cuadrante inferior, esta asociación también se vio con el área ($r=0,13$, $p=0,03$). Las mejores AUC se obtuvieron para el grupo 2 (áreas entre 1,57 -1,78 mm²), (AUC: 0,89, IC95%: 0,82 a 0,93, $p< 0,001$, y AUC: 0,90, IC95%: 0,83 a 0,95, $p< 0,001$, Average e inferior, respectivamente). En los FN, los tamaños de disco fueron mayores que en los VN. Estas diferencias no se encontraron entre los FP y VP.

Departamento de Oftalmología, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España.

¹ MD, PhD.

² MD.

Ninguno de los autores tiene intereses comerciales en ninguno de los aparatos o técnicas descritas en este estudio. Con el apoyo de RETICS RD 07/0062 (Oftalmología), Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

Correspondencia:

Natalia Olmo Jiménez

Departamento de Oftalmología, Clínica Universidad de Navarra, Apartado 4209

31080 Pamplona, España

naolmo@gmail.es

Conclusion: El tamaño del disco influye en la capacidad diagnóstica de Cirrus OCT, estando disminuida en discos grandes y pequeños.

Palabras clave: Medición capa de fibras nerviosas de la retina, glaucoma, tomografía de coherencia óptica de dominio espectral, tamaño disco óptico.

SUMMARY

Purpose: To evaluate the relationship between the optic disc size and the retinal nerve fibre layer (RNFL) thickness measurement using Cirrus OCT. To investigate the influence on glaucoma diagnosis.

Design: Observational, cross-sectional study.

Methods: Five hundred eighty eight eyes (290 controls and 298 glaucomatous) were included. The disc size was determined by measuring the vertical and horizontal diameters, as well as the area. The relationship between RNFL measurements and disc size in the control group was evaluated by linear regression analysis. To evaluate the effect of the optic size on the diagnosis accuracy of Cirrus OCT, the total sample was divided in quartiles (area ≤ 1.56 mm²; 1.57-1.78 mm²; 1.79-2.08 mm²; ≥ 2.09 mm²). Areas under the receiver operating characteristic curves (AUCs) were calculated for each group. T-Student independent data analysis was used to establish a comparison between the disc size in eyes with an incorrect diagnosis (false positive –FP– and false negative –FN–) and those with a correct diagnosis (true positive –TP– and true negative –TN–).

Results: For the average RNFL measurement, only a statistically significant correlation ($r = 0.16$, $p = 0.02$) with the vertical diameter was found. However, for the inferior quadrant measurement, this association was also observed in the area ($r = 0.13$, $p = 0.03$). Best AUC was obtained for group 2 (areas between -1.78 - 1.57 mm²), (AUC: 0.89, IC95%: 0.82 a 0.93, $p < 0.001$, and AUC: 0.90, IC95%: 0.83 a 0.95, $p < 0.001$, Average and inferior quadrant, respectively). Disk sizes were higher in the FN group than in the TN. These differences were not found between the FP and TP.

Conclusion: The disc size influences the ability of Cirrus OCT to diagnose glaucoma, which is reduced in large and small discs.

Key words: Retinal nerve fiber layer, glaucoma, spectral domain optical coherence tomography, optic disc size.

INTRODUCCIÓN

El glaucoma es una neuropatía óptica que se caracteriza por un daño progresivo del nervio óptico con pérdida de las células ganglionares de la retina. Se manifiesta como un aumento de la excavación de la papila, así como por el adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR). Hasta hace pocos años, el diagnóstico de glaucoma se basaba únicamente en el aspecto clínico del disco óptico y de la CFNR, así como en la presencia de defectos características en la perimetría acromática estándar (1,2). No obstante, ya en estudios antiguos, se evaluaba la influencia que el tamaño del disco óptico podía tener en el análisis de color morfométrico

analizando fotografías disco en estéreo (3,4). Recientemente también se ha estudiado la variabilidad que existe entre razas, en el tamaño del disco óptico (5) y en la medición de la CFNR (6).

Con la introducción de dispositivos de imagen como la tomografía de coherencia óptica (OCT), el espesor de la CFNR se puede evaluar de manera objetiva y cuantitativamente in vivo (7,8). Cirrus OCT (Carl Zeiss Meditec), es un OCT de dominio espectral (SD) que proporciona un escaneo más rápido y mejor resolución axial que su predecesor Stratus OCT, permitiendo imágenes tridimensionales del tejido retiniano. El área escaneada cubre 6 x 6 mm con una profundidad de barrido de 2 mm (9). El software identifica el

centro del disco y coloca automáticamente a su alrededor, un círculo cálculo de 3,46 mm de diámetro. Estudios previos ya han mostrado la capacidad de diagnóstico de Cirrus (10) OCT en general, y la influencia de factores tales como la intensidad de la señal (11) y el grado de daño glaucomatoso (12-14) en esta capacidad. Sin embargo, los debates siguen abiertos en cuanto a qué otros factores podrían afectar las mediciones del espesor de la CFNR. Estos incluyen la edad (15-18) el tamaño del disco (14-19), la longitud axial (17,18), y la inclinación del disco (20). En el presente estudio se analiza el tamaño de la papila o disco óptico. El objetivo del presente estudio es evaluar la relación entre el tamaño del disco óptico y la medición del espesor de la CFNR, y analizar la influencia del tamaño del disco en el diagnóstico del glaucoma mediante Cirrus OCT.

MATERIAL Y METODOS

Sujetos

Este estudio transversal se llevó a cabo en el Departamento de Oftalmología de la Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España. El estudio fue aprobado por la Comisión de Ética para la Investigación, según la cual, no era necesario el consentimiento por escrito de los pacientes previamente diagnosticados de glaucoma, ya que el estudio consistía en una evaluación de los datos obtenidos en la práctica clínica. Sin embargo, a todos los voluntarios normales si que se les solicitó el consentimiento informado antes de entrar en el estudio, siguiendo las pautas dadas en la Declaración de Helsinki. Todos los participantes eran blancos y se les realizó una exploración oftalmológica completa, incluyendo un anamnesis con antecedentes médicos y familiares, la medición de la agudeza visual, tonometría de aplanación Goldmann, exámen de polo anterior y posterior con lámpara de hendidura, y el campo visual blanco-blanco con el estándar sueco Algoritmo Umbral Interactivo 24-2 del analizador de campo Humphrey (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA). Todos los pacientes tenían un equivalente esférico de 5.0 dioptrías o menos y un astigmatismo de 3.0 dioptrías o menos, una mejor agudeza visual corregida de 20/40

o mejor, ninguna patología corneal o de la retina y ninguna opacidad de medios sustancial que oscureciera el fondo de ojo.

El grupo de glaucoma se formó incluyendo casos consecutivos con diagnóstico clínico de glaucoma de ángulo abierto identificado por defectos del campo visual y Gonioscopia. La presión intraocular debía exceder de 21 mmHg en al menos 3 días diferentes. El campo visual se clasificó como glaucomatoso cuando al menos 3 puntos contiguos estaban fuera de los límites de la normalidad del 95% en la desviación patrón y 1 estaba fuera de los límites normales de 99% (23), y/o un patrón SD significativamente elevado más allá del nivel del 5%, y/o una prueba de hemisfero de glaucoma fuera de los límites normales (21). El daño del campo visual debía ser reproducible en al menos 3 campos visuales fiables y consecutivos realizadas en días diferentes.

Los pacientes del grupo normal, fueron reclutados prospectivamente en el Departamento de Oftalmología de la Clínica Universidad de Navarra. Se incluyeron pacientes con una presión intraocular de 20 mmHg o inferior, campos visuales normales, y sin antecedentes familiares de glaucoma. Este grupo normal incluyó a personal del hospital, familiares de los pacientes, y los pacientes sin enfermedades oculares que eran referidos para un examen de agudeza visual de rutina. El estado del disco óptico no se utilizó para clasificar en grupos normales o glaucoma.

Quinientos ochenta y ocho ojos de 588 pacientes (302 hombres y 286 mujeres) se incluyeron. Un ojo de cada sujeto fue elegido al azar. Doscientos noventa ojos eran normales y 298 fueron glaucomatosos. La edad media de los pacientes normales y pacientes con glaucoma fueron $57,28 \pm 16,81$ y $67,93 \pm 12,57$ años, respectivamente ($p < 0,05$) (tabla 1).

Tabla 1: Características clínicas de los sujetos sanos y glaucomatosos incluidos en este estudio

	Control	Glaucoma	p
Número de sujetos	290	298	–
Sexo, M/F	141/149	161/137	0,10 *
Edad (años)	$57,28 \pm 16,84$	$67,93 \pm 12,57$	$<0,001 \dagger$
OCT grosor Average (μ)	$92,94 \pm 11,58$	$74,96 \pm 15,60$	$<0,001 \dagger$

OCT grosor Average= grosor medio de la CFNR medidas por Cirrus OCT; * χ^2 test; \dagger Mann-Whitney U test.

Procedimiento

Las imágenes de la CFNR se obtuvieron después de dilatar la pupila utilizando tropicamida al 1%, y dentro del mes desde el último estudio del campo visual. Se definió un campo visual como fiable a aquel con menos del 30% de pérdidas de fijación y de falsos positivos y falsos negativos. Se utilizó el software de Cirrus OCT (versión de software 5.0; Carl Zeiss Meditec) en todos los pacientes. Los exámenes de OCT se llevaron a cabo por un operador con experiencia, diferente del examinador que realizó la prueba de campo visual. Los sujetos se sentaron con la barbilla en un apoya-mentón y se procedió a alinear la máquina. El cubo de disco óptico (Optic disc cube) es un protocolo de exploración de glaucoma que toma imágenes del disco óptico y de la región de la retina peripapilar con una superficie de 6 x 6mm² compuesta de 200 A-scan y de 200 B-scans lineales. Para el análisis, los algoritmos de Cirrus identifican el centro del disco óptico y colocan automáticamente un círculo de cálculo con un diámetro de 3,46 mm alrededor de él. Los márgenes anterior y posterior de la CFNR son delineados, y después de extraer 256 A-scans por el camino del círculo de cálculo sobre el cubo de datos, el sistema calcula el espesor de la CFNR en cada punto del círculo.

Se adquirieron tres exploraciones de volumen de OCT centradas en el disco óptico para cada paciente. Se analizó la intensidad de la señal de Cirrus OCT, y se seleccionó el análisis con la mejor intensidad de la señal.

Además, las exploraciones de mala calidad, como un efecto de sombreado por moscas volantes, la identificación errónea de los límites de la CFNR interior o exterior, mediciones inadecuadamente centradas, o intensidades de señal inferior a 6, fueron rechazadas. Los scans con desajustes no fueron excluidos del estudio, porque como hemos descrito recientemente (22), no afectan sustancialmente a la medición de la CFNR. Evaluamos la CFNR global media y el espesor de la CFNR en los cuatro cuadrantes (superior, inferior, nasal, y temporal) (micras, μ). El software del OCT, además clasifica automáticamente todos los valores de la CFNR como dentro de los límites normales, borderline, o fuera de los límites de la normalidad.

Determinación del tamaño del disco óptico

Para determinar el tamaño de las papilas, se midieron los diámetros vertical y horizontal. Del informe emitido por Cirrus OCT en formato PDF, se seleccionó la imagen del LSO (imagen de fondo), y se exportó al programa ImageJ. Una vez aquí, las imágenes fueron ampliadas al 200%. Se procedió a calibrar la escala de medida estableciendo una equivalencia entre píxeles y mm, a partir de una medida conocida (3,45 mm de diámetro del scan circular). Tras repetir la calibración 10 veces, se estableció que 107.5 píxeles equivaldrían a 3,4 mm.

Se consideró a la papila como una elipse vertical, por lo que se definió un eje mayor A (que en la mayoría de los casos sería el vertical) y un eje menor B. La mitad de cada uno de ellos, se denominó semieje mayor (a) y menor (b) (fig. 1).

Para establecer el tamaño de la papila se calculó el área de la elipse (mm²) a partir de estas medidas y según la fórmula: $A = \pi \cdot a \cdot b$.

A continuación, la muestra se dividió mediante tres percentiles, en 4 partes iguales (cuartiles). El percentil 25 correspondió a un área de 1,56 mm², el percentil 50 a un área de 1,79 mm² y el percentil 75 a un área de 2,08 mm². De este modo se establecieron 4 grupos de tamaño de papila: 1.º grupo: $\leq 1,56$ mm²; 2.º grupo: entre 1,57 y 1,78 mm²; 3.º grupo: entre 1,79 y 2,08 mm²; y 4.º grupo: $\geq 2,09$ mm².

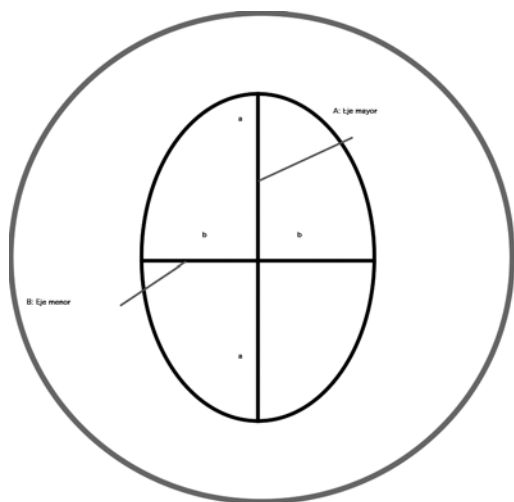


Fig. 1: Línea circular del scan de 3,45 mm. En su interior la elipse vertical (que representa la papila) con sus dos ejes, mayor (A) y menor (B), y sus semiejes mayor (a) y menor (b).

Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se evaluaron utilizando el paquete estadístico para las Ciencias Sociales 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL), y MedCalc (versión 9.2, MedCalc Software, Mariakerke, Bélgica). Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de las variables cuantitativas. Los datos demográficos entre el grupo control y glaucomas se compararon mediante la prueba χ^2 (prueba exacta de Fisher probabilidad) y Mann-Whitney Tets.

Para evaluar la relación entre el tamaño del disco óptico y la medición de espesores de la CFNR, se estudió el grupo de control. Las correlaciones entre tamaño disco y CFNR se examinaron mediante análisis de regresión lineal, expresándose como el coeficiente de correlación de Pearson (rs) con un intervalo de confianza del 95% (IC del 95%). $P < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Para investigar la influencia del tamaño del disco en el diagnóstico del glaucoma, se analizó la muestra total. Se utilizaron curvas ROC (Receiver Operating Characteristics) para describir la capacidad de Cirrus OCT para diferenciar entre normales y glaucomas en cada grupo de tamaño de disco, y para cada CFNR (media, superior, inferior, nasal o cuadrante temporal) de medición. $P < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Para este estudio, las áreas bajo las Curvas ROC (area under curve: AUC) se clasificaron de la siguiente manera: 0,9 - 1 = excelente, 0,80-0,89 = bueno, 0,70 hasta 0,79 = justo, 0,60 a 0,69 = pobre, y 0,50 a 0,59 = prueba sin valor. Las diferencias significativas entre las AUC fueron evaluados por el método descrito por Hanley y Mc Neil²⁴. Las AUC se compararon mediante MedCalc (versión 9.2, MedCalc Software, Mariakerke, Bélgica). Se utilizó un análisis posterior de t-student datos independientes para comparar el tamaño del disco entre los ojos con diagnóstico incorrecto (-FP- falsos positivos y falsos negativos-FN) y el diagnóstico correcto (-VP-verdaderos positivo y verdaderos negativos-VN-). Para este análisis, se utilizó el punto de corte óptimo (dada por la combinación de la más alta sensibilidad y especificidad), ya descrito previamente por nuestro grupo (11) para cada medición de la CFNR (average $\leq 82 \mu$, cuadrante inferior $\leq 103 \mu$, cuadrante superior de $\leq 99 \mu$, \leq cuadrante nasal 66μ y μ cuadrante temporal ≤ 53).

RESULTADOS

Relación entre el tamaño del disco óptico y el grosor de la CFNR medido por Cirrus OCT

Doscientos noventa ojos sanos de 290 sujetos, todos ellos con *signal strength* ≥ 6 con Cirrus OCT, fueron incluidos para este análisis. La edad media de los sujetos fue de $57,3 \pm 16,8$ años, y el área papilar media de $1,75 \pm 0,38 \text{ mm}^2$.

La figura 2, muestra la asociación entre el tamaño del disco (medido en área y en diámetro vertical y horizontal), y el grosor de la CFNR (valorando la medición *average* y el cuadrante inferior). Únicamente para la valoración del tamaño de la papila mediante el diámetro vertical (mm), se encontró una correlación estadísticamente significativa ($p=0,02$) con el grosor medio *average*. El coeficiente de regresión predijo que por cada milímetro que aumentara el diámetro vertical, el grosor medio *average* aumentaría 10.7 micras ($y = 75 + 10.7 \cdot x$). El coeficiente de determinación (R^2) fue del 3%. No se encontró asociación entre el grosor *average* y el tamaño, cuando éste se valoró mediante el área ($p=0,130$) o el diámetro horizontal ($p=0,626$).

Sin embargo, cuando se valoró la influencia del tamaño de la papila sobre el grosor inferior, la asociación fue mayor. El área de la papila demostró una correlación positiva con el grosor inferior ($rs=0,13$, $p=0,03$), con un coeficiente de regresión de 6,7 micras. La mayor asociación se encontró sin embargo el estimar el diámetro vertical ($rs=0,20$, $p=0,002$). Para esta asociación la recta de regresión predijo un incremento de 21 micras, por cada milímetro que se incrementara el diámetro vertical. Tampoco se encontró asociación entre el diámetro horizontal y el grosor del cuadrante inferior.

Influencia del tamaño de la papila en el capacidad diagnóstica de Cirrus OCT

Quinientos ochenta y ocho ojos (sanos y glaucomatosos) de 588 sujetos, todos ellos con *signal strength* ≥ 6 con Cirrus OCT, fueron incluidos para este análisis. La edad media de los sujetos fue de $62,7 \pm 15,7$ años, y el área papilar media de $1,8 \pm 0,4 \text{ mm}^2$.

Capacidad diagnóstica por grupo de tamaño papilar

La tabla 2, muestra el AUC, el mejor balance Sensibilidad (S)/Especificidad(E), y la mejor S para una E prefijada del 85%, para cada uno de estos grupos, valorando la medición average, y los cuatro cuadrantes.

Los mejores índices se obtuvieron para el tamaño de papila comprendido entre 1.57 y 1,78 mm² (grupo 2). Las AUC para la medición average y del cuadrante inferior fueron excelentes (AUC: 0,89, IC95%: 0,82 a 0,93, p< 0,001, y AUC: 0,90, IC95%: 0,83 a 0,95, p< 0,001, respectivamente). El siguiente grupo donde Cirrus OCT demostró mejor capacidad diagnóstica fue el grupo 3 (1,79 a 2,08

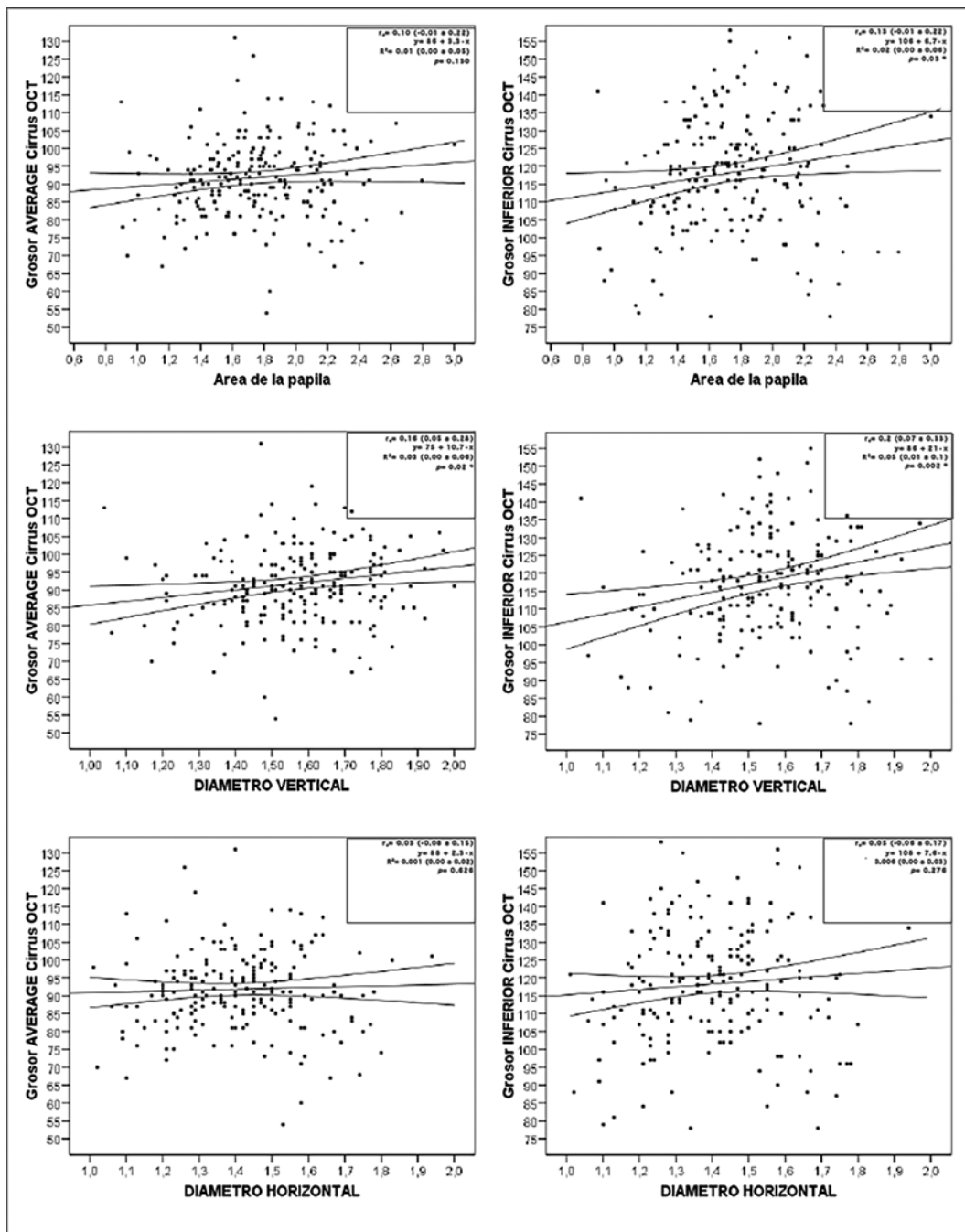


Fig. 2 Diagramas de dispersión con la recta de regresión, valorando la asociación entre el tamaño del disco y el grosor medio de la CFNR (μ m) estimado por Cirrus OCT. El tamaño del disco se estimó mediante el área (mm²) y el diámetro vertical (mm) y horizontal (mm). El grosor de la CFNR se valoró para la medición average y del cuadrante inferior.
* Diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05, ANOVA).

Tabla 2: Capacidad diagnóstica de Cirrus OCT en cuatro grupos de tamaño de disco establecidos, con la medición del grosor de CFNR (μm) en valor average y en los cuatro cuadrantes

		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
AVERAGE	AUC (IC _{95%})	0,78 (0,70 a 0,85)	0,89 (0,82 a 0,93)	0,80 (0,71 a 0,86)	0,79 (0,70 a 0,85)
	p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	S/E	69,1 / 75,0	69,9 / 94,2	63,3 / 90,7	77,9 / 69,7
	S(%) para E _{85%}	62,0	75,3	67,5	56,1
CUADRANTES					
INFERIOR	AUC (IC _{95%})	0,78 (0,70 a 0,85)	0,90 (0,83 a 0,95)	0,81 (0,73 a 0,88)	0,81 (0,72 a 0,87)
	p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	S/E	58,6 / 91,3	75,3 / 92,3	63,6 / 95,3	74,0 / 76,7
	S(%) para E _{85%}	60,3	78,0	70,1	61,1
SUPERIOR	AUC (IC _{95%})	0,79 (0,71 a 0,86)	0,84 (0,76 a 0,90)	0,78 (0,70 a 0,85)	0,76 (0,68 a 0,83)
	p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	S/E	74,1 / 78,2,6	67,1 / 90,4	80,5 / 72,1	55,8 / 90,7
	S(%) para E _{85%}	63,8	68,5	58,4	57,9
NASAL	AUC (IC _{95%})	0,56 (0,46 a 0,64)	0,75 (0,66 a 0,83)	0,70 (0,61 a 0,78)	0,64 (0,56 a 0,73)
	p	0,257	< 0,001	< 0,001	0,005
	S/E	79,3 / 34,8	60,3 / 80,8	74,0 / 69,8	81,8 / 46,5
	S(%) para E _{85%}	20,7	41,1	47,0	23,1
TEMPORAL	AUC (IC _{95%})	0,53 (0,40 a 0,62)	0,72 (0,63 a 0,80)	0,62 (0,53 a 0,71)	0,60 (0,48 a 0,66)
	p	0,674	< 0,001	0,019	0,190
	S/E	46,5 / 63,7	53,3 / 88,5	32,5 / 90,7	22,1 / 95,3
	S(%) para E _{85%}	19,0	53,1	33,0	26,6

Grupo 1: $\leq 1,56 \text{ mm}^2$, Grupo 2: $1,57$ a $1,78 \text{ mm}^2$, Grupo 3: $1,80$ a $2,08 \text{ mm}^2$, y Grupo 4: $\geq 2,09 \text{ mm}^2$.

mm^2), seguido del grupo 4 ($\geq 2,09 \text{ mm}^2$) y finalmente el grupo 1 ($\leq 1,56 \text{ mm}^2$). Para todos los grupos, los peores índices se obtuvieron al valorar los cuadrantes nasal y temporal. Aún así, para el grupo 2, las AUC fueron superiores a 0.7 (fig. 3).

Por tanto, fue en las papilas de tamaños extremos (mínimo tamaño y máximo tamaño), donde Cirrus OCT demostró tener una menor capacidad discriminadora entre sanos y glaucomatosos. Para papilas muy pequeñas ($\leq 1,56 \text{ mm}^2$), para el grosor average se definió un AUC: 0,78, IC95%: 0,70 a 0,85, $p < 0,001$. Igualmente con papilas grandes ($\geq 2,09 \text{ mm}^2$) la capacidad diagnóstica de Cirrus OCT fue limitada (para el grosor average, AUC: 0,79, IC95%: 0,70 a 0,85, $p < 0,001$).

Análisis de los tamaños de papila entre los pacientes mal diagnosticados

La tabla 3, recoge el análisis del tamaño de las papilas entre los sujetos mal diagnos-

ticados (FP y FN) y los correctamente diagnosticados (VP y VN). En general, los sujetos diagnosticados erróneamente de glaucoma (FP) tuvieron menor área de papila que los diagnosticados correctamente (verdaderos glaucomas). No obstante estas diferencias no fueron estadísticamente significativas salvo en el cuadrante nasal.

Sin embargo, al analizar el área de las papilas que fueron erróneamente clasificadas como sanas siendo glaucomatosas (FN), se vio una diferencia de tamaño estadísticamente significativa en comparación con las papilas de los sujetos verdaderamente sanos, en las mediciones procedentes de todos los cuadrantes (excepto el nasal) y en el grosor average ($p=0,002$). Es decir, se vio una mayor concentración de papilas grandes entre los FN.

DISCUSIÓN

La valoración del tamaño de la papila ha sido clásicamente (25,26) y lo sigue siendo

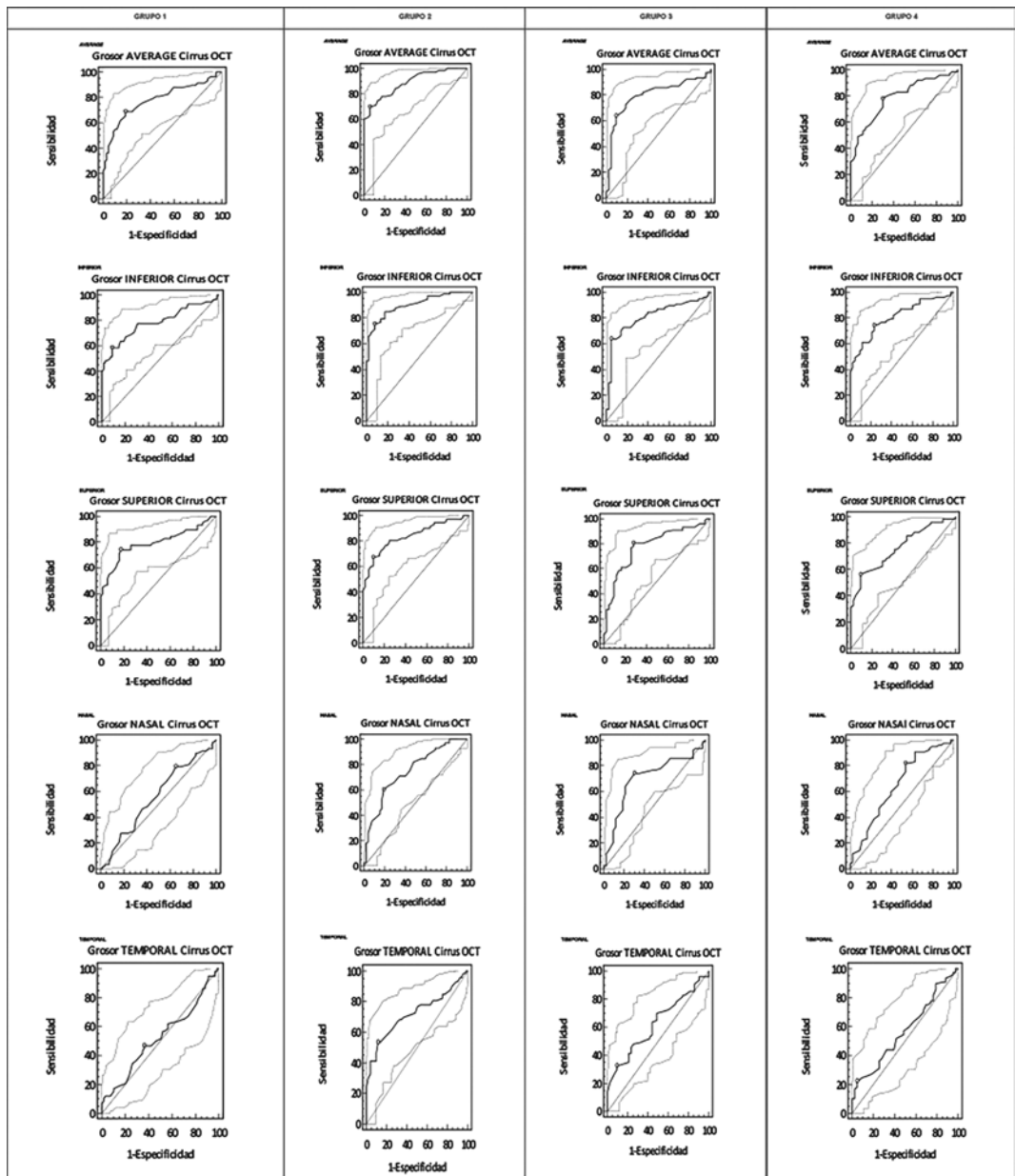


Fig. 3: Curvas ROC con IC95%, representando la capacidad diagnóstica de Cirrus OCT para el grosor average y los cuatro cuadrantes, en cada uno de los cuatro grupos de tamaño de disco establecidos. Se aprecia cómo para los discos de los grupos 2 y 3, se consiguen las mejores AUC, y en todas las localizaciones. Grupo 1: $\leq 1.56 \text{ mm}^2$, Grupo 2: $1.57 \text{ a } 1.78 \text{ mm}^2$, Grupo 3: $1.80 \text{ a } 2.08 \text{ mm}^2$, y Grupo 4: $\geq 2.09 \text{ mm}^2$.

actualmente (27,28), un factor clave en el diagnóstico del glaucoma. Estudios realizados en diferentes grupos poblaciones han sugerido que entre los discos ópticos de mayor tamaño, hay una mayor prevalencia de glaucoma (29). Una de estas poblaciones es la afro-americana en la que se dan ambas condiciones: tener discos ópticos mayores que la población blanca (30), y tener mayor incidencia de glaucoma (31). Sin embargo, también hay estudios que no encuentran relación entre el tamaño papilar y la prevalencia de

glaucoma (32). Por otro lado, también se ha apuntado al tamaño del disco como un factor determinante en la valoración de la CFNR, y Jonas y col. (33), han sugerido que las papilas pequeñas pueden tener una menor reserva de fibras, por lo que pueden ser más susceptibles al daño glaucomatoso, pese a no presentar apenas excavación.

A todo esto, hay que sumar la amplia variación que existe en el tamaño de la papila, tanto interindividual (34) (que oscila entre $1,15$ y $4,94 \text{ mm}^2$) como interracial (35), así

Tabla 3: Distribución del área de los discos ($\text{mm}^2 \pm \text{SD}$) entre los sujetos diagnosticados como enfermos errónea (FP) ó correctamente (VP) (parte superior de la tabla), y los clasificados como sanos errónea (FN) o correctamente (VN) (parte inferior de la tabla)

Área de la papila (mm^2) ($\pm \text{SD}$)		FP	VP	p
	Average		1.71 \pm 0.44	1.82 \pm 0.38
Inferior		1.74 \pm 0.50	1.83 \pm 0.38	0.234
Superior		1.83 \pm 0.41	1.84 \pm 0.38	0.960
Nasal		1.67 \pm 0.44	1.85 \pm 0.35	0.003 *
Temporal		1.78 \pm 0.41	1.85 \pm 0.34	0.303
		FN	VN	p
Average		1.90 \pm 0.37	1.75 \pm 0.36	0.002 *
Inferior		1.88 \pm 0.36	1.75 \pm 0.35	0.007 *
Superior		1.87 \pm 0.34	1.73 \pm 0.37	0.004 *
Nasal		1.85 \pm 0.41	1.78 \pm 0.35	0.193
Temporal		1.83 \pm 0.40	1.73 \pm 0.37	0.028 *

* Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$, t -Student para 2 muestras independientes).

como la controversia sobre la posible influencia de muchos factores. Larrosa y col. (36), han apuntado una posible correlación entre el valor dióptrico y el tamaño de la papila (valores dióptricos negativos, presentarán papilas más grandes), mientras que otros desestiman esta asociación (37). Otros estudios también han valorado la influencia del sexo (38,39), y de la edad (37,38,40), comunicando resultados dispares.

Por todo esto, la interpretación del grosor de la CFNR con las técnicas de imagen de las que disponemos actualmente, debe hacerse con cautela, sobre todo en ojos con tamaños de disco en los límites superior o inferior del rango de normalidad establecido en la base de datos normativa.

Estimación del tamaño papilar

Nuestros resultados, son comparables con los obtenidos por otros autores, aunque exista cierta disparidad entre todos ellos. Para el grupo estudiado de 501 ojos, el área papilar media fue de $1,79 \pm 0,29 \text{ mm}^2$. Caprioli y Miller (41), con un analizador de Rodenstock y sobre 38 ojos, describieron un área de $1,70 \pm 0,37 \text{ mm}^2$. Sin embargo, otros autores han comunicado áreas mayores. Jonas y col. (42) mediante planimetría y sobre 88 ojos, encontraron un área de $2,89 \pm 0,75 \text{ mm}^2$, y en un es-

tudio posterior (43), también con planimetría y sobre 850 ojos, describieron un área de $2,69 \pm 0,69 \text{ mm}^2$. Larrosa y col. (36) con planimetría y sobre 72 ojos, comunicaron un área de $2,32 \pm 0,74 \text{ mm}^2$. Posiblemente, tanta disparidad se deba al empleo de técnicas diferentes y a los diferentes factores de corrección empleados. No obstante, y a pesar de que estos hechos limitarían la comparación de los resultados con otros autores, estas variaciones no obstaculizaron la comparación interindividual entre grupos de estudio, objetivo de este trabajo.

Relación entre el tamaño papilar y la medición de la CFNR

En el presente trabajo, el tamaño del disco (sobre todo al valorar el diámetro vertical), mostró una correlación positiva y moderada con el grosor medio del cuadrante inferior ($r=0,20$, $p=0,002$), y pequeña con el grosor medio average ($r=0,16$, $p=0,02$) medido con Cirrus OCT. Vernon y col. (44), en un trabajo similar realizado con Stratus OCT, también encontraron correlaciones positivas entre grosor medido y área de la papila, que fueron estadísticamente significativas para los cuadrantes verticales y no para la medición average. Dado que las áreas mayores son habitualmente a expensas de un diámetro vertical mayor, y dado que el radio del anillo de medición se mantiene constante, los cuadrantes verticales son las localizaciones que más afectadas van a ver su medición por este hecho. Posiblemente, el efecto que sufran los cuadrantes horizontales sea inverso, y por ello prácticamente no se ve afectada la medición average.

Budenz y col. (45), con Stratus OCT, sí encontraron una asociación entre áreas de disco pequeñas y menor grosor average de la CFNR. Posiblemente, la diferente forma de medir las papilas, y el empleo de diferente aparato, pudieran justificar esta discrepancia.

Influencia del tamaño papilar en la capacidad diagnóstica

En el presente trabajo se dividió la muestra en cuatro cuartiles de tamaños papilares, para obtener grupos de igual tamaño entre

los que comparar la capacidad diagnóstica de Cirrus OCT. Este método ya ha sido empleado anteriormente por algunos autores en un intento de establecer grupos lo más homogéneos posibles y evitar el fenómeno estadístico de la restricción de rango (46).

Para las papilas situadas en el 2.º cuartil (entre 1,57 y 1,78 mm²), Cirrus OCT demostró tener alta exactitud diagnóstica para la medición del cuadrante inferior (AUC: 0,90, IC: 0,83 a 0,95, p<0,001) y del grosor medio average (AUC: 0,89, IC: 0,82 a 0,93, p<0,001). El siguiente cuartil donde Cirrus demostró mejor capacidad diagnóstica fue el 3.º (entre 1,80 y 2,06 mm²), seguido del 4.º ($\geq 2,09$ mm²), y finalmente del 1.º ($\leq 1,56$ mm²). Para todos los grupos, la capacidad diagnóstica basada en medición de la CFNR de los cuadrantes superior, nasal y temporal, fue menor.

Recientemente, Yoon y col. (47), han descrito resultados parecidos con Cirrus OCT. Tras dividir su muestra de 183 ojos (87 normales y 96 glaucomatosos) en 3 grupos de tamaño de disco (pequeños, medianos y grandes), concluyeron que las medidas que logran mejores AUCs para los 3 grupos son la medición Average y del cuadrante inferior. Estudios previos ya han descrito esta asociación entre el tamaño del disco y la capacidad diagnóstica de los parámetros del HRT (48,49) y de Stratus OCT (50-52). Hoesl y col. (53), también estudió la capacidad diagnóstica de HRT-II y su influencia por el cuartil de tamaño de disco sobre el que se aplicara, siendo máxima para el cuartil (2). Nuestros resultados coinciden con los de estos autores, en cuanto a que son las mediciones Average e Inferior las que aportan mejores capacidades diagnósticas, y en cuanto al cuartil de distribución donde la capacidad diagnóstica es superior (aunque difieren en el tamaño de las papilas que constituyen cada cuartil). Posiblemente la diferente técnica empleada para medir el área papilar pudo justificar estas diferencias, que se anularían si habláramos de discos de «tamaño medio».

Por otra parte, Oddone y col. (54), en un estudio posterior sobre 120 ojos en el que comparaban cómo influye el tamaño de la papila en la capacidad diagnóstica de HRT-III, GDx-VCC y Cirrus OCT, concluyeron que HRT-III es la técnica que más se ve afectada por el tamaño del disco, y que esta afectación

es mínima para Cirrus OCT. Posiblemente, el hecho de que estos autores dividen su muestra en 2 grupos («pequeñas» y «grandes»), pueda enmascarar las diferencias entre grupos vistas en nuestro estudio.

En el presente trabajo, el área media de las papilas que fueron erróneamente clasificados como sanas (FN) por Cirrus OCT, fue muy superior (para la medición average, $1,90 \pm 0,37$ mm²) al de las verdaderamente sanas ($1,75 \pm 0,37$ mm²) (p=0,002). De este modo, las papilas grandes glaucomatosas podrían estar infradiagnosticadas. Por tanto, un grosor average, o de alguno de los cuadrantes verticales, con valores aparentemente normales, podría ser erróneamente interpretado como sano en sujetos con papilas grandes (área >1,85 mm²). Por otro lado, hay que mencionar la importancia que en esta correcta clasificación podría tener el tamaño medio de papila incorporado en las bases normativas de Stratus y Cirrus OCT. Según Budenz y col. (55), para Stratus OCT, el tamaño medio de papila incorporado fue de $2,26 \pm 0,51$ mm². Sin embargo, el Cirrus Normative Database Study Group (56), no comunicó este dato referente a Cirrus OCT.

Algunos autores (52), basándose en hallazgos histológicos (57) («los discos grandes tienen un mayor número de fibras»), han justificado que Stratus OCT tuviera menos capacidad diagnóstica para detectar glaucoma en papilas grandes, ya que pacientes con glaucoma inicial y discos grandes, podrían tener en la exploración un grosor de CFNR dentro de lo normal. Sin embargo, este hecho no podría explicar la limitada capacidad diagnóstica que también se observa en papilas muy pequeñas.

Posiblemente la distancia del anillo de medición al reborde papilar, podría explicar ambas situaciones. En este sentido, Gabriele y col. (58), han comunicado cómo varía el grosor de la CFNR medido con Stratus OCT al desplazar vertical y horizontalmente el anillo, y cómo afecta al perfil de doble joroba (picos de medición). Un desplazamiento vertical, variaría la altura de las jorobas (una aumentaría y otra disminuiría) pero no variaría la distancia entre ellas, y por eso no se vería afectado el grosor medio. En cambio, un desplazamiento horizontal, no afectaría a la altura de las jorobas pero sí a la distancia entre ellas (un desplazamiento nasal, las acerca,

y un desplazamiento temporal, las aleja) de modo que se afectaría el grosor medio medido.

Probablemente, y de manera análoga, las papilas grandes estarían desplazadas verticalmente hacia el anillo. Además, este acercamiento sería en los dos polos, por lo que estarían aumentadas las dos jorobas, y el grosor medido resultante sería mayor. Esta misma semejanza se podría trasladar a las papilas pequeñas: un distanciamiento vertical en los dos sentidos, disminuiría el grosor de las dos jorobas y por tanto, también disminuiría el grosor medio medido. Probablemente, en ambas situaciones el efecto del meridiano horizontal sería mínimo, pues como ya se ha comunicado el área del disco esta fuertemente asociada al diámetro vertical y no tanto al horizontal. Por tanto, y para concluir, podemos decir que el tamaño del disco ha demostrado influir de manera significativa en la capacidad diagnóstica de Cirrus OCT, de modo que en valores extremos, tanto papilas grandes como papilas pequeñas, está disminuida la capacidad de Cirrus OCT para discriminar entre ojos sanos y ojos glaucomatosos, en comparación con las papilas normales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Quigley HA, Dunkelberger GR, Green WR. Retinal ganglion cell atrophy correlated with automated perimetry in human eyes with glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 1989; 107: 453-64.
2. Sommer A, Katz J, Quigley HA, et al. Clinically detectable nerve fiber layer atrophy precedes the onset of glaucomatous field loss. *Arch Ophthalmol.* 1991; 199: 77-81.
3. Jonas JB, Papastathopoulos KI. Optic disc shape in glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1996; 234 Suppl1: S167-73.
4. Quigley HA, Brown AE, Morrison JD, et al. The size and shape of the optic disc in normal human eyes. *Arch Ophthalmol.* 1990; 108: 51-7.
5. Lee RY, Kao AA, Vo BN, et al. Ethnic variation in optic disc size by fundus photography. *Curr Eye Res.* 2013; 38: 1142-7.
6. Rao R, Dhrami-Gavazi E, Al-Aswad L, et al. Optic nerve head and retinal nerve fiber layer differences between caribbean black and african american patients as measured by spectral domain OCT. *J Glaucoma* 2013; epub ahead of print
7. Blumenthal EZ, Williams JM, Weinreb RN, et al. Reproducibility of nerve fiber layer thickness measurements by use of optical coherence tomography. *Ophthalmology.* 2000; 107: 2278-2282.
8. Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. *Science.* 1991; 254: 1178-1181.
9. CirrusTM HD-OCT. Details define your decisions. Dublin, CA: Carl Zeiss Meditec. CIR.1595 DS-Nr.: 0-1487-872.
10. Leung CK, Cheung CY, Weinreb RN, et al. Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical Coherence Tomography. A variability and diagnostic performance study. *Ophthalmology.* 2009; 116: 1257-1263.
11. Moreno-Montañés J, Olmo N, Alvarez A, García N, Zarranz-Ventura J. Cirrus high-definition optical coherence tomography compared to Stratus optical coherence tomography in glaucoma diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51: 335-343.
12. Park SB, Sung KR, Kang SY, Kim KR, Kook MS. Comparison of glaucoma diagnostic capabilities of Cirrus HD and Stratus optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol*2009; 127(12): 1603-9.
13. Chang RT, Knighth OJ, Feuer WJ, Budenz DL. Sensitivity and Specificity of Time-Domain versus Spectral –Domain optical coherence tomography in Diagnosis early to moderate glaucoma. *Ophthalmology.*2009; 116(12): 2294-9.
14. Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, Sample PA, Weinreb RN. Influence of disease severity and optic disc size on the diagnostic performance of imaging instruments in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*2006; 47: 1008-15.
15. Kanamori A, Escano MF, Eno A et al. Evaluation of the effect of aging on retinal nerve fiber layer thickness measured by optical coherence tomography. *Ophthalmologica* 2003; 217: 273-8.
16. Hermann MM, Theofylaktopoulos I, Bangard N, et al. Optic nerve head morphometry in healthy adults using confocal laser scanning tomography. *Br J Ophthalmol* 2004; 88: 761-5.
17. Hougaard JL, Ostenfeld C, Heijl A, et al. Modeling the normal retinal nerve fibre layer thickness measured by Stratus optical coherence tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006; 244: 1607-14.
18. Budenz DL, Anderson DR, Vama R, Schuman J, Cantor L, Savell J, et al. Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by stratus OCT. *Ophthalmology* .2007;114:1046-52.
19. Savini G, Zanini M, Carelli V, Sadun AA, et al. Correlation between retinal nerve fibre layer thickness and optic nerve head size: an optical coherence tomography study. *Br J Ophthalmol.*2005; 89: 489-9216.

20. Yu S, Tanabe T, Hangai M, et al. Scanning laser polarimetry with variable corneal compensation and optical coherence tomography in tilted disk. *Am J Ophthalmol.* 2006; 142: 475-82.
21. Caprioli J. Automated perimetry in glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 1991; 111: 235-9.
22. Moreno-Montañés J, Antón A, Olmo N, Bonet E, Alvarez A, Barrio-Barrio J, García-Granero M, Gómez-Muñoz A. Misalignments in the Retinal Nerve Fiber Layer Evaluation Using Cirrus High-definition Optical Coherence Tomography. *J Glaucoma* 2011; 20: 559-65.
23. Tape TG. Interpretating Diagnostic Tests. Available at: <http://gim.unmc.edu/dxtests/Default.htm>. Accessed April 25, 2010.
24. Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under the receiver operating curves derived from the same cases. *Radiology.* 1983; 148: 839-43.
25. Jonas JB, Budde WM, Pand-Jonas S. Ophthalmoscopic evaluation of the optic nerve head. *Surv Ophthalmol.* 1999; 43: 293-320.
26. Azuara-Blanco A, Katz Lj, Spaeth Gl et al. Detection of changes of the optic disc in glaucomatous eyes: clinical examination and image analysis with Topcon Imaginet system. *Acta Ophthalmol Scand.* 2000; 78: 647-50.
27. Jonas JB, Bergua A, Schmitz-Valckenberg P, et al. Ranking of optic disc variables for detection of glaucomatous optic nerve damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000; 41: 1764-73.
28. Zeyen T, Miglior S, Pfeiffer N, et al. Reproducibility of evaluation of optic disc change for glaucoma with stereo optic disc photographs. *Ophthalmology.* 2003; 110: 340-4.
29. Wang L, Damji KF, Munger R, et al. Increased disk size in glaucomatous eyes vs normal eyes in the Reykjavik eye study. *Am J Ophthalmol.* 2003; 135: 226-8.
30. Zangwill LM, Weinreb RN, Berry CC, et al. Racial differences in optic disc topography: baseline results from confocal scanning laser ophthalmoscopy ancillary study to the ocular hypertension treatment study. *Arch Ophthalmol.* 2004; 122: 22-8.
31. Friedman DS, Wolfs RC, O'Colmain BJ, et al. Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the United States. *Arch Ophthalmol.* 2004. 122(4):532-538.
32. Seider MI, Lee RY, Wang D, Pekmezci M, Porco TC, Lin SC. Optic disc size variability between african, asina, white, hispanic, and filipo americans using Heidelberg Retinal Tomography. *J Glaucoma.* 2009; 18: 595-600.
33. Jonas JB, Fernández MC, Naumann GOH. Correlation of the optic disc size to glaucoma susceptibility. *Ophthalmology.* 1991; 98: 675-80.
34. Jonas JB, Gusek GC, Guggenmoos-Holzmann I, auman GOH. Siza of the optic nerve scleral canal and comparison with intravital determination of optic disc dimensions. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1988; 226: 213-5.
35. Quigley HA, Browd AE, Morrison JD, Drance SM. The size and shape of the disc in normal human eyes. *Arch Ophthalmol.* 1990; 108: 51-7.
36. Larrosa JM, Sánchez A, Pinilla I, Abecia E, Pablo L, Polo V, Honrubia FM. Medición del tamaño papilar en ojos sanos. *Arch Soc Esp Oft.* 1998.
37. Jonas JB, Gusek GC, Naumann GO. Optic disc, cup and neuroretinal rim size, configuration and correlations innormal eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1988; 29: 1151-8.
38. Ramrattan RS, Wolfs RC, Naumann GO. Determinants of optic disc characteristics in a general population: the Rotterdam study. *Ophthalmology.* 1999; 106: 1588-96.
39. Varma R, Tielsch JM, Quigley HA, et al. Race-, age-, gender-, and refractive error-related differences in the normal optic disc. *Arch Ophthalmol.* 1994; 112: 1068-76.
40. Durukan AH, Yucel I, Akar Y, et al. Assessment of optic nerve head topographic parameters with a confocal scanning laser ophthalmoscope. *Clin Exp Ophthalmol.* 2004; 32: 259-64.
41. Caprioli J, Miller JM. Optic disc rim area is related to disc size in normal subjects. *Arch Ophthalmol.* 1987; 105: 1683-5.
42. Jonas JB, Gusek GC, Guggenmoos-Holzmann I, Naumann GOH. Variability of the real dimensions of normal human discs Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol. 1988; 226: 332-6.
43. Jonas JB. Size of glaucomatous optic discs. *Ger J Ophthalmol.* 1992; 1: 41-44.
44. Vernon SA; Rotchford AP, Negi A, et al. Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in highly myopic Caucasians as measured by Stratus optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol.* 2008; 92: 1076-80.
45. Budenz DL, Anderson DR, Varma R, Schuman J, Cantor L, Savell, et al. determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by Stratus OCT. *Ophthalmology.* 2007; 114: 1046-52.
46. Hawker MJ, Vernon SA, Tattersall CL, Dua HS. Linear regression modeling of rim area to discriminate between normal and glaucomatous optic nerve heads: the Bridlington Eye Assessment Project. *J Glaucoma.* 2007; 16: 345-51.
47. Yoon MH, Park SJ, Kim Cy, et al. Glaucoma diagnosis value of the total macular thickness and ganglion cell-inner plexiform layer thickness according to optic disc area. *Br J Ophthalmol.* 2014; 98: 315-21.
48. Iester M, Mikelberg FS, Drance SM. The effect od optic size on diagnostic precisiónwith the Heidleberg retina tomograph. *Ophthalmology.* 1997; 104: 545-8.

49. Yang H, Downs JC, Girkin C, et al. 3-D histomorphometry of the normal and early glaucomatous monkey optic nerve head: lamina cribosa and peripapillary scleral position and thickness. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*2007; 48: 4597-607.
50. Savini G, Zanini M, Carelli V, Sadun AA, et al. Correlation etween retinal nerve fiber layer thickness and optic nerve head size: an optical coherence tomography study. *Br J Ophthalmol.*2005; 89: 489-92.
51. Bowd C, Zangwill LM, Blumenthal EZ, et al. Imaging of the optic disc and retinal nerve fiber layer: the effects of age, optic disc area, refractive error, and gender. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis.*2002; 19: 197-207.
52. Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, Sample PA, Weinreb RN. Influence of disease severity and optic disc size on the diagnostic performance of imaging instruments in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*2006; 47: 1008-15.
53. Hoels LM, Mardin CY, Horn FK, Juenemann AGM, Laemmer RL. Influence of glaucomatous damage and optic disc size on glaucoma detection by scanning laser tomography. *J Glaucoma.*2009; 18: 385-9.
54. Oddone F, Centofanti M, Tanga L, et al. Influence of disc size on optic nerve head versus retinal nerve fiber layer assessment for diagnosing glaucoma. *Ophthalmology* 2011; 118: 1340-7.
55. Budenz DL, Anderson DR, Vama R, Schuman J, Cantor L, Savell J, et al. Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by stratus Oct. *Ophthalmol.*2007; 114: 1046-52.
56. Lam D, Leung C, Werner J, Sacramento D, Girkin C, Budenz D, Schumann J, Wollstein G et al. Cirrus Normative Database Study Group.
57. Jonas JB, Schmidt AM, Müller-Bergh JA, Schlötzer-Schrehard UM, Naumann GO. Human optic nerve fiber count and optic disc size. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*1992;33:2012-8.
58. Gabriele ML, Ishikawa H, Wollstein G, Bilonick RA, Townsend KA, Kagemann L, Wojtkowski M et al. *Invest Ophthalmol Vic Sci.* 2008; 49: 2315-21.