

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE OFTALMOLOGÍA



EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN INTRAVÍTREA  
DE RANIBIZUMAB SOBRE EL GROSOR DE LA CAPA DE FIBRAS  
NERVIOSAS DE LA RETINA

TESIS DOCTORAL DE:  
**AURORA RUIZ CALVO**

BAJO LA DIRECCIÓN DE:  
**JOSÉ MARÍA MARTÍNEZ DE LA CASA**  
**JULIÁN GARCÍA FEIJOÓ**

Madrid, 2013

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN  
INTRAVÍTREA DE RANIBIZUMAB SOBRE EL GROSOR DE  
LA CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Aurora Ruiz Calvo**

Bajo la dirección de los doctores

José María Martínez de la Casa  
Julián García Feijóo

Madrid, 2013



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN  
INTRAVÍTREA DE RANIBIZUMAB SOBRE EL GROSOR DE LA  
CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID



Memoria presentada por

**AURORA RUIZ CALVO**

para optar al grado de Doctor

Madrid, 2013



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN  
INTRAVÍTREA DE RANIBIZUMAB SOBRE EL GROSOR DE LA  
CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA**

**AURORA RUIZ CALVO**

**Tesis Doctoral**

**Universidad Complutense de Madrid**

**Directores**

**VºBº**

**José María Martínez de la Casa**

Profesor Titular de Oftalmología

**Julián García Feijóo**

Catedrático de Oftalmología

Hospital Clínico San Carlos  
Universidad Complutense, Madrid



**José María Martínez de la Casa**, Profesor Titular de Oftalmología del Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología de la Universidad Complutense de Madrid, como **director**,

y

**Julián García Feijoó**, Catedrático de Oftalmología del Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología de la Universidad Complutense de Madrid, como **director**,

### **CERTIFICAN**

Que la presente memoria de Tesis titulada “**Evaluación Del Efecto De La Administración Intravítrea De Ranibizumab Sobre El Grosor De La Capa De Fibras Nerviosas De La Retina**” ha sido realizada bajo nuestra dirección por Dña. Aurora Ruiz Calvo desde el año 2007 en el Departamento de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, para optar al grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid. Hacemos constar que la citada Tesis reúne todos los requisitos necesarios para su defensa y aprobación.

Y, para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en

Madrid, 2013

**José María Martínez de la Casa Fdez-Borrella**

Profesor Titular de Oftalmología

**Julián García Feijoó**

Catedrático de Oftalmología

Hospital Clínico San Carlos

Universidad Complutense, Madrid





## **AGRADECIMIENTOS**

## AGRADECIMIENTOS

A mis tutores, **José María** y **Julián**, por sus ideas, su atención, su paciencia y su espíritu crítico. Gracias por confiar en mí para este proyecto.

A **Rosa** y **Cecilia**, enfermeras de AFG, por su incansable ayuda y aliento, por todo el cariño que me dieron.

A **Maite**, optometrista, y **Teresa**, enfermera del departamento de Glaucoma, por su gran sentido de la organización, por su interés y su apoyo.

A **Cristina Fernández**, a **Luis Terceros** y a **Federico**, por su gran paciencia y ayuda con la estadística.

A **Juan Donate**, **Cristina Calvo**, **Juan Reche** y **María Jiménez**, del departamento de Retina, que cuidaron de nuestros pacientes en común y procuraron que todo saliera adelante.

A **Silvia**, a **Alicia**, a todos los compañeros y amigos residentes que me ayudaron.

A las **enfermeras del quirófano**, **auxiliares** y **celadores**, indispensables en la logística y en hacer agradables las largas tardes en el quirófano.

A **José Luis** y **Feli**, por flexibilizar el tiempo y ayudar en cualquier momento.

A mis padres, **Gabriel** y **María Jesús**, y a mi hermano **Gabriel**, por su ejemplo de superación, su cariño y por su apoyo continuo.

A **José**, mi compañero, por su incansable ánimo, sus ideas, su comprensión y su ayuda en todo momento.

A los **pacientes**, cuyo espíritu científico y de ayuda a la ciencia es digno de admiración.

Me habéis brindado la oportunidad de terminar esta tesis doctoral, la vuestra. Siempre os estaré agradecida.

## ÍNDICE



## ÍNDICE

	<b>Página</b>
Agradecimientos	10
Índice	11
<a href="#">Resumen</a>	19
<a href="#">Summary</a>	27
Lista de abreviaturas	35
Hallazgos originales de la Tesis	41
Publicaciones y Comunicaciones a Congresos.	43
Justificación e Hipótesis	47
<a href="#">1- Introducción</a>	51
1.1 El Glaucoma	53
1.1.1 Definición de glaucoma	53
1.1.2 Lesión glaucomatosa	54
1.1.3 Células ganglionares	55
1.1.4 Epidemiología	56
1.1.5 Clasificación del glaucoma	57
1.1.6 Factores de riesgo del glaucoma crónico de ángulo abierto	59
1.1.7 Diagnóstico del glaucoma	64
1.1.8 Métodos de medida de la presión intraocular	66
1.1.9 Importancia del diagnóstico precoz	68
1.2 La Degeneración Macular Asociada a la Edad	70
1.2.1 Definición y clasificación	70
1.2.2 Epidemiología	73
1.2.3 Patogenia	73
1.2.4 Factores de riesgo	74

1.2.5	Presentación clínica	75
1.2.6	Diagnóstico	75
1.2.7	Tratamiento	77
1.2.7.1	DMAE seca	77
1.2.7.2	DMAE exudativa	77
1.2.7.3	Efectos secundarios de los anti-VEGF	83
1.3	Análisis de la capa de fibras nerviosas	84
1.3.1	Anatomía de la Retina	84
1.3.2	Sistemas para cuantificar los defectos de la CFNR	85
1.3.2.1	Fotografía	85
1.3.2.2	GDx	87
1.3.2.3	HRT	88
1.3.3	Tomografía de coherencia óptica	89
1.3.3.1	OCT de dominio tiempo	89
1.3.3.2	OCT de dominio espectral o Fourier	93
1.3.3.3	Artefactos de la OCT	98
1.3.4	Anatomía de la CFNR desde la OCT	99
1.3.5	Evaluación clínica de la capa de fibras nerviosas	101
2-	Objetivos	105
3-	Material y métodos	109
3.1	Diseño del estudio	111
3.2	Clasificación de los grupos	111
3.2.1	Casos	111
3.2.2	Controles	112
3.3	Criterios de inclusión y exclusión	112

3.4 Variables recogidas	113
3.5 Calendario de visitas	114
3.6 Consentimiento informado	115
3.7 Anamnesis y exploración oftalmológica	116
3.7.1 Historia clínica general y oftalmológica	116
3.7.2 Exploración oftalmológica	117
3.8 Adquisición de datos	117
3.8.1 OCT de dominio temporal Stratus®	117
3.8.2 OCT de dominio tiempo Spectralis®	118
3.9 Método estadístico	121
<b>4- Resultados</b>	123
4.1 Estadística descriptiva	125
4.1.1 Características del grupo de estudio	125
4.1.2 Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio espectral	127
4.1.3 Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio temporal	130
4.2 Estadística analítica	133
4.2.1 Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio espectral	133
4.2.2 Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio temporal	134
4.2.3 Cambios en el grosor macular y correlación con la CFNR	135

4.3.4 ¿Influye el número de inyecciones en la pérdida de CFNR?	136
5- <b>Discusión</b>	137
5.1 Comentario sobre la metodología del estudio	139
5.2 Características del grupo de estudio	140
5.3 Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio espectral	141
5.4 Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio temporal	144
5.5 Comentario sobre la relación entre OCT de dominio espectral y OCT de dominio temporal	145
5.6 Presión intraocular	146
5.6.1 Cambios en la PIO a CORTO plazo	147
5.6.2 Cambios en la PIO a LARGO plazo	148
5.7 Inyecciones de antiVEGF y glaucoma	149
5.8 Toxicidad directa de Ranibizumab	150
5.9 Cambios en la CFNR asociados a la edad y a otros factores	150
5.10 CFNR y anti VEGF	153
5.11 Edema macular y su influencia en la CFNR	153
5.12 Importancia de la pérdida de CFNR	154
5.13 Limitaciones del estudio	154

6- Conclusiones	157
7- Bibliografía	161
8- Anexos	183
I. Documento de aprobación por Comité de Ética	185
II. Cuaderno de recogida de datos	187
III. Hoja de información al paciente	195
IV. Consentimiento informado	199
V. Publicación	201



## **RESUMEN**



### INTRODUCCIÓN

El glaucoma y la degeneración macular asociada a la edad son las dos causas más frecuentes de ceguera irreversible en los países desarrollados. En el glaucoma, se produce una pérdida progresiva en la capa de fibras nerviosas de la retina que se traduce en una pérdida progresiva de campo visual y que en fases avanzadas puede conducir a la ceguera. En la degeneración macular asociada a la edad de tipo exudativo, la proliferación de neovasos en el área macular y la consiguiente exudación y sangrado, pueden comprometer de forma irreversible la visión central.

La introducción de los fármacos inhibidores del factor de crecimiento endotelial vascular como el ranibizumab, el bevacizumab o el pegaptanib ha supuesto una revolución en el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad exudativa, permitiendo la estabilización de la enfermedad en un elevado porcentaje de casos. La administración intravítrea de estos fármacos provoca elevaciones de la presión intraocular que en la mayoría de los casos son autolimitadas, pero que en ocasiones pueden requerir tratamiento. Frecuentemente, los pacientes necesitan inyecciones cada 4-6 semanas, con la consiguiente exposición continuada al fármaco y a los breves periodos de hipertensión ocular. Hasta el momento, no se ha evaluado el efecto que estos picos de presión intraocular pudieran tener sobre el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina, así como el posible efecto tóxico directo del fármaco tras las inyecciones repetidas necesarias para el tratamiento.

La tomografía de coherencia óptica es un método de no contacto que permite obtener imágenes pseudohistológicas de la retina, el nervio óptico y la capa de fibras nerviosas de la retina. Desde su introducción en la oftalmología, hace aproximadamente una década, su uso se ha diseminado en la práctica clínica y representa uno de los métodos más útiles para documentar y analizar la morfología de la capa de fibras nerviosas de la retina. Los nuevos tomógrafos de coherencia óptica de dominio espectral o Fourier, al aportar una mayor resolución axial (5 micras) con respecto a las tradicionales de dominio temporal (10-15 micras de resolución axial) y una mayor velocidad de adquisición de la imagen (26000 cortes

por segundo), permiten detectar cambios más incipientes en el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina. Además, estas características hacen que las imágenes se vean menos influenciadas por los movimientos sacádicos oculares y que la calidad sea mucho mejor.

## OBJETIVOS

1º) Evaluar de forma prospectiva los cambios en la capa de fibras nerviosas de la retina inducidos por la administración intravítrea de fármacos inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial.

2º) Evaluar el efecto de la administración intravítrea de fármacos inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial sobre la presión intraocular.

3º) Evaluar la posible toxicidad directa (presión-independiente) de los fármacos inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial sobre la capa de fibras nerviosas de la retina.

4º) Evaluar la correlación entre las tomografías de coherencia óptica de dominio temporal y las de dominio espectral en la medida de la capa de fibras nerviosas de la retina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El siguiente es un estudio longitudinal prospectivo de cohortes diseñado para analizar la densidad de la capa de fibras nerviosas de la retina en pacientes con degeneración macular asociada a la edad tratados con ranibizumab intravítreo (solución inyectable 10 mg/ml, 0.5 mg o 0.05 ml) con un año de seguimiento programado. Para realizar las mediciones de la capa de fibras nerviosas de la retina, se utilizó el protocolo “RNFL thickness” del tomógrafo de coherencia óptica de dominio espectral o Fourier Spectralis® y el tomógrafo de coherencia óptica de dominio tiempo Stratus®. Se registraron los valores basales y al mes tras la primera inyección intravítrea, a los 3 meses, a los 6 meses y a los 12 meses.

Se tomó la PIO a cada paciente antes y una hora después de cada inyección. Se registró cualquier aumento de más de 5 mmHg. Si la PIO era mayor de 30 mmHg a la hora de la

inyección, se prescribía un hipotensor tópico y se citaba al paciente al día siguiente para un nuevo control de PIO.

Se seleccionaron 54 pacientes consecutivos diagnosticados de degeneración macular asociada a la edad exudativa en el departamento de Retina del Hospital Clínico San Carlos que fueran a recibir por primera vez inyecciones intravítreas de ranibizumab. Se incluyeron personas de ambos sexos con edad para otorgar el consentimiento legal, posibilidad de completar el curso del estudio y cumplir adecuadamente con las instrucciones. A cada sujeto de estudio se le realizó una completa historia ocular y sistémica. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado antes de cualquier procedimiento del estudio.

Fueron seleccionados como controles los ojos adelfos que no cumplían criterios de exclusión y no tuvieran degeneración macular asociada a la edad susceptible de tratamiento.

El diagnóstico de la degeneración macular asociada a la edad se estableció por la demostración de la aparición anómala de neovasos coroideos o de una membrana neovascular coroidea que puede manifestarse como desprendimiento del epitelio pigmentario de la retina o del neuroepitelio, tanto seroso como hemorrágico, con exudación hacia el tejido retiniano. Las pruebas diagnósticas que se utilizaron fueron la tomografía de coherencia óptica de dominio Fourier Spectralis® y la angiofluoresceingrafía. El protocolo seguido en el Servicio de Retina para el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad sigue las pautas de la Agencia Europea del Medicamento. Este estudio no ha interferido en estas pautas y su aplicación ha sido la habitual. La dosis de carga habitual de ranibizumab intravítreo es de una inyección al mes durante los tres primeros meses tras el diagnóstico y, posteriormente, una nueva inyección en caso de demostrarse reactivación de la lesión exudativa en la retina (pro re nata).

## RESULTADOS:

La incidencia de picos hipertensivos (incremento de PIO mayor de 5 mmHg) a la hora de la inyección fue del 0.4%. Ningún paciente requirió tratamiento hipotensor por incrementos mayores de 10 mmHg. En ningún caso se registraron picos hipertensivos en los controles de las 24 horas postinyección.

OCT DE DOMINIO ESPECTRAL	Casos (n=49)	Controles (n=27)
<b>Promedio grosor CFNR</b>		
Basal	105.7 ± 12.2	101.8 ± 11.6
12 meses	100.1 ± 11.0	100.5 ± 10.8
Diferencia	5.6 ± 9.1	1.3 ± 9.6
p	<b>&lt;0.001</b>	0.477
<b>Cuadrante Superior</b>		
Basal	126.0 ± 23.4	118.0 ± 17.7
12 meses	118.7 ± 20.0	119.4 ± 17.7
Diferencia	7.3 ± 22.9	-1.4 ± 18.7
p	<b>0.030</b>	0.695
<b>Cuadrante Nasal</b>		
Basal	82.7 ± 19.9	79.1 ± 12.6
12 meses	78.8 ± 14.3	77.2 ± 12.8
Diferencia	3.9 ± 14.6	1.9 ± 9.9
p	0.064	0.333
<b>Cuadrante Inferior</b>		
Basal	130.3 ± 16.6	124.1 ± 22.7
12 meses	126.3 ± 14.6	127.3 ± 29.3
Diferencia	4 ± 9.4	-3.1 ± 28
p	<b>0.005</b>	0.562
<b>Cuadrante Temporal</b>		
Basal	87.1 ± 22.5	85.2 ± 17.7
12 meses	76.1 ± 14.5	81.6 ± 19.3
Diferencia	11 ± 20.2	3.6 ± 14.4
p	<b>&lt;0.001</b>	0.201
<b>ANOVA para medidas repetidas casos-contróles (grosor promedio): p= 0.065</b>		

Media +/- DE (micras). CFNR: Capa de Fibras Nerviosas de la Retina.

Tabla A: La tabla muestra el espesor medio de la CFNR medido con OCT de dominio espectral, así como el de cada cuadrante, al inicio y al final del seguimiento. Se hallaron diferencias significativas en el promedio y en los cuadrantes superior, inferior y temporal en el grupo de los casos, mientras que no se encontraron diferencias en el grupo control en ninguno de los cuadrantes.

OCT DE DOMINIO TEMPORAL	Casos (n=49)	Controles (n=27)
<b>Promedio grosor CFNR</b>		
Basal	101.6 ± 14.2	97.5 ± 16.3
12 meses	96.9 ± 16.8	94.8 ± 13.7
Diferencia	4.2 ± 8.8	3.6 ± 10.6
p	<b>0.003</b>	0.135
<b>Cuadrante Superior</b>		
Basal	115.4 ± 22.3	113.4 ± 23.2
12 meses	108.8 ± 29.1	109.1 ± 27.5
Diferencia	6.2 ± 17.5	3.8 ± 18
p	<b>0.028</b>	0.344
<b>Cuadrante Nasal</b>		
Basal	85.7 ± 25.1	83.6 ± 26
12 meses	77.7 ± 24.2	76.4 ± 19.2
Diferencia	8.19 ± 24.2	9.4 ± 20.7
p	<b>0.036</b>	0.05
<b>Cuadrante Inferior</b>		
Basal	129.7 ± 20	123.6 ± 30.1
12 meses	127.4 ± 23.0	119.8 ± 22.2
Diferencia	2.6 ± 20	5.33 ± 23.8
p	0.396	0.318
<b>Cuadrante Temporal</b>		
Basal	74.6 ± 20.4	68.9 ± 15.7
12 meses	73.0 ± 16.1	70.8 ± 16.2
Diferencia	0.7 ± 19	-1.67 ± 11
p	0.819	0.497
<b>ANOVA para medidas repetidas casos-contróles (grosor promedio): p= 0.465</b>		

Media +/- DE (micras). CFNR: Capa de Fibras Nerviosas de la Retina.

Tabla B: La tabla muestra el espesor medio de la CFNR medido con OCT de dominio temporal, así como el de cada cuadrante, al inicio y al final del seguimiento. Se hallaron diferencias significativas en el promedio y en los cuadrantes superior y nasal en el grupo de los casos, mientras que no se encontraron diferencias en el grupo control en ninguno de los cuadrantes.

#### CONCLUSIONES:

1) La administración repetida de ranibizumab intravítreo para el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad se asocia a una disminución significativa en el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina a los 12 meses.

2) No se han registrado picos hipertensivos mantenidos significativos una hora después de las inyecciones.

3) No se ha podido establecer el mecanismo por el cual se pierde grosor en la capa de fibras nerviosas de la retina.

4) El uso del tomógrafo de coherencia óptica de dominio espectral ha supuesto una mejora en la toma de medidas de la capa de fibras nerviosas de la retina, no siendo comparables los resultados con los del tomógrafo de coherencia óptica de dominio temporal.

## **SUMMARY**



### INTRODUCTION

Glaucoma and age-related macular degeneration (AMD) are the two leading causes of irreversible blindness in developed countries. In glaucoma, the retinal nerve fiber layer (RNFL) becomes gradually thinner and this leads to visual field loss, which in advanced stages can produce blindness. In neovascular or exudative AMD, the wet form of AMD, abnormal blood vessel growth leads to blood and protein leakage below the macula causing irreversible damage to the photoreceptors and rapid central vision loss if left untreated.

The recent introduction of drugs that inhibit vascular endothelial growth factor (anti-VEGF) like ranibizumab, bevacizumab or pegaptanib have revolutionized the treatment of neovascular AMD. When directly injected into the vitreous humor, these drugs prevent the advance of neovascular AMD in an elevated number of patients. However, exposure to an anti-angiogenic drug, usually given as monthly or six-weekly injections, often induces intraocular pressure (IOP) elevations, which are usually self-limiting but sometimes may require treatment. So far, the literature lacks studies that have assessed the effect of repeated ranibizumab injections on the RNFL.

Fourier domain optical coherence tomography is a non contact method that allows to obtain pseudo histological images of the retina, and of the optic nerve. Since it was introduced approximately a decade ago in the Ophthalmology, its use has been spread in the clinical practice and represents one of the most useful methods to document and analyze the RNFL. The new optical coherence tomographs obtain a major axial resolution (5 microns) if we compare to the traditional tomographs of time domain (10-15 microns of axial resolution). Also, they have a major speed of acquisition of the image (26000 images per second), allowing to detect more incipient changes in the RNFL thickness. In addition, these characteristics improve the image quality, despite the saccadic ocular movements.

## OBJECTIVE

- 1st) To determine RNFL modifications induced by treatment of neovascular AMD.
- 2nd) To assess any IOP-dependent effects of intravitreal ranibizumab in the RNFL.
- 3rd) To assess any IOP-independent effects of intravitreal ranibizumab in the RNFL.
- 4th) To evaluate the correlation between Spectral Domain-OCT and TimeDomain-OCT.

## METHODS

We designed a prospective longitudinal cohort study of one year's duration to assess RNFL thickness in patients with AMD treated with intravitreal ranibizumab (injectable solution of 10 mg/mL, 0.5 mg or 0.05 mL). Consecutive patients with neovascular AMD who were to undergo first time treatment with intravitreal ranibizumab were enrolled. The diagnosis of neovascular AMD was made on the basis of an abnormal appearance of choroid neovessels or of a choroid vascular membrane which could manifest as pigment epithelium or neuroepithelium, both serous or hemorrhagic, with exudation towards the retinal tissue. The dosing regimen of ranibizumab was monthly 0.05 mL injections for three months following diagnosis and a further injection if there was exudative lesion reactivation on the retina. As controls, fellow eyes that did not fulfill the exclusion criteria and showed no AMD requiring treatment were selected. Patients were excluded if they had poorly controlled AMD, were unable to cooperate, had received prior treatment for AMD, had optic nerve disease including glaucoma, elevated IOP, factors associated with secondary glaucoma, any active eye disease (eg, uveitis, infection or dry eye syndrome), an eye condition or disease that might contraindicate the programmed tests or patients whose disease or health state in the opinion of the investigator could significantly increase the risks of treatment, interfere with the study results or considerably impair their participation in the study.

The following variables were recorded for each eye: type of neovascular membrane (classic, predominantly classic, minimally classic, occult, retinal angiomatous proliferation or polypoidal choroidal vasculopathy), age, sex, number of injections received at 1, 3, 6 and 12

months, best-corrected visual acuity (BCVA) at baseline and 1, 3, 6 and 12 months after treatment onset. Over the course of follow up, RNFL thickness and macular thickness were measured by spectral domain OCT (Spectralis® SD-OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) and by time domain OCT (Stratus® TD-OCT, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA). A pupil diameter of at least 4 mm was required for scanning. RNFL thickness measurements (diameter 3.5 mm), were obtained at baseline and at 3, 6 and 12 months of follow up.

IOP was measured in each patient before each injection and one hour after the injection procedure. Any pressure elevation above 5 mmHg was recorded. If IOP was higher than 30 mmHg, topical IOP-lowering medication treatment was prescribed and the patient reassessed after 24 hours.

## RESULTS

Fifty four patients who fulfilled the inclusion criteria were included in the study. 49 eyes were deemed valid as cases and 27 fellow eyes met the requirements as controls.

The incidence of pressure spikes (IOP elevation greater than 5 mmHg) following the injection procedure was 0.4%. No patient required IOP-lowering treatment for spikes greater than 10 mmHg.

<b>SPECTRAL DOMAIN OCT</b>	<b>Cases (n=49)</b>	<b>Controls (n=27)</b>
<b>Average RNFL thickness</b>		
Baseline	105.7 ± 12.2	101.8 ± 11.6
12 months	100.1 ± 11.0	100.5 ± 10.8
Change from baseline	5.6 ± 9.1	1.3 ± 9.6
p	<b>&lt;0.001</b>	0.477
<b>Superior Quadrant</b>		
Baseline	126.0 ± 23.4	118.0 ± 17.7
12 months	118.7 ± 20.0	119.4 ± 17.7
Change from baseline	7.3 ± 22.9	-1.4 ± 18.7
p	<b>0.030</b>	0.695
<b>Nasal Quadrant</b>		
Baseline	82.7 ± 19.9	79.1 ± 12.6
12 months	78.8 ± 14.3	77.2 ± 12.8
Change from baseline	3.9 ± 14.6	1.9 ± 9.9
p	0.064	0.333
<b>Inferior Quadrant</b>		
Baseline	130.3 ± 16.6	124.1 ± 22.7
12 months	126.3 ± 14.6	127.3 ± 29.3
Change from baseline	4 ± 9.4	-3.1 ± 28
p	<b>0.005</b>	0.562
<b>Temporal Quadrant</b>		
Baseline	87.1 ± 22.5	85.2 ± 17.7
12 months	76.1 ± 14.5	81.6 ± 19.3
Change from baseline	11 ± 20.2	3.6 ± 14.4
p	<b>&lt;0.001</b>	0.201
<b>Repeated measures ANOVA cases-controls (Average thickness): p= 0.065</b>		

Mean ± SD (microns)

Table A provides the mean RNFL thicknesses recorded by quadrant (superior, nasal, inferior and temporal) at the basis and at the end of follow up with measured with spectral domain OCT. Significant differences compared with baseline were observed in average, superior, inferior, and temporal quadrants in the case group, while no differences were found in the control group in any quadrant.

<b>TIME DOMAIN OCT</b>	<b>Cases (n=49)</b>	<b>Controls (n=27)</b>
<b>Average RNFL thickness</b>		
Baseline	101.6 ± 14.2	97.5 ± 16.3
12 months	96.9 ± 16.8	94.8 ± 13.7
Change from baseline	4.2 ± 8.8	3.6 ± 10.6
p	<b>0.003</b>	0.135
<b>Superior Quadrant</b>		
Baseline	115.4 ± 22.3	113.4 ± 23.2
12 months	108.8 ± 29.1	109.1 ± 27.5
Change from baseline	6.2 ± 17.5	3.8 ± 18
p	<b>0.028</b>	0.344
<b>Nasal Quadrant</b>		
Baseline	85.7 ± 25.1	83.6 ± 26
12 months	77.7 ± 24.2	76.4 ± 19.2
Change from baseline	8.19 ± 24.2	9.4 ± 20.7
p	<b>0.036</b>	0.05
<b>Inferior Quadrant</b>		
Baseline	129.7 ± 20	123.6 ± 30.1
12 months	127.4 ± 23.0	119.8 ± 22.2
Change from baseline	2.6 ± 20	5.33 ± 23.8
p	0.396	0.318
<b>Temporal Quadrant</b>		
Baseline	74.6 ± 20.4	68.9 ± 15.7
12 months	73.0 ± 16.1	70.8 ± 16.2
Change from baseline	0.7 ± 19	-1.67 ± 11
p	0.819	0.497
<b>Repeated measures ANOVA cases-controls (Average thickness): p= 0.465</b>		

Mean ± SD (microns)

Table B provides the mean RNFL thicknesses recorded by quadrant (superior, nasal, inferior and temporal) at the basis and at the end of follow up measured with time domain OCT. Significant differences compared with baseline were observed in average, superior, and nasal quadrants in the case group, while no differences were found in the control group in any quadrant.

#### CONCLUSIONS:

1st) Intravitreal ranibizumab injections used to treat AMD are associated with a significant decrease in retinal nerve fiber layer thickness after 12 months of follow up.

2nd) There has been no significant hypertensive peaks maintained one hour after injections.

3rd) We have failed to establish the thickness loss mechanism of the retinal nerve fiber layer.

4th) Compared to temporal domain OCT, Fourier domain OCT offers better resolution and reproducibility of measures, and we can not compare the results between both devices.

## **ABREVIATURAS**



## LISTA DE ABREVIATURAS

ABC:	Área bajo la curva
AFG:	Angiofluoresceingrafía
AV:	Agudeza visual
AVI:	Angiografía con verde de Indocianina
CFNR:	Capa de fibras nerviosas de la retina
CV:	Campo visual
DE:	Desviación estándar
DM:	Diabetes Mellitus
DMAE:	Degeneración macular asociada a la edad.
EPR:	Epitelio pigmentado de la Retina
ERG:	Electrorretinograma
FDA:	Food and Drug Administration
GCAA:	Glaucoma crónico de ángulo estrecho
GDx:	Analizador de fibras nerviosas con polarimetría láser
HRT:	Tomografía retiniana de Heidelberg
I:	Sector inferior de la CFNR
IC:	Intervalo de confianza
ICE:	Iridocorneoendotelial
N:	Sector nasal de la CFNR
NVC:	Neovascularización coroidea
NI:	Sector nasal inferior de la CFNR
NS:	Sector nasal superior de la CFNR
OCT:	Tomografía de coherencia óptica
OR:	Odds ratio
OVCR:	Obstrucción de la vena central de la retina
PEV:	Potenciales evocados visuales
PFC:	Panfotocoagulación
PIO:	Presión intraocular
RAP:	Proliferación angiomasosa retiniana

RNFL:	Capa de fibras nerviosas de la retina
RNR:	Rodete neuroretiniano
RR:	Riesgo relativo
S:	Sector superior de la CFNR
T:	Sector temporal de la CFNR
TD-OCT:	Tomografía de coherencia óptica de dominio tiempo
TFD:	Terapia fotodinámica
TI:	Sector temporal inferior de la CFNR
TS:	Sector temporal superior de la CFNR
SD-OCT:	Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral o Fourier
VEGF:	Factor de crecimiento endotelial vascular
VFI:	Visual Field Index

## **HALLAZGOS ORIGINALES DE ESTA TESIS**



## HALLAZGOS ORIGINALES DE ESTA TESIS

En esta tesis doctoral se ha estudiado por primera vez y de manera controlada y prospectiva los cambios que se producen en la capa de fibras nerviosas de la retina en pacientes que están siendo tratados con ranibizumab intravítreo por degeneración macular asociada a la edad durante un año.

Para realizar el estudio se han utilizado dos aparatos de OCT, uno de dominio tiempo, de amplio uso hasta ahora, y un segundo OCT de tipo espectral, más moderno y con mayor resolución y reproducibilidad.

Esta tesis doctoral demuestra que existe una pérdida de grosor de la capa de fibras de la retina medida a lo largo del tiempo en los pacientes que reciben el fármaco intravítreo, al comparar con el grupo control.

Los resultados hacen plantearse la conveniencia de monitorizar el nervio óptico durante el tratamiento con inyecciones intravítreas de ranibizumab tanto en pacientes que no tienen un daño basal en la cabeza del nervio óptico como, de especial manera, en aquéllos que sí tienen una disminución previa de la capa de fibras de la retina.



## **PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES A CONGRESOS**



## PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES A CONGRESOS

### ARTÍCULOS PUBLICADOS

Martinez-de-la-Casa JM, **Ruiz-Calvo A**, Saenz-Frances F, Reche-Frutos J, Calvo-Gonzalez C, Donate-Lopez J, Garcia-Feijoo J. Retinal nerve fiber layer thickness changes in patients with age-related macular degeneration treated with intravitreal ranibizumab. Invest Ophthalmol Vis Sci 2012;53(10):6214-8.

### COMUNICACIONES A CONGRESOS

**Ruiz-Calvo A**, Martinez-de-la-Casa JM, Saenz-Frances F, Reche-Frutos J, Calvo-Gonzalez C, Donate-Lopez J, Garcia-Feijoo J. Effect of intravitreal ranibizumab on the retinal nerve fiber layer thickness. Preliminary results. European Glaucoma Society. 9th Congress. September 2010.

**Ruiz-Calvo A**, Martinez-de-la-Casa JM, Saenz-Frances F, Reche-Frutos J, Calvo-Gonzalez C, Donate-Lopez J, Garcia-Feijoo J. Evaluación del efecto de la administración intravítrea de Ranibizumab sobre el grosor de la Capa de Fibras Nerviosas de la Retina. Resultados a 6 meses. Sociedad Española de Retina y Vítreo. Marzo de 2011.

**Ruiz-Calvo A**, Martinez-de-la-Casa JM, Saenz-Frances F, Reche-Frutos J, Calvo-Gonzalez C, Donate-Lopez J, Garcia-Feijoo J. Evaluación del efecto de la administración intravítrea de Ranibizumab sobre el grosor de la Capa de Fibras Nerviosas de la Retina. Resultados a 6 meses. Sociedad Española de Glaucoma. Marzo de 2011.

**Ruiz-Calvo A**, Martinez-de-la-Casa JM, Saenz-Frances F, Reche-Frutos J, Calvo-Gonzalez C, Donate-Lopez J, Garcia-Feijoo J. Retinal nerve fiber layer thickness changes in patients with age-related macular degeneration treated with intravitreal ranibizumab. World Glaucoma Congress. June 2011.

**Ruiz-Calvo A**, Martinez-de-la-Casa JM, Saenz-Frances F, Reche-Frutos J, Calvo-Gonzalez C, Donate-Lopez J, Garcia-Feijoo J. Evaluación del efecto de la administración intravítrea de Ranibizumab sobre el grosor de la Capa de Fibras Nerviosas de la Retina. Resultados a 12 meses. Sociedad Española de Oftalmología. Septiembre de 2011.

## **JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS**



## JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

### JUSTIFICACIÓN:

Los fármacos inhibidores del factor de crecimiento del endotelio vascular se han situado en los últimos años como el tratamiento de elección en las formas exudativas de la degeneración macular asociada a la edad. Lo reciente de estos tratamientos hace que haya aspectos que aún no estén del todo clarificados. En este sentido, el efecto que la administración intravítrea repetida de estos fármacos pueda tener sobre otras estructuras oculares como la capa de fibras nerviosas de la retina es poco conocido. Esto puede resultar de especial importancia en pacientes de edad avanzada en los que pueden coexistir distintas patologías cuya prevalencia aumenta con la edad como la degeneración macular asociada a la edad y el glaucoma, enfermedad esta última que se caracteriza por una pérdida progresiva de fibras nerviosas de la retina. En caso de demostrar este posible efecto de los fármacos inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial sobre la capa de fibras nerviosas de la retina, quizás sería necesario replantear las pautas de tratamiento y/o los controles a realizar tras su administración.

### HIPÓTESIS:

La administración intravítrea de fármacos inhibidores del factor de crecimiento del endotelio vascular puede provocar un daño en la capa de fibras nerviosas de la retina por un mecanismo directo (presión intraocular dependiente) o indirecto (presión intraocular independiente). Esa posible alteración estructural podría influir en el funcionamiento del nervio óptico en pacientes que ya tienen afectada la visión central por la degeneración macular asociada a la edad.

Las nuevos tomógrafos de coherencia óptica de dominio espectral, al aportar una mayor resolución axial (5 micras) con respecto a las tradicionales de dominio temporal (10-15 micras de resolución axial), pueden permitir detectar cambios más incipientes en el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina.



## **INTRODUCCIÓN**



### 1.1 El Glaucoma

#### 1.1.1. Definición de glaucoma

El glaucoma engloba una serie de enfermedades crónicas y progresivas cuyo rasgo común es que son neuropatías ópticas adquiridas caracterizadas por la excavación progresiva de la papila óptica y por el adelgazamiento del RNR. Cuando la pérdida de células ganglionares es significativa, los pacientes desarrollan un deterioro paulatino en su campo visual relacionado con la alteración del nervio óptico (1). Una vez que se objetiva un defecto campimétrico en una perimetría convencional, existe ya una pérdida importante de tejido del nervio óptico de al menos un 30%-50% de células ganglionares, que será irrecuperable a pesar de la instauración de un tratamiento efectivo. Por ello, para diagnosticar un glaucoma no es necesaria la pérdida del campo visual; actualmente, se considera que alteraciones documentadas de la CFNR o de la papila pueden considerarse como diagnósticas de glaucoma aún en presencia de un campo visual convencional normal. A su vez, existen evidencias que sugieren que para cuando se ha llegado al diagnóstico de glaucoma de acuerdo a criterios estructurales, algunas de las funciones visuales ya se han visto comprometidas (2).

Según los conceptos actuales, para llegar al diagnóstico del glaucoma crónico de ángulo abierto es suficiente la demostración de lesiones típicas, funcionales o estructurales, con independencia del nivel de PIO. No obstante, la PIO es el principal factor de riesgo para padecer glaucoma (3).

Una PIO de 21 mmHg o mayor (valor normal más dos desviaciones estándar) es menos común en la población general, considerándose a los pacientes que presentan estos valores como hipertensos oculares si presentan el campo visual dentro de la normalidad. Estos pacientes son sospechosos de desarrollar glaucoma, aunque no todos los pacientes hipertensos oculares desarrollarán la enfermedad (4).

### 1.1.2 Lesión glaucomatosa

El glaucoma produce la muerte de axones de las células ganglionares que conduce a la excavación progresiva de la papila óptica. Los mecanismos clásicos propuestos de muerte axonal en el glaucoma son dos:

- a) La **teoría mecánica** propone que el aumento en la PIO produce la compresión de los axones contra la lámina cribosa, interrumpiendo el flujo axoplásmico e induciendo la muerte celular. Esta teoría no explica el glaucoma normotensivo.
- b) La **teoría vascular** afirma que el flujo sanguíneo de la papila óptica está comprometido por una alteración en el fenómeno de autorregulación del flujo de los vasos que nutren el nervio óptico. La isquemia resultante podría contribuir a explicar el daño glaucomatoso en algunos pacientes, generalmente ancianos, con glaucoma normotensivo (5).

En el momento actual, la causa de la pérdida de axones sigue sin estar clara y parece que podría tener relación con la susceptibilidad de las células ganglionares a ciertas agresiones, con deficiencias en la microcirculación de la cabeza del nervio óptico o con factores asociados a la matriz extracelular (6,7). Estos factores podrían tener un papel combinado, de manera que elementos asociados a la microcirculación o a la matriz extracelular pondrían desencadenar tanto presiones altas como pérdida de axones; o bien, variaciones en la susceptibilidad axonal podrían explicar por qué el grado de gravedad de la lesión no correlaciona con los niveles de PIO (8). No está claro si la PIO elevada está causada por factores relacionados con la producción o evacuación de humor acuoso, o con hechos anatómicos o fisiológicos de la malla trabecular u otras estructuras cercanas.

En el glaucoma, la afectación de la capa de fibras de la retina origina patrones campimétricos característicos (9):

- a) Si se afectan los haces de fibras nerviosas de la mitad temporal de la retina, que se arquean antes de penetrar en los polos superior e inferior del nervio óptico, aparecen los típicos escotomas arqueados en el área de Bjerrum (área a 15° de la fijación), que a veces pueden limitarse a una extensión de la mancha ciega en forma de coma (escotoma de

Seidel). Además, la distribución del rafe medio horizontal explica la aparición del típico escalón nasal de Rönne.

- b) Si se afectan los haces de fibras nerviosas nasales, que se introducen en el nervio óptico siguiendo un curso radial, no arqueado, se producen defectos campimétricos cuneiformes que parten de la mancha ciega y que no respetan el meridiano horizontal.
- c) Si se afecta el haz papilomacular, se producen defectos campimétricos centrales, que respetan el meridiano horizontal (fig. 1).

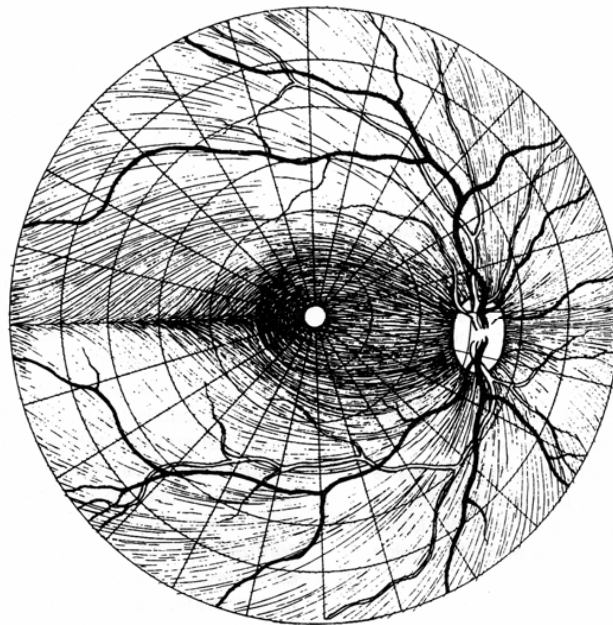


Figura 1. Distribución de las fibras nerviosas de la retina.

### 1.1.3 Células ganglionares

La CFNR constituye la capa más interna de la retina. De cada célula ganglionar retiniana subyacente, se extiende un solo axón en dirección al vítreo para entrar a formar parte de la CFNR. Estos axones convergen en la papila con un patrón organizado (10): los axones procedentes de la retina nasal, superior e inferior siguen un curso relativamente recto hacia la papila, mientras que los axones procedentes de las regiones temporales describen un curso

arqueado alrededor de la región macular que resulta en un rafe horizontal temporal a la mácula (11). La topografía del grosor de la CFNR refleja la configuración de la anchura del anillo neuroretiniano, más estrecho en el sector temporal de la cabeza del nervio óptico y progresivamente más ancho nasal, superior e inferiormente (12).

#### **1.1.4 Epidemiología**

La neuropatía óptica glaucomatosa es una de las causas de ceguera más importantes en el mundo (13-15). Aunque la prevalencia real no se conoce, se estima que afecta entre el 1 y el 2.4% de la población blanca mayor de 40 años.

Existen evidencias de que la presión intraocular alta, la historia familiar de glaucoma primario de ángulo abierto, la miopía y la baja presión de perfusión diastólica son factores de riesgo para desarrollar un glaucoma primario de ángulo abierto (16,17). La prevalencia también aumenta con la edad, de manera que en mayores de 70 años la frecuencia de glaucoma oscila entre el 3% y el 4.7% de la población (13-15,18), y es también significativamente mayor en la raza negra, donde además afecta a población algo más joven (19).

El glaucoma crónico simple o de ángulo abierto constituye la segunda causa más frecuente de ceguera permanente en Estados Unidos y es la principal causa entre los afroamericanos, donde la prevalencia se estima en torno al 6-8%. En 1991, en Estados Unidos, el coste anual del glaucoma se estimó en casi 3.000 millones de dólares, lo que da una idea del importante coste sociosanitario que acarrea la enfermedad. En España, la prevalencia entre la población de 50 a 60 años se calcula que es del 1% al 2% aumentando al 3-4% en mayores de 70 años. En el estudio realizado en 1987 por la Organización Nacional de Ciegos Españoles (ONCE) y la Sociedad Española de Oftalmología (SEO), se determinó que el glaucoma era la 5ª enfermedad ocular más frecuente y la causa del 12.5% de las cegueras en España (15). Existe un único estudio epidemiológico realizado en España, publicado en 2004. Este estudio cifra la prevalencia de glaucoma en el 2.1% de la población y de la hipertensión ocular en el 1.7% de la población y muestra cifras de prevalencia similares a las obtenidas en otros estudios epidemiológicos en población caucásica. En congruencia con otros estudios, se observó un aumento de la prevalencia del glaucoma con la edad, así como una mayor prevalencia, no estadísticamente significativa, en varones (20).

La frecuencia de cada uno de los tipos de glaucoma tiene importantes variaciones geográficas, aunque la forma más frecuente en el mundo es el glaucoma primario de ángulo abierto. Entre la población blanca, la proporción de glaucoma de ángulo abierto con respecto a la de ángulo cerrado es de 11 a 1, mientras que esta proporción entre la población negra es de 150 a 1. Por el contrario, en China, la prevalencia del glaucoma de ángulo cerrado es tres veces superior a la del glaucoma de ángulo abierto (19).

### **1.1.5 Clasificación del glaucoma**

Hasta hace poco, la tendencia era clasificar los glaucomas como primarios, cuando desconocíamos la causa o factor predisponente, o como secundarios, cuando encontrábamos una etiología subyacente asociada. En los últimos años, han aparecido nuevos conceptos que han completado la clasificación del glaucoma y que hacen referencia a la anatomía angular, a los aspectos bioquímicos y genéticos, así como al grado de alteración del campo visual y del nervio óptico. Hablar de glaucomas primarios pone de manifiesto el desconocimiento de los mecanismos que llevan al deterioro del campo visual. Hoy en día, deberíamos admitir que todos los glaucomas son secundarios, se conozca o no la anomalía que los produce. Así, parece tener más sentido clasificar los glaucomas desde un punto de vista etiopatogénico, en el que se determina la localización de la obstrucción de salida del humor acuoso y los diversos factores implicados en cada localización (Tabla 1) (21).

Mecanismos en el glaucoma de ángulo abierto	Pretrabecular	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Membrana fibrovascular, inflamatoria.</li> <li>▪ Capa endotelial, con membrana Descemet-like.</li> <li>▪ Crecimiento epitelial.</li> <li>▪ Invaginación fibrosa.</li> </ul>
	Trabecular	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Idiopático:</b> GCAA, glaucoma juvenil de ángulo abierto.</li> <li>▪ Obstrucción en la malla trabecular: células hemáticas, macrófagos, células neoplásicas, pigmento, proteínas, viscoelásticos.</li> <li>▪ Alteraciones de la malla trabecular: corticoides, edema, trabeculitis, escleritis-epiescleritis, álcalis, recesión angular traumática, cuerpo extraño intraocular.</li> </ul>
	Postrabecular	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Obstrucción del canal de Schlemm.</li> <li>▪ Aumento presión venosa episcleral.</li> </ul>
Mecanismos en el glaucoma de ángulo estrecho	Anterior	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Contractura de membranas (G. neovascular, síndrome ICE).</li> <li>▪ Consolidación de productos inflamatorios.</li> </ul>
	Posterior	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Con bloqueo pupilar por alteraciones cristalínas (facomórfico, ectopia lentis)</li> <li>▪ Sin bloqueo pupilar (G. maligno, alteraciones cristalínas, G. facomórfico, ectopia lentis, empuje vítreo tras extracción cristalino, rotación anterior de cuerpo ciliar, tras cerclaje escleral, tras PFC, tras OVCR, tumores intraoculares, quistes de iris y cuerpo ciliar, contracción tejido retrolenticular, retinopatía del prematuro, síndrome de vítreo primario hiperplásico.</li> </ul>
	Anomalía en el desarrollo del ángulo	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Desarrollo incompleto del canal Schlemm-malla trabecular (glaucoma congénito-infantil, síndrome Axenfeld-Rieger, anomalía de Peters).</li> <li>▪ Adherencias iridocorneales: bandas anchas (Axenfeld-Rieger), bandas finas (aniridia).</li> </ul>

Tabla 1. Clasificación del glaucoma según el mecanismo de obstrucción de la salida del humor acuoso

### 1.1.6. Factores de riesgo del Glaucoma crónico de ángulo abierto:

Son varios los factores de riesgo que influyen en el desarrollo del glaucoma crónico simple de ángulo abierto. Muchos de ellos son características del sujeto como la raza negra, el sexo, la edad o la genética que, lógicamente, no pueden ser modificados. Dentro del grupo de los factores de riesgo tratables, el más importante es la presión intraocular (6,22) .

#### a) Factores demográficos

**Raza.** La raza es un factor de riesgo importante para el desarrollo y la progresión del glaucoma de ángulo abierto. La prevalencia estimada de glaucoma de ángulo abierto es aproximadamente 3 veces mayor en individuos de raza negra, comparado con individuos de raza blanca (23). En un estudio realizado en Baltimore acerca de la prevalencia de ceguera según la causa, los resultados indicaron que la frecuencia de ceguera por glaucoma ajustada por edad era 6,6 veces mayor en negros que entre blancos, con inicio de la ceguera una media de 10 años antes en los individuos de raza negra (24).

**Sexo.** Los datos que conciernen a si el glaucoma es más frecuente en hombres o en mujeres, no coinciden e, incluso, a veces son contradictorios. La mayor parte de los estudios indican que la PIO es más alta en las mujeres que en los hombres. En cuanto a la prevalencia del glaucoma, algunos autores afirman que las mujeres sufren la enfermedad con el doble frecuencia que los varones (25), mientras que otros afirman lo contrario (26).

**Edad.** Prácticamente todos los estudios coinciden en que la incidencia y prevalencia del glaucoma crónico de ángulo abierto aumenta con la edad y en que este aumento es especialmente notorio en la caucásicos y en aquéllos con antepasados africanos (27-29). En los Estados Unidos, la prevalencia de glaucoma de ángulo abierto está por debajo del 1% en individuos menores de 55 años, a los 65 años alcanza casi un 2% y a los 80 años llega a ser del 4% (23). De la misma manera, la frecuencia de ceguera por glaucoma de ángulo abierto, también aumenta con la edad (24). La PIO aumenta con la edad, pero ésta no parece ser la única explicación para el aumento de la incidencia, ya que la PIO no aumenta con la edad en los sujetos japoneses mientras sí lo hace la incidencia del glaucoma (30).

## **b) Factores oculares**

**PIO.** La PIO es el factor de riesgo que presenta una relación causa-efecto más directa en el desarrollo del glaucoma, de forma que existe un aumento de la prevalencia del glaucoma con valores elevados de PIO. Según algunos autores, el riesgo de desarrollar glaucoma es unas 15 veces mayor en sujetos con presiones intraoculares elevadas que en sujetos con presiones bajas (31).

Para entender la importancia de la PIO en la fisiopatología del glaucoma, debemos entender previamente la anatomía ocular, especialmente la del segmento anterior, y la fisiología del humor acuoso, uno de los principales moduladores de la PIO. El cuerpo ciliar es la porción de úvea que queda entre la coroides y el iris y está formado por el músculo ciliar y el epitelio ciliar. En la parte anterior del cuerpo ciliar, a partir de un proceso de ultrafiltración, difusión pasiva y secreción activa, es donde se forma el humor acuoso. El humor acuoso es un compuesto líquido que rellena las cámaras anterior y posterior del ojo y cuya composición es similar a la del plasma sanguíneo, pero con una menor concentración de proteínas. Cuando el humor acuoso es producido en el cuerpo ciliar, rellena la cámara posterior y pasa a la cámara anterior a través de la pupila. Desde la cámara anterior, el humor acuoso es evacuado por dos vías: a) a través de la malla trabecular en el ángulo iridocorneal (90% del drenaje), desde donde pasa al canal de Schlemm y desde ahí a las venas episclerales y a la circulación general. Esta vía es dependiente de la presión, es decir, si hay mayor presión dentro de la cámara anterior, mayor es el drenaje. b) Vía úveoescleral: un 10% del drenaje se realiza por el paso del humor acuoso a través del cuerpo ciliar hacia el espacio supracoroideo y desde ahí es drenado a los vasos venosos de la coroides, el cuerpo ciliar y la esclera (32).

La PIO, dependiente de la dinámica del humor acuoso, es el resultado del balance entre la producción y el drenaje del mismo, y todo factor que influya en uno u otro mecanismo, tendrá repercusión en su equilibrio. Por ejemplo, si encontramos una obstrucción a la salida del humor acuoso en la malla trabecular, la salida de éste se verá dificultada y, llegado un punto crítico, aumentará la PIO en la cámara anterior. Lo mismo ocurrirá si la presión sanguínea en la venas episclerales es elevada.

En cuanto a qué es la PIO normal, hay gran controversia, pero en lo que todos parecen estar de acuerdo es que es aquella que no produce una pérdida significativa de células ganglionares del nervio óptico, es decir, aquella que no produce daño glaucomatoso. Esto no puede expresarse como un número, dadas las importantes diferencias en la respuesta en diferentes individuos. Hablando en términos estadísticos, podemos decir que el valor de la PIO en la población general oscila en un rango de 10-21 mm Hg, con una media de 16 mm Hg (DE +/- 3 mm Hg). Pero también hay que tener en cuenta que la PIO no es lineal, sino que sufre variaciones, siendo más elevada generalmente por la mañana y aún más en los pacientes con PIO elevada (32,33).

Muchos artículos ilustran la asociación entre la PIO elevada y el desarrollo y progresión del glaucoma de ángulo abierto, pero está claro que no es una condición necesaria ni suficiente para el desarrollo de la neuropatía óptica que es el glaucoma (34-39). Como ejemplo, el Early Manifest Glaucoma Trial siguió a 255 pacientes con diagnóstico de glaucoma de ángulo abierto una media de ocho años y la PIO resultó ser un factor de riesgo significativo en la progresión del glaucoma (Hazard Ratio 1.11 con un IC 95% 1.06-1.17) (40). Pero no todos los pacientes que tienen un daño en el nervio óptico y en el campo visual compatible con glaucoma presentan la PIO elevada. Mientras que estos casos de glaucoma normotensivo son los menos frecuentes en Europa y en Estados Unidos, en Asia, la mayoría de los pacientes con glaucoma tiene valores de PIO normales (41). En contraste, muchos pacientes con PIO elevada, nunca desarrollan daños en el nervio óptico ni en el campo visual (38,42).

**Miopía.** Parece existir una relación clara entre la miopía y el glaucoma. En un reciente meta análisis de Marcus, el OR de tener glaucoma fue de 1.88 (1.6-2.2) para cualquier grado de miopía y de glaucoma y de 1.77 (1.41-2.23) para miopes de menos de tres dioptrías. Por lo tanto, los individuos miopes, tienen más riesgo de padecer glaucoma que la población normal, si bien, cabe destacar que estos pacientes siguen más revisiones oftalmológicas que la media de la población y los datos pueden estar sesgados (43).

**Disminución del espesor corneal central.** La disminución del espesor corneal central se asoció con mayor riesgo de desarrollar glaucoma en pacientes con PIO elevada (28).

Existen glaucomas de ángulo abierto con características especiales como el pseudoexfoliativo. La presencia de **pseudoexfoliación**, una sustancia de aspecto blanco fibrilgranular que se

deposita en el segmento anterior del ojo entre otros lugares, aumenta el riesgo de glaucoma de ángulo abierto en pacientes con aumento de la PIO (28,44,45).

### c) Factores extraoculares

**Diabetes.** La relación entre la diabetes mellitus y el glaucoma de ángulo abierto es un tema controvertido, sobre todo teniendo en cuenta que estos pacientes son sometidos a un control médico y oftalmológico mucho más riguroso que el resto de la población y que esto puede resultar en un diagnóstico precoz que puede ser interpretado como asociación directa (46,47). No obstante, en un estudio prospectivo realizado en 17318 mujeres con DM2, sí se estableció una asociación significativa entre tener DM2 y sufrir glaucoma, con un RR de 1.82 (IC 95%: 1.23-2.70), incluso ajustando por el número de exámenes oftalmológicos (48).

**Presión arterial.** Aunque la teoría vascular en la patogénesis del glaucoma adquirió un segundo plano durante muchos años por la aceptación generalizada de la teoría mecánica, la compleja asociación entre la presión arterial sistémica y el glaucoma es cada día más aceptada en el mundo de la oftalmología. Son muchos los autores (47,49-51) que han mostrado evidencia de que el daño glaucomatoso está asociado a alteraciones en la circulación sanguínea, tanto en los vasos oculares como en los capilares de la cabeza del nervio óptico.

Autores como Bonomi (50) han encontrado recientemente una correlación positiva entre la presión arterial sistémica y la PIO, así como una asociación entre la presión diastólica baja y un aumento en la frecuencia del glaucoma con PIO elevada, aunque no han encontrado relación con enfermedades vasculares sistémicas. Otros autores afirman que algunas enfermedades cardiovasculares relacionadas con la edad, así como la hipotensión nocturna pueden jugar un papel importante en el desarrollo y progresión del glaucoma en muchos casos, independientemente de la PIO. Afirman también que la edad puede no ser un factor de riesgo “per se” para el glaucoma, sino un índice indirecto que influye en la enfermedad cardiovascular (51).

Parece que la hipotensión arterial produce una reducción del flujo arterial a nivel del nervio óptico, lo cual se puede ver agravado por una PIO alta, que da lugar al daño glaucomatoso. El flujo vascular baja por las noches, produciéndose el nivel más bajo a las 2-3 horas de la

madrugada, coincidiendo con el pico de PIO. Esto conduce a una crisis en los procesos hemodinámicos del nervio óptico. Según Flammer (52), en el ojo glaucomatoso la perfusión ocular a nivel de la retina y la coroides no es normal y es frecuente encontrar zonas de isquemia en órganos adyacentes e incluso distantes. Estas alteraciones vasculares pueden no ser debidas solamente a un proceso de arterioesclerosis, sino a una deficiente regulación vascular que produce niveles extremadamente bajos de presión sanguínea durante la noche, coincidiendo con los niveles de PIO más altos. El problema principal parece residir en una alteración en los mecanismos de autoregulación del ojo (52). En un ojo normal, cuando la PIO baja, los vasos sanguíneos se expanden, bajando la resistencia al flujo y de esta manera se mantienen unos niveles de perfusión constantes. En el ojo glaucomatoso esto no se cumple y la resistencia al flujo se puede ver incluso aumentada. Estas situaciones parecen ser las responsables de desencadenar el proceso de daño celular por apoptosis.

**Historia familiar (53).** La historia familiar es un factor de riesgo significativo para el desarrollo de glaucoma crónico de ángulo abierto según varios estudios poblacionales (35,54-56). El Baltimore Eye Survey encontró que el riesgo relativo de padecer glaucoma de ángulo abierto era de 3.7 en las personas con un hermano afectado y 2.17 veces en las que tenían un progenitor afectado (54). Muchos glaucomas de inicio precoz se heredan como rasgos dominantes o recesivos. El glaucoma de ángulo abierto, no obstante, tiene un patrón de herencia complejo en el que con gran probabilidad existen interacciones entre múltiples genes y factores ambientales (55).

Se han detectado mutaciones en el gen de la miocilina en aproximadamente un 4% de los adultos con glaucoma de ángulo abierto y en más del 10% de los casos de glaucoma juvenil de ángulo abierto. Los glaucomas asociados a mutaciones en la miocilina se caracterizan por tener una PIO alta en los jóvenes. Esta proteína se produce en el cuerpo ciliar y en la malla trabecular, pero se desconoce su papel en la regulación de la PIO (6).

No hay duda de la existencia de factores familiares que juegan un papel importante en el glaucoma. Aproximadamente, el 15-25% de los pacientes con glaucoma proceden de familias con historia de haber padecido la enfermedad. Aún así, el riesgo exacto es difícil de estimar. Algunos autores han encontrado que puede ser de aproximadamente el 16.4% (57). El riesgo aumenta en pacientes de más de 40 años. El mecanismo de transmisión de la enfermedad se

desconoce, pero la clave puede estar en múltiples factores hereditarios y no en un sólo gen, ya que es frecuente que familiares de primer grado de pacientes glaucomatosos no lo desarrollen.

**Glucocorticoides.** Los glucocorticoides, usados frecuentemente como potentes agentes anti-inflamatorios en múltiples patologías, aumentan el riesgo de glaucoma por un incremento de la PIO, principalmente al ser utilizados de forma tópica. Con menor frecuencia, estos aumentos de PIO también pueden darse al ser administrados de forma periocular y sistémica, sobre todo si se toman de forma crónica (58). Los corticoides producen un glaucoma trabecular, ya que dificultan la salida de humor acuoso, produciendo cambios moleculares y bioquímicos en la malla trabecular (59). Generalmente, este aumento de presión puede ser controlado exitosamente con terapia tópica antihipertensiva (60,61). El riesgo de glaucoma o aumento de la PIO es mayor en pacientes que toman glucocorticoides y que además están predispuestos a esta patología, incluyendo a aquéllos con antecedentes familiares de glaucoma, diabetes mellitus o miopía magna (60,62). El uso de glucocorticoides en pacientes con glaucoma establecido, frecuentemente agravará la situación (61,63,64).

### 1.1.7. Diagnóstico del Glaucoma

Desgraciadamente, los individuos con glaucoma crónico de ángulo abierto no suelen experimentar síntomas hasta que no existe un defecto severo en la CFNR. Por esto, el GCAA en muchas ocasiones se detecta casualmente en exploraciones oftalmológicas rutinarias. En este tipo de pacientes, la PIO puede superar los 40 mmHg y no dar ningún síntoma, ya que la visión central suele estar conservada y el aumento de PIO progresivo no suele provocar dolor. La PIO sigue siendo el método más accesible y estudiado para realizar el cribado del glaucoma, ya que no hay ningún test diagnóstico solo o en combinación con una sensibilidad-especificidad ideal para aplicarlo a toda la población (65). Una vez el paciente está en la consulta, si existe la sospecha de glaucoma, se le debe realizar una completa exploración del polo anterior para evaluar signos asociados, una toma de PIO, una gonioscopia para evaluar el estado del ángulo iridocorneal y una exploración del fondo de ojo bajo dilatación pupilar. Posteriormente, se debe realizar una campimetría para valorar el estado del campo visual.

El diagnóstico del glaucoma en la actualidad se basa en tres pilares fundamentales:

a) **Tonometría:** El fundamento de la mayor parte de los tonómetros se basa en la relación existente entre la presión intraocular y la fuerza necesaria para deformar la forma natural de la córnea hasta un punto determinado. La PIO elevada es el principal factor de riesgo en el glaucoma y es, además, el único factor de riesgo modificable de todos los implicados en la patogenia del glaucoma (66). Diversos ensayos clínicos aleatorizados han mostrado que la reducción de la presión intraocular disminuye el riesgo de aparición y enlentece la progresión del glaucoma (16,38). De ahí, la importancia de su cuantificación tanto para el diagnóstico como para el seguimiento. Existe una gran variedad de PIO normales y la distribución de las mismas en la población no se ajusta a una curva de Gauss sino que se desvía hacia PIO altas. Se considera que los pacientes cuyas PIO superan repetidamente los 21 mm Hg son hipertensos oculares, con mayor riesgo que el resto de la población de desarrollar glaucoma. Ello no quiere decir que aquellas personas con PIO por debajo de dicho valor no puedan desarrollar una neuropatía óptica glaucomatosa. Por tanto, no puede ser éste el único parámetro en el que nos basemos para realizar diagnóstico de enfermedad.

b) **Funduscopía:** La evaluación de la papila óptica, idealmente con magnificación y una visión estereoscópica con lente indirecta, es un valioso método de diagnóstico precoz del glaucoma debido a los cambios en apariencia del nervio óptico antes de que se produzca pérdida del campo visual. El examen del contorno, tamaño, forma y coloración del RNR, así como las relaciones copa-disco 360°, constituyen la base del diagnóstico.

El uso de instrumentos de imágenes cuantitativas de la papila óptica está muy extendido para el manejo del glaucoma, ya que ayudan al diagnóstico y seguimiento de su progresión. Los más usados son el analizador de fibras nerviosas (GDx), la tomografía retiniana de Heidelberg (HRT) y la tomografía de coherencia óptica (OCT). La fotografía de la capa de fibras con filtros selectivos para destacar la atrofia de la capa de fibras ha sido uno de los sistemas propuestos para el diagnóstico precoz. Los trabajos en los que se ha evaluado su sensibilidad y especificidad aportan cifras similares, con un promedio del 87%. El análisis del espesor de la capa de fibras nerviosas mediante polarimetría láser (GDx), tiene una cifra del 81% como promedio de la sensibilidad y especificidad. En cuanto a la topografía papilar (HRT, OCT), la sensibilidad y especificidad alcanzan cifras del 85% en HRT y más altas aún en los nuevos aparatos de OCT, como más adelante se explicará. Por último, en cuanto a las pruebas electrofisiológicas, el electroretinograma de damero («pattern ERG») ha obtenido cifras medias de sensibilidad y especificidad del 84% para el diagnóstico precoz del glaucoma.

Muchos investigadores han puesto sus esperanzas en los nuevos sistemas multifocales de ERG y PEV, pero no existe por el momento información clara respecto a su sensibilidad y especificidad (67).

c) **Perimetría:** La perimetría es un método para valorar el campo visual: aquella porción del espacio en la que los objetos son visibles simultáneamente por un ojo con fijación estable. Su función es determinar el estado de la vía óptica. Se trata de la técnica Gold Standard tanto para el diagnóstico de glaucoma como para el seguimiento del paciente, pero tiene el inconveniente de que necesita la colaboración del paciente y una buena fijación del punto de referencia central (68).

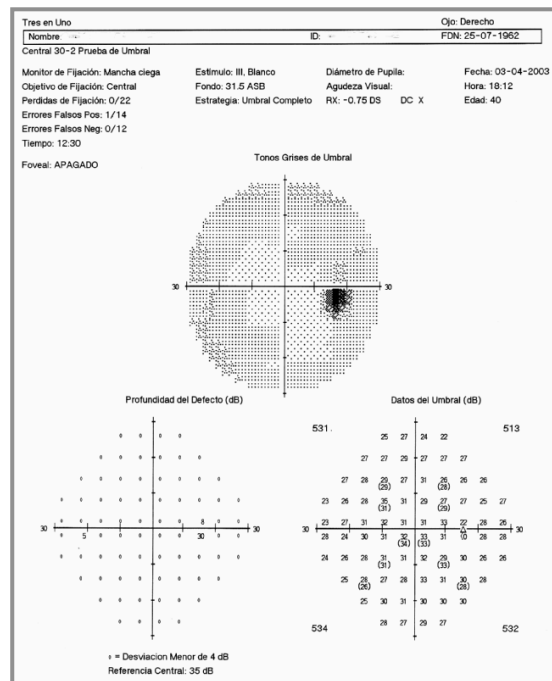


Figura 2: a) Campímetro Humphrey. b) Formato de impresión “3 en 1”. En el encabezado se incluye toda la información relacionada con la prueba, datos del paciente, programa utilizado, tamaño del estímulo, tipo de fijación, estrategia, índices de fiabilidad y corrección óptica.

### 1.1.8. Métodos de medida de la presión intraocular

La medida de la PIO es una exploración fundamental para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con glaucoma, sospechosos o hipertensos oculares. Sin embargo, en la práctica no

se pueden realizar medidas directas por lo que la determinación de la presión debe hacerse indirectamente a través de las paredes oculares (69,70).

a) **Tonometría de aplanación:** estos tonómetros se basan en la aplanación de la córnea y son los que más se utilizan actualmente. Se basan en el principio de Imbert-Flick: presión dentro de la esfera (P) es igual a la fuerza de aplanación (W) dividido entre el área de aplanación (A). Esta fórmula es válida para una esfera perfecta de paredes infinitamente finas pero, en el ojo, hay que hacer ciertas modificaciones porque la aplanación corneal también tiene que vencer otras fuerzas, como la de una córnea que no es infinitamente fina. De esta manera, la fórmula aplicada al ojo sería:  $P = \frac{W+T-C}{A}$ , donde T es la atracción capilar de la película lagrimal sobre el cono del tonómetro y C la resistencia de la córnea a ser aplanada. Para una paquimetría media de 500 micras, con un cono de 3.06 mm de diámetro, la T y la C se contrarrestarían. Tonómetros de aplanación:

- a. El tonómetro de aplanación de Goldmann se monta en sobre una lámpara de hendidura. Poniendo fluoresceína sobre la córnea, se apoya el cono del aparato, un biprisma, y, mirando a través de los oculares, se debe conseguir que la parte interna de los dos semicírculos que se ven, se toquen. El tonómetro lleva una escala que indica la medida de la presión ocular. Teniendo en cuenta las limitaciones del modelo, el valor de la medida es aproximado. Actualmente, es el Gold Standard.
- b. Tonómetro de Perkins: Es un tonómetro con las mismas limitaciones que el Goldman, pero con la ventaja de que es portátil y no requiere una lámpara de hendidura para ser utilizado (figura 3).



Figura 3. Tonómetro de Perkins.

- c. Tonopen: Muy útil en córneas irregulares. Portátil.
- d. Tonómetros de no contacto como el de aire, cuya fiabilidad es menor.

b) **Otros tonómetros:** 1) Tonómetro de contorno dinámico, cuyo terminal de medida presenta una curvatura similar a la de la córnea, dando una medida teóricamente transcorneal. 2) Tonómetro de Rebote, que proyecta una varilla magnetizada hacia la córnea para luego medir su desaceleración. Parece correlacionar bien con el Goldmann y apenas requiere colaboración del paciente.

### 1.1.9. Importancia del diagnóstico precoz

En general, el objetivo del tratamiento antiglaucomatoso es mantener una función visual adecuada y una buena calidad de vida y con un coste económico asumible. Es importante tener en cuenta que debemos evitar tratamientos de la PIO excesivos e innecesarios, pero también hay que prevenir cuanto antes la incapacidad visual en los pacientes en riesgo de tener glaucoma, y que, aunque existen distintas formas de glaucoma, los cambios histopatológicos que ocurren en la papila corresponden de forma común a la muerte neuronal. Hasta la fecha, la única acción que ha demostrado frenar el avance del daño glaucomatoso es la disminución de la PIO (70).

El desarrollo de nuevas tecnologías para hacer un diagnóstico precoz del glaucoma ha evolucionado a la hora de detectar alteraciones tanto funcionales como estructurales. En cuanto a las detección de alteraciones funcionales van apareciendo nuevas estrategias que permiten una rápida exploración del campo visual y que, al reducir la fatiga, son más fiables. Por otro lado, los nuevos analizadores del espesor de la CFRN consiguen medir, con sus limitaciones, de forma cuantitativa la pérdida axonal de la cabeza del nervio óptico.

Hasta hace poco, el diagnóstico de glaucoma se hacía en base exclusivamente a la PIO y al aspecto del nervio óptico, y dependía en gran parte de la pericia del examinador. Actualmente, es la evidencia de una progresión morfológica o funcional lo que nos da el diagnóstico de glaucoma, incluso en presencia de una campimetría normal. La rentabilidad

diagnóstica de la fotografía de la CFNR o del OCT es elevada si se aplica a sujetos susceptibles de beneficiarse de un diagnóstico y tratamiento precoces. En el estudio de Sommer (31), se describe una incidencia mayor de glaucoma en ojos hipertensos oculares, con la particularidad de que el 60% de los que desarrollaron defectos del campo visual tenía defectos en la CFNR seis años antes. No obstante, hay resultados contradictorios en cuanto a si las características de la papila óptica pueden predecir la posterior aparición de defectos en el campo visual o si realmente los defectos perimétricos preceden a los estructurales (38,71) .

Todos los esfuerzos que conduzcan a un diagnóstico precoz del glaucoma van a permitir un tratamiento en fases más iniciales de la enfermedad y por lo tanto más eficaz, que aumentará las posibilidades de evitar la progresión hacia la ceguera.

## 1.2 La Degeneración Macular Asociada a la Edad

La baja visión es un problema de salud importante en los ancianos y tiene un impacto significativo sobre el estado funcional y la calidad de vida (72). La DMAE es la principal causa de ceguera de adultos en los países industrializados (73,74) .

### 1.2.1 Definición y clasificación

La DMAE es una enfermedad degenerativa de la mácula que lleva a la disminución o pérdida de la visión central. La DMAE se clasifica en atrófica (seca) o exudativa (húmeda o neovascular). La DMAE seca puede progresar a DMAE húmeda en algunos pacientes con un riesgo estimado en un 1-4.7% en un año y de un 13-18% en tres años si se tienen drusas blandas bilaterales (75).

**DMAE atrófica.** En la DMAE atrófica podemos encontrar depósitos drusenoides subretinianos extensos o focales, desprendimientos drusenoides del EPR, atrofia geográfica del EPR y acúmulos de pigmento en la capa del EPR (figura 4).

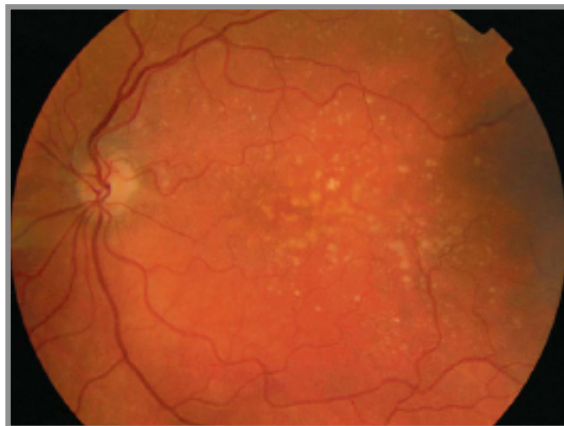


Figura 4. Drusas duras en la retina.

Las drusas son depósitos localizados de material extracelular, generalmente lipoglucoproteínas, normalmente concentrados en la mácula y que aparecen como pequeños

depósitos amarillentos en la funduscopia. Las drusas pueden ser duras, blandas o brillantes y calcificadas. Las drusas duras son lesiones retinianas profundas de color amarillento y bien delimitadas. Las drusas calcificadas son drusas blandas en fase de reabsorción por degeneración parcial de las células del EPR localizadas sobre ellas. Las drusas blandas, en cambio, son de color amarillento, con bordes menos definidos y de mayor tamaño que las drusas duras. En ocasiones, al coalescer varias drusas blandas, simulan una forma de desprendimiento del EPR denominado desprendimiento drusenoide. Cuando las drusas blandas son de mayor tamaño y numerosas, se asocian con pérdida de visión y con mayor riesgo de progresión a DMAE avanzada. Cuando aparecen áreas de atrofia del EPR focales y geográficas, indican progresión de la DMAE. Estas áreas se caracterizan por la muerte celular en las zonas adyacentes del EPR y los fotorreceptores y se asocian a esclerosis de la capa coriocapilar. Dependiendo de la ubicación de la atrofia del EPR, la visión central se verá o no afectada. La atrofia geográfica representa alrededor del 10% de la ceguera legal relacionada con la DMAE (76).

Para establecer el diagnóstico, es suficiente con objetivar cualquiera de los hallazgos anteriores, generalmente, con la biomicroscopia. Asimismo, es útil la realización de una OCT para descartar la presencia de una membrana neovascular coroidea e, incluso, se aconseja hacer una AFG en los desprendimientos drusenoides del EPR (77).

En casi todas las personas mayores de 50 años, podemos encontrar drusas duras y son una consecuencia normal del envejecimiento (78). Estas drusas duras no están asociadas con aumento significativo del riesgo de DMAE avanzada (79).

**DMAE exudativa.** La DMAE exudativa o neovascularización coroidea se caracteriza por el crecimiento de vasos anormales en el espacio subretiniano, por lo general desde la circulación coroidea hacia la retina y con menor frecuencia desde la circulación retiniana hacia la coroides (80). Estos vasos sanguíneos anormales extravasan líquido, lo que lleva al acúmulo de este líquido en el espacio subretiniano y, posteriormente, intrarretiniano. También se puede producir un sangrado debajo de la retina por rotura de estos frágiles vasos (figura 5).

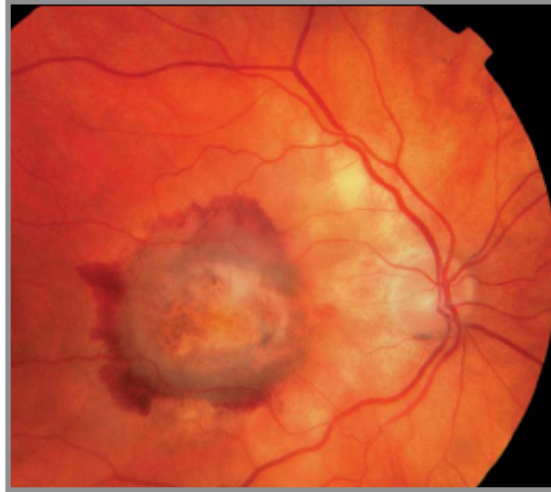


Figura 5. Membrana neovascular con sangrado subretiniano.

Aunque la DMAE húmeda está presente en sólo el 10 al 15% de los pacientes con DMAE, reúne a más del 80% de los casos de pérdida severa de agudeza visual o ceguera legal (78). En contraste con la forma seca, se caracteriza por la distorsión de imágenes y la rápida pérdida de visión central en un período de semanas o meses. En el ojo contralateral, la incidencia acumulada estimada de desarrollo de neovascularización es de un 10%, 28% y 42% en uno, tres y cinco años, respectivamente (81).

Se puede subdividir la DMAE húmeda en función de sus características. De acuerdo con el patrón de neovascularización coroidea obtenido con AFG tenemos: a) Membranas predominantemente clásicas, que tienen un patrón en rueda de carro y cuya extensión es mayor del 50% del tamaño de la lesión completa. Es importante tener en cuenta que las lesiones predominantemente clásicas, por lo general, progresan más rápido que los otros tipos de lesiones (82). b) Membranas mínimamente clásicas, con un patrón también en rueda de carro, pero con una extensión menor del 50% del tamaño de la lesión, c) Membranas ocultas, en las que no se evidencia el patrón típico en rueda de carro y que pueden apreciarse como hiperfluorescencia tardía de origen indeterminado o como desprendimiento fibrovascular del EPR. Dentro de las membranas ocultas hay dos subtipos que merece la pena destacar y que se caracterizan mejor tras la realización de una angiografía con verde de indocianina: 1) La proliferación angiomasiosa retiniana (RAP) se caracteriza porque la neovascularización empieza siendo intrarretiniana para extenderse posteriormente al espacio subretiniano y establecer anastomosis retinocoroideas. 2) La vasculopatía coroidea polipoidea idiopática se caracteriza

por dilataciones vasculares polipoideas en la coroides que se asocian a sangrados de repetición subretinianos. Si nos basamos en la localización, también podemos dividir las membranas en subfoveales (afectan al centro de la fovea), yuxtafoveales (entre 1 y 200 micras del centro de la fovea), extrafoveales (a más de 200 micras del centro de la fovea) y yuxtapapilares, que son las adyacentes al disco óptico.

### 1.2.2 Epidemiología de la DMAE

Se estima que en el año 2000, la prevalencia de DMAE en adultos mayores de 40 años en los Estados Unidos era de un 1.47%, afectando a 1.75 millones de personas, y en el año 2020 se espera que afecte a casi tres millones de personas en la población de Estados Unidos, prevalencias similares a las encontradas en otros lugares (83,84).

El riesgo de tener DMAE aumenta con la edad y el tabaquismo es el principal factor de riesgo modificable. Las medidas de prevención con profilaxis con vitaminas podrían reducir el riesgo de padecer DMAE y el tratamiento agresivo de la DMAE precoz podría reducir la incidencia de la ceguera en un 30% (85).

### 1.2.3 Patogenia de la DMAE

**DMAE seca.** Aunque la patogénesis no está clara, existen evidencias de que anomalías en los componentes de la membrana de Bruch (isquemia, senescencia, apoptosis celular, anomalías genéticas) pueden ser importantes (86), así como la inflamación y la infección crónica (87-89).

**DMAE húmeda.** La neovascularización coroidea se controla por un equilibrio dinámico entre las sustancias unidas a la membrana y las que difunden a través de ella, cuyas propiedades o bien promueven o bien inhiben el desarrollo de los vasos sanguíneos (90). Estudios en animales y humanos sugieren que el VEGF representa el factor más fuertemente asociado con la angiogénesis y es el objetivo de los tratamientos más actuales (isoforma VEGF-A). La comprensión del papel del VEGF en la patogénesis de la neovascularización ha dado lugar a estudios que demuestran la eficacia de los inhibidores de VEGF en el tratamiento de la

DMAE húmeda.

En cuanto a los factores genéticos, la DMAE se ha convertido en el paradigma de una condición en la que determinados polimorfismos genotípicos predisponen a la enfermedad. Se han identificado varios polimorfismos que podrían representar más de la mitad de todos los casos de DMAE (91-95). Muchos de los polimorfismos genéticos identificados apoyan el papel de la inflamación local y la activación del complemento en la etiología de la degeneración macular (96-98). Esto lleva a pensar que puede existir un mayor éxito terapéutico si se combinan estrategias de tratamiento que modulen tanto el componente inmunológico como el inflamatorio en la DMAE neovascular.

#### 1.2.4 Factores de riesgo

Se han identificado los siguientes factores de riesgo:

**Edad.** La prevalencia de DMAE aumenta con la edad, comenzando después de 50 años y aumentando cada vez más con el tiempo (74,99).

**Tabaco.** Fumar aumenta el riesgo de la DMAE seca y húmeda, con riesgos relativos de dos a cuatro en comparación con personas que nunca fumaron (100-103).

**Antecedentes familiares.** Parece que hay un mayor riesgo en pacientes con antecedentes familiares de DMAE (104), sobre todo en aquéllos con inicio temprano y enfermedad más grave (105,106).

**Enfermedades cardiovasculares.** En un estudio prospectivo longitudinal con 10 años de seguimiento y más de 2000 participantes, se vio que una historia de enfermedad cardíaca o accidente cerebrovascular se asoció con un mayor riesgo de DMAE (RR 1.6) (107,108). Además, la DMAE precoz se asocia con una duplicación de la mortalidad por causa cardiovascular y la DMAE tardía predijo un aumento de cinco veces la mortalidad cardiovascular y un aumento de diez veces la mortalidad por accidente cerebrovascular después de ajustar por edad y sexo (109).

**Dieta.** La dieta juega un papel difícil de interpretar en la DMAE. Cada vez existen más estudios que buscan qué aportes nutricionales pueden prevenir o frenar la progresión de la DMAE. En el estudio de cohortes Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study, se puso de manifiesto que modificar el estilo de vida tomando una dieta sana, haciendo ejercicio y no fumando, podría reducir el riesgo de inicio de DMAE un 71% (110). En el Blue Mountains Eye Study y en el AREDS, encontraron que la ingesta de abundantes vegetales y el aporte de luteína, zeaxantina y ácido grasos omega-3 reducía el riesgo de DMAE (111-113).

### 1.2.5 Presentación clínica

El inicio de la enfermedad suele ser asintomático. Los pacientes con DMAE seca suelen quejarse de pérdida gradual de visión central en uno o ambos ojos (114). La DMAE húmeda, en cambio, suele presentarse como la distorsión visual aguda o pérdida de la visión central como consecuencia de una hemorragia subretiniana o una acumulación de líquido. Los síntomas de la DMAE húmeda por lo general aparecen en un ojo, aunque la enfermedad está presente a menudo en ambos ojos. Una vez que se desarrolla la DMAE avanzada en un ojo, el riesgo de afectación contralateral es de un 40% a los cinco años (78).

La distorsión de líneas rectas es uno de los primeros cambios con DMAE húmeda. Esta distorsión puede ser evaluada con una rejilla de Amsler, una herramienta para detectar la aparición de progresión de la enfermedad en pacientes con DMAE húmeda (78).

### 1.2.6 Diagnóstico

**Biomicroscopía.** En la DMAE seca, suelen encontrarse drusas en el fondo de ojo, atrofia geográfica parcheada en la mácula, áreas de despigmentación y/o aumento de la pigmentación del EPR (ver apartado 1.2.1. Definición y clasificación).

En la DMAE húmeda, los hallazgos típicos en el área macular comprenden desprendimientos de retina exudativos, desprendimientos serosos del EPR, hemorragias intra y subretinianas, hemorragias bajo el EPR y exudados lipídicos (78). La neovascularización suele aparecer como una coloración gris verdosa en el área macular. Estos pacientes requieren una AFG para

delimitar y caracterizar la membrana neovascular y una OCT para identificar y cuantificar la presencia de líquido subretiniano (77).

**Angiografía con fluoresceína.** La AFG es una prueba invasiva que nos ofrece información acerca del tránsito hemático a través de la retina, las características estructurales de sus vasos sanguíneos y cualquier alteración del EPR que afecte a su capacidad óptica de bloquear la fluorescencia o que permita el paso de ésta desde capas más profundas de la retina. A diferencia de los vasos retinianos normales, la neovascularización coroidea presenta fuga de fluoresceína visible en la AFG. La AFG nos sirve para diagnosticar y clasificar las membranas basándonos en la definición de los bordes de la zona de neovascularización y en la ubicación de los vasos sanguíneos. La AFG ha sido una prueba imprescindible hasta hace poco para clasificar las membranas, ya que de ello dependía el tratamiento que se aplicaba al paciente. Actualmente, con la llegada de los anti-VEGF, muchas veces es suficiente con objetivar la neovascularización mediante OCT ya que el tratamiento es el mismo en la mayoría de los casos. No obstante, es generalizada la recomendación de hacer al menos una AFG al diagnóstico para establecer el pronóstico del paciente, ya que, como comentábamos antes, las membranas clásicas son mucho más agresivas y hay que tratarlas sin demora.

**Angiografía con verde de indocianina.** La AVI se usa principalmente para el estudio de las membranas ocultas, ya que perfila mejor la circulación coroidea. Su utilidad principal es la identificación de las RAP y de la vasculopatía coroidea polipoidea idiopática (77).

**Tomografía de coherencia óptica.** La OCT es una técnica de imagen de alta resolución que produce imágenes de cortes transversales de la retina. Se basa en la reflectividad óptica de los tejidos, de manera análoga a la ecografía en modo B y los rayos X en la tomografía computarizada. Al ser una prueba no invasiva, fácil de realizar y con constantes mejoras en su resolución que cada vez la aproximan más a la histología retiniana, la OCT se ha convertido en una técnica imprescindible en el diagnóstico y manejo de la DMAE, relevando a la AFG a un segundo plano. Más adelante, se expondrá detalladamente las características y utilidad de este aparato.

## 1.2.7 Tratamiento

### 1.2.7.1 DMAE seca

No existe ningún tratamiento de probada eficacia para tratar la DMAE atrófica. Los estudios sugieren que los pacientes con DMAE seca más extensa, con drusas de tamaño intermedio, al menos una drusa grande o atrofia geográfica no centrales en uno o ambos ojos podrían beneficiarse de tomar antioxidantes y zinc a las dosis estudiadas (115,116). También la ingesta de abundantes vegetales y el aporte de luteína, zeaxantina y ácidos grasos omega-3 parecen reducir el riesgo de DMAE (111-113).

### 1.2.7.2 DMAE exudativa

Los tratamientos utilizados con mayor frecuencia para la DMAE neovascular durante los últimos 20 años incluyen la fotocoagulación con láser térmico y la TFD con verteporfina. Afortunadamente, desde hace sólo unos pocos años se dispone de un nuevo arsenal terapéutico basado en la inhibición del factor de crecimiento vascular endotelial.

La **fotocoagulación con láser**, utilizada para obliterar la neovascularización, causa quemaduras en el espesor total en la retina y, en el caso de las lesiones subfoveales, produce pérdida inmediata de la visión, por lo que su uso plantea muchos inconvenientes (117,118).

El **tratamiento fotodinámico con verteporfina** se diseñó para tratar la NVC sin dañar la retina suprayacente y para tratar la NVC con límites poco definidos. Este tratamiento más selectivo tiene ventajas sobre todo en las lesiones subfoveales. En la TFD con verteporfina, la verteporfina, un fármaco fotosensibilizador, se inyecta por vía intravenosa y se adhiere a los neovasos. Al enfocar una luz láser no térmica sobre la NVC del paciente, el colorante se activa. Los vasos más destacados de la NVC se ocluyen cuando se tratan con la dosis apropiada de láser sin daño o daño mínimo permanente sobre la coroides y la retina adyacente. La FDA de los Estados Unidos aprobó el tratamiento fotodinámico con verteporfina (Visudyne®) para el tratamiento de la NVC subfoveal clásica. Sin embargo, sólo aproximadamente un tercio de todos los pacientes con DMAE neovascular posee una NVC clásica. Más de 90% de estos pacientes requiere un nuevo tratamiento después de tres meses y la mayoría necesita múltiples tratamientos durante el primer año (119-123).

El **tratamiento antiangiogénico** es el enfoque más nuevo para el tratamiento de la DMAE neovascular. Este abordaje terapéutico procura interrumpir la neovascularización y prevenir una neovascularización adicional en lugar de erradicarla. La angiogénesis es un proceso complejo que produce la formación de vasos sanguíneos nuevos. Este proceso requiere interacciones entre diferentes factores que pueden ser estimulantes o inhibidores. Se identificaron algunos de estos factores en la formación de la NVC en modelos animales y en tejido humano (124-126). Los tratamientos antiangiogénicos funcionan mediante el bloqueo de los factores estimulantes o mediante la promoción de los factores inhibidores. Uno de los tratamientos antiangiogénicos es la inhibición del VEGF, un polipéptido secretado con efectos mitógenos sobre los vasos sanguíneos endoteliales. Se demostró que los antagonistas del factor de crecimiento endotelial vascular inhiben la NVC en modelos animales (127).

**Pegaptanib** (Macugen<sup>®</sup>, Pfizer/Eyetech Pharmaceuticals) es un oligonucleótido modificado y pegilado que posee la capacidad de cambiar su estructura tridimensional para adecuarse a una proteína en particular, en este caso el VEGF. Al unirse al VEGF, pegaptanib lo bloquea y desactiva su acción. Por lo tanto, pegaptanib detiene el proceso de neovascularización, pero sus resultados no son tan buenos como los de otros inhibidores del VEGF (128). Pegaptanib fue aprobado por la FDA en los Estados Unidos en diciembre de 2004.

**Bevacizumab** es un agente anti-VEGF también utilizado para tratar la NVC. Bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>, Genentech, Inc.) se une al VEGF, factor clave de la vasculogénesis y la angiogénesis, inhibiendo así la unión de éste a sus receptores Flt-1 (VEGFR-1) y KDR (VEGFR-2), situados en la superficie de las células endoteliales (129). Bevacizumab es la molécula progenitora más grande de la cual también se deriva el ranibizumab. Bevacizumab actualmente se prescribe para el tratamiento de otras enfermedades como el cáncer colorrectal o el cáncer de pulmón, pero es ampliamente utilizado para el tratamiento de la NVC como tratamiento no aprobado (130).

**Ranibizumab**, anteriormente conocido como rhuFab-VEGF (Lucentis<sup>®</sup>, Genentech, Inc.) es un fármaco anti-VEGF desarrollado para la administración ocular intravítrea. Ranibizumab es un fragmento de anticuerpo monoclonal recombinante humanizado dirigido contra el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A) humano. Se une con alta afinidad a las isoformas del VEGF-A, impidiendo la unión del VEGF-A a sus receptores VEGFR-1 y

VEGFR-2, y frenando en muchos casos la progresión de la forma neovascular de la DMAE (131).

Ranibizumab fue aprobado por la FDA en 2006 para el tratamiento de la DMAE húmeda con una dosis de 0.5 mg por inyección intravítrea (132). Una vez aprobado, el fabricante envió una carta a los proveedores describiendo los resultados preliminares del estudio SAILOR (133). En un seguimiento medio de 230 días, se observó un aumento en el riesgo de accidente cerebrovascular en los pacientes tratados con 0.5 mg en comparación con los tratados con 0.3 mg de ranibizumab (1.2% frente a 0.3%, respectivamente). Sin embargo, la tasa de accidente cerebrovascular en ambos grupos fue menor de lo previsto, y la importancia clínica de esta diferencia es incierta.

Según los resultados obtenidos en los estudios MARINA (134,135) y ANCHOR (136,137) en pacientes con DMAE tratados mensualmente con ranibizumab, el empleo de tres inyecciones consecutivas cada 4 semanas permite obtener el mejor resultado en términos de mejoría de la agudeza visual, aplanándose la curva de evolución de la misma a partir de ese momento. Por lo tanto, la recomendación como dosis de “ataque” o de “inicio” es la realización de esta pauta de tres inyecciones intravítreas consecutivas. Sin embargo, debe considerarse la posibilidad de no ser necesario recurrir a las tres dosis, a juicio del especialista, ante situaciones que lo justifiquen. En el estudio MARINA participaron 716 paciente con NVC mínimamente clásica y oculta sin componente clásico. En el estudio ANCHOR, en cambio, los pacientes presentaban NVC de tipo predominantemente clásico (figura 6, tablas 2 y 3).

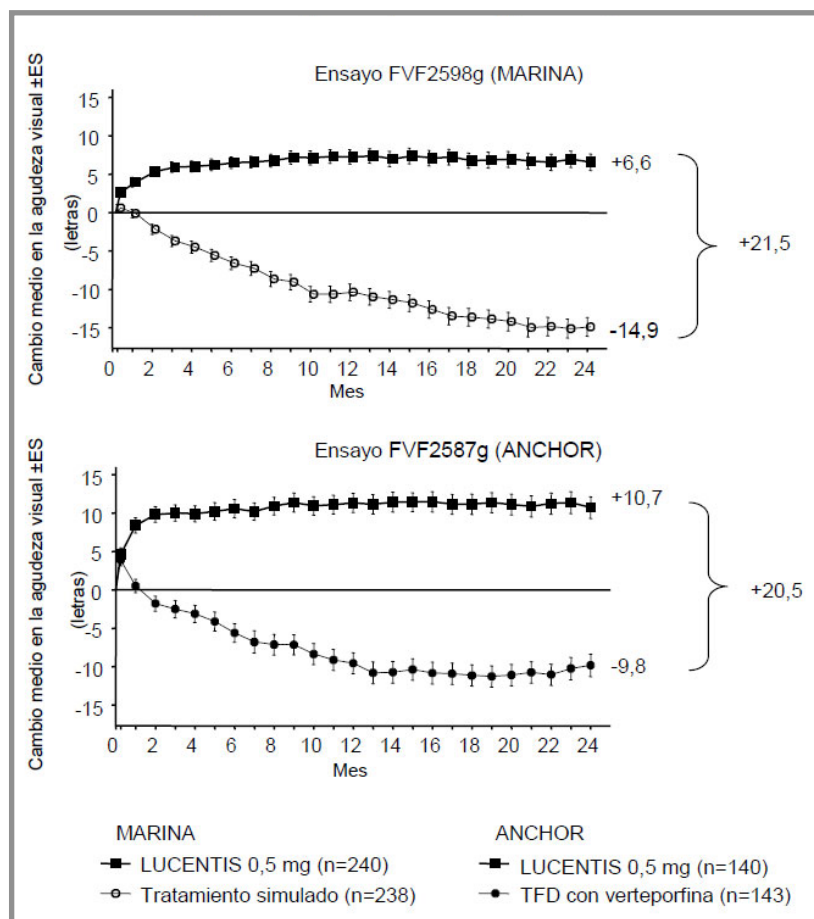


Figura 6: Cambio medio en la AV desde el inicio hasta el mes 24 en el ensayo MARINA y en el ensayo ANCHOR. Tomado de la ficha técnica de Lucentis® (132).

Medida del resultado	Mes	Tratamiento simulado (n=238)	Ranibizumab 0.5 mg (n=240)
Pérdida de <15 letras de agudeza visual (%) <sup>a</sup> (mantenimiento de la visión, variable primaria)	Mes 12	62%	95%
	Mes 24	53%	90%
Ganancia de ≥15 letras de agudeza visual (%) <sup>a</sup>	Mes 12	5%	34%
	Mes 24	4%	33%
Cambio medio en la agudeza visual (letras) (desviación estándar) <sup>a</sup>	Mes 12	-10.5 (16.6)	+7.2 (14.4)
	Mes 24	-14.9 (18.7)	+6.6 (16.5)

<sup>a</sup> p<0.01

Tabla 2 : Resultados al Mes 12 y al Mes 24 en el ensayo FVF2598g (MARINA)

Tomado de la ficha técnica de Lucentis® (132).

Medida del resultado	Mes	TFD con verteporfina (n=143)	Ranibizumab 0.5 mg (n=140)
Pérdida de <15 letras de agudeza visual (%) <sup>a</sup> (mantenimiento de la visión, variable primaria)	Mes 12	64%	96%
	Mes 24	66%	90%
Ganancia de ≥15 letras de agudeza visual (%) <sup>a</sup>	Mes 12	6%	40%
	Mes 24	6%	41%
Cambio medio en la agudeza visual (letras) (desviación estándar) <sup>a</sup>	Mes 12	-9.5 (16.4)	+11.3 (14.6)
	Mes 24	-9.8 (17.6)	+10.7 (16.5)

<sup>a</sup> p<0.01

Tabla 3: Resultados al Mes 12 y al Mes 24 en el ensayo FVF2587g (ANCHOR)  
Tomado de la ficha técnica de Lucentis® (132).

El ensayo PIER fue un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, que fue diseñado para evaluar la eficacia y la seguridad de ranibizumab en 184 pacientes con todas las formas de DMAE neovascular. Los pacientes recibieron inyecciones intravítreas de 0.3 mg (n=60) ó 0.5 mg (n=61) de ranibizumab o inyecciones simuladas (n=63) una vez al mes, en 3 dosis consecutivas, seguido de la administración de una dosis una vez cada 3 meses. A partir del mes 14 del ensayo, se permitió a los pacientes tratados con inyecciones simuladas pasar a recibir ranibizumab y, a partir del mes 19 fueron posibles tratamientos más frecuentes. En general, tras un incremento inicial en la agudeza visual (después de la dosificación mensual), la agudeza visual de los pacientes disminuyó con la dosis trimestral, volviendo al valor basal en el mes 12 y este efecto se mantuvo al mes 24 en la mayoría de los pacientes tratados con ranibizumab (82%). Los datos de un número limitado de sujetos que tras más de un año de haber recibido tratamiento simulado pasaron a recibir ranibizumab, sugirieron que el inicio temprano del tratamiento puede asociarse a una mejor conservación de la agudeza visual.

**Práctica clínica.** Tras el tratamiento de la DMAE exudativa con la dosis de ataque, la práctica más extendida es controlar al paciente cada cuatro semanas e ir espaciando las visitas si la enfermedad se mantiene inactiva. En estos casos, la información aportada por la OCT

permite, en muchas ocasiones, evitar la realización de la AGF, a la que podremos recurrir ante casos de duda diagnóstica acerca de si existe o no actividad neovascular. En cualquier caso, es el criterio del oftalmólogo, según los datos obtenidos en la exploración del paciente, el que decide cuál o cuáles de las pruebas son necesarias y cuáles pueden obviarse en cada visita de control. En el caso de la inyección intravítrea con antiangiogénicos, los máximos niveles de eficacia (estudios MARINA y ANCHOR) fueron conseguidos con inyecciones mensuales durante 2 años de ranibizumab. En la práctica clínica habitual, actualmente la tendencia es intentar espaciar las inyecciones, ya que, en la mayor parte de los casos, éstas deben prolongarse durante años (82,134-137). En la figura 7, se presenta el algoritmo que recogen las guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Retina y Vítreo en 2009 (77).

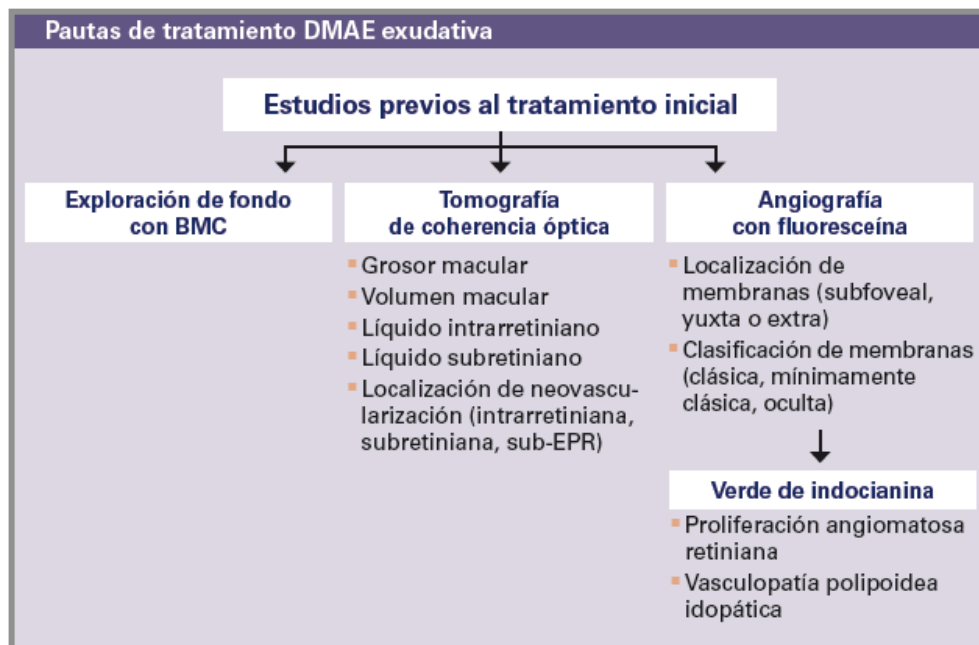


Figura 7: Algoritmo tomado de “Guías de práctica clínica de la SERV”. Tratamiento de la Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) exudativa. Sociedad Española de Retina y Vítreo. Enero de 2009.

La **cirugía** también se ha utilizado para el tratamiento de la DMAE. Existen dos tipos de procedimientos aprobados: la cirugía submacular y la cirugía de translocación macular. En ambos casos, los ensayos clínicos han sido decepcionantes, con pocos beneficios y grandes complicaciones (138-141). También se ha estudiado la radioterapia externa en los pacientes con DMAE, pero no hay evidencias claras de su beneficio (142).

### 1.2.7.3. Efectos secundarios de los anti-VEGF

**Eventos adversos.** Los efectos adversos más frecuentemente descritos con ranibizumab y bevacizumab son oftalmológicos; los efectos sistémicos, por el momento, son difíciles de interpretar (127,130). Las endoftalmitis, las reacciones inflamatorias intraoculares, las cataratas traumáticas iatrogénicas, los desgarros retinianos, el desprendimiento de retina y el aumento de la PIO después de la inyección son los efectos adversos más frecuentes. Una reciente revisión de la Biblioteca Cochrane, revela que la frecuencia de endoftalmitis con ranibizumab fue de 0.7% a 4.7% y el rango para la frecuencia de PIO elevada con ranibizumab en las siguientes revisiones fue de 4.3% a 16%. Diferentes estudios han valorado la PIO inmediatamente después de cada inyección intravítrea de distintos antiangiogénicos. Los resultados indican que durante los primeros minutos tras la inyección existe un aumento de presión intraocular que suele alcanzar valores superiores a los 30 mm Hg, llegando incluso en algunos casos a cifras mayores de 60 mm Hg, y que disminuyen progresivamente prácticamente en el 100% de los pacientes durante la primera hora postinyección hasta alcanzar los valores previos (143-145). En cuanto al aumento mantenido de PIO, un reciente estudio encontró que este incremento se encuentra con mayor frecuencia en ojos que han recibido un mayor número de inyecciones intravítreas (146). Estos resultados indican que las inyecciones intraoculares producen un aumento transitorio y, en ocasiones, mantenido en la PIO que podría ocasionar un daño al nervio óptico.

### 1.3. Análisis de la capa de fibras nerviosas

#### 1.3.1 Anatomía de la Retina

Histológicamente, la retina se divide en 10 capas. La capa más externa consiste en células epiteliales pigmentadas, lo que denominamos **epitelio pigmentado de la retina**, formado por una hilera unicelular situada sobre la membrana de Bruch, que las separa de la coroides. La capa siguiente es la **capa de fotorreceptores** constituida por las prolongaciones de los conos y los bastones (constan a su vez de un segmento externo, **ES**, y un segmento interno, **IS**) con una fina estructura eosinófila conocida como **membrana limitante externa** que la separa de la capa de núcleos densamente dispuestos de los conos y bastones descrita como **capa nuclear externa**. En la capa nuclear se encuentran los cuerpos celulares de los conos y bastones. La capa situada a continuación, casi sin rasgos distintivos, es la conocida como **capa plexiforme externa**, formada por las conexiones sinápticas entre los axones cortos de las células fotorreceptoras y las neuronas de integración, cuyos cuerpos celulares ocupan la **capa nuclear interna**. En la **capa plexiforme interna**, las neuronas de integración establecen conexiones sinápticas con las dendritas de neuronas cuyos axones forman el nervio óptico. Los cuerpos celulares de estas neuronas, las células ganglionares, forman la **capa de células ganglionares**. Más interiormente, se encuentra la **capa de fibras nerviosas de la retina** que se dirigen hacia la papila óptica para formar el nervio óptico. Por último, la **membrana limitante interna** constituye la parte más interna de la retina, separándola del cuerpo vítreo (147).

Las fibras aferentes que proceden las células ganglionares de la retina convergen en un punto situado medial a la fóvea, denominado papila óptica. Las fibras de los cuadrantes laterales se desvían hacia arriba o hacia debajo de la mácula para evitar la fóvea. A continuación, las fibras atraviesan la esclera por la lámina cribosa y forman el nervio óptico. En el embrión, el nervio óptico y la retina se desarrollan como evaginaciones del encéfalo anterior primitivo, por lo que el nervio óptico está revestido por las meninges. La duramadre se continúa con su equivalente embrionario, la esclera, mientras que la piamadre-aracnoides lo hace en el interior del ojo con el tracto uveal.

La irrigación de la retina procede de la arteria central de la retina, una rama de la arteria oftálmica. Esta arteria se divide en el disco óptico en cuatro ramas que irrigan los cuadrantes correspondientes de la retina. Los vasos siguen un trayecto en el interior de la capa de fibras del nervio óptico originando una rica red capilar que drena en un sistema venoso que sigue un trayecto idéntico al arterial. Los vasos se limitan a la CFNR, por lo que las fibras más superficiales dependen de la difusión, en tanto que las capas más periféricas reciben su nutrición por un mecanismo similar a partir de la coroides (148).

### **1.3.2. Sistemas para cuantificar los defectos de la CFNR**

Son muchos los métodos que se usan para intentar objetivar los defectos en la CFNR.

#### **1.3.2.1 Fotografía**

El glaucoma cambia la morfología del nervio óptico y eso puede ser visualizado en la exploración funduscópica estereoscópica y también mediante fotografías, especialmente, si se comparan diferentes imágenes a lo largo del tiempo. En primer lugar, se debe realizar una valoración cualitativa de la papila, observando la forma y ancho del anillo neurretiniano, la CFNR y la presencia de hemorragias en la papila. En segundo lugar, se realiza una valoración cuantitativa del tamaño de la papila (diámetro vertical), del ancho del anillo y del grosor de la CFNR.

El contorno del anillo neurorretiniano depende de la forma del canal escleral. Normalmente, la papila es ligeramente alargada verticalmente. En general, las papilas de tamaño medio son las más fáciles de interpretar porque suelen cumplir la regla “ISNT”, acrónimo que indica que la zona más gruesa es la inferotemporal, seguida de la súperotemporal, la nasal y, por último la temporal (149). Este patrón es menos marcado en papilas pequeñas, en las que a menudo es difícil identificar la excavación, y en las grandes, en las que la CFNR está repartida más homogéneamente (150). El glaucoma se caracteriza por un adelgazamiento difuso o localizado progresivo del RNR, de predominio en los sectores inferior y superior (151-153). Figuras 8 y 9.



Figuras 8 y 9. Papila normal (izquierda). Papila glaucomatosa (derecha).

La luz aneritra permite una mejor evaluación de la CFNR, sobretodo en sujetos jóvenes y con fondos de ojo pigmentados. El hallazgo de bandas oscuras más anchas que los vasos retinianos que llegan hasta el borde de la papila indica una muesca en el nervio óptico (154-156). Los adelgazamientos difusos de la CFNR son mucho más difíciles de objetivar.

La hemorragias peripapilares son muy infrecuentes en la población normal (0-0.2%) y relativamente frecuentes a lo largo de la enfermedad glaucomatosa. Se relacionan claramente con progresión en la enfermedad (157,158).

La atrofia papilar es frecuente en ojos glaucomatosos, pero también en sujetos normales, con lo que constituye un dato poco específico para la valoración de la papila (159,160).

El tamaño de la papila del nervio óptico y de la excavación papilar, así como el grosor del rodete neuroretiniano, es muy variable en la población general, de manera que cuanto más grande es la papila, mayor es la excavación papilar y menor el grosor del RNR (161). Clásicamente, se ha utilizado la relación excavación/papila para valorar la probabilidad de tener glaucoma, siendo un cociente alto sospechoso de daño en el nervio, pero es difícil de interpretar en papilas que se salen de los valores habituales (162). Otro dato a tener en cuenta es la diferencia de tamaño de la excavación entre los dos ojos a igual tamaño de la papila, ya que las excavaciones tienden a ser simétricas.

### 1.3.2.2 Polarimetría láser con compensación corneal (GDx-VCC)

La polarimetría láser GDx proporciona medidas cuantitativas del grosor peripapilar de la CFNR, permitiendo un análisis objetivo de los valores (163,164). Para estimar el grosor de la CFNR, GDx proyecta y mide el retraso de un haz de luz polarizada (780 nm) que atraviesa la CFNR, es reflejado en las capas inferiores de la retina y posteriormente es devuelto de nuevo hacia el exterior del ojo en dos haces. GDx está equipado con un compensador corneal variable que compensa el efecto birrefringente de la córnea y, en parte, del cristalino (165). Tiene una capacidad diagnóstica del glaucoma similar al HRT y a las fotografías estereoscópicas (166).

La primera vez que se realiza una exploración con GDx en un paciente, el aparato calcula la compensación corneal que ha de aplicar realizando un primer análisis de la región macular y posteriormente utiliza esos datos para analizar la región peripapilar. Los resultados son comparados con una base de datos de pacientes normales para facilitar la detección de alteraciones en la CFNR. Si se explora varias veces a un mismo paciente, GDx da la posibilidad de imprimir en una misma hoja los datos seriados del mismo paciente.

La hoja de resultados nos da la siguiente información: imagen del fondo de ojo, mapa de espesores, mapa de desviación, gráfico TSNIT y tabla de parámetros. La imagen del fondo de ojo es útil para verificar el correcto enfoque de la imagen y el centrado del área de exploración alrededor de la papila. El mapa de espesores muestra el grosor de la CFNR mediante una escala colorimétrica. Las zonas más gruesas de la CFNR, superior e inferior en sujetos normales, se representan con colores rojos y amarillos, y las zonas más delgadas, con colores azules. El mapa de desviación patrón representa en píxeles coloreados la magnitud y localización de los defectos de la CFNR. Cada color representa la probabilidad de que la zona señalada con el píxel sea normal, en comparación con valores ajustados por edad de una base de datos normalizada. El gráfico TSNIT muestra los valores del espesor de la CFNR en una circunferencia de 4 mm de anchura alrededor de la papila, ordenados de temporal a temporal, en forma de gráfica. La zona coloreada de la gráfica representa el rango en el que los valores quedan dentro del 95% del rango de normalidad. La forma normal es de “doble joroba”, correspondiendo cada una a las zonas inferior y superior. Por último, encontramos la hoja de parámetros, que son las que aportan una mayor rentabilidad diagnóstica. Entre ellas, destaca

el Nerve Fiber Indicator (NFI), un indicador global basado en el mapa de espesor total de la CFNR que aporta un dato numérico comprendido entre 1 y 100 y que se considera patológico aproximadamente cuando es mayor de 30. A parte, también encontramos el valor promedio de la CFNR, el promedio de los 120° superiores del área de cálculo, el promedio de los 120° inferiores del área de cálculo y la desviación estándar de los valores de espesor de la CFNR (167-170).

### 1.3.2.3 Láser confocal de barrido. Heidelberg Retina Tomograph

El HRT es un láser confocal de barrido diseñado para obtener imágenes tridimensionales del segmento posterior (171). El principio de la imagen confocal se basa en la utilización de diafragmas conjugados de tal forma que la retina se ilumina (longitud de onda corta de 676 nm, láser diodo rojo) a través de un agujero estenopeico, y un segundo agujero localizado en un plano conjugado con el primero permite pasar únicamente la luz que proviene del punto en que el primero concentra la luz. De este modo, cada corte óptico va a recoger información de un plano focal determinado. El instrumento realiza 3 series de barridos de 32 cortes tomográficos equidistantes. Para obtener imágenes tridimensionales de la cabeza del nervio óptico es necesario dibujar manualmente el borde de la papila, lo que confiere variabilidad a la prueba. Después de trazar el anillo, HRT determina automáticamente un plano de referencia situado 50 micras por debajo de la línea de contorno del borde del disco, en la zona del haz papilomacular (172). En sucesivas exploraciones, no es necesario volver a fijar el anillo, ya que el aparato toma como referencia el que se dibujó la primera vez.

Todos los valores de los parámetros que analiza HRT se ajustan por edad y se corrigen en relación al tamaño del disco, clasificando los valores en normales (señal verde), borderline (exclamación amarilla) o anormales (cruz roja). En la hoja de impresión, encontramos datos del paciente, su graduación e información sobre la calidad de la toma. A continuación, encontramos una fotografía del nervio sobre la cual se muestra el mapa topográfico de la papila, con la excavación representada en rojo. A partir de aquí, se obtienen la cup/disc area ratio y la cup shape measure, así como datos acerca de la asimetría entre ambos ojos. En el centro de la hoja de datos, encontramos información acerca de área y del volumen del RNR y de su asimetría entre ambos ojos. Por último, y al igual que GDX, vemos representado en un gráfico de contorno el grosor de la CFNR, con la clásica forma de doble joroba (173).

### **1.3.3 Tomografía de coherencia óptica**

La tomografía de coherencia óptica es un método de no contacto que permite obtener imágenes pseudohistológicas de la retina, el nervio óptico y la CFNR. Desde su introducción en la oftalmología, hace aproximadamente una década, su uso se ha diseminado en la práctica clínica. La OCT ha demostrado ser una herramienta auxiliar útil para evaluar la patología retiniana por su capacidad para obtener imágenes de cortes cuantificables. En el glaucoma, la OCT representa uno de los métodos capaces de documentar y analizar el disco óptico y la morfología de la CFNR para tratar de diagnosticar y monitorizar la neuropatía del nervio óptico. Los primeros OCT que llegaron al mercado fueron los Time-Domain OCT (TD-OCT), con menor resolución y prestaciones que los Spectral-Domain OCT (SD-OCT), que salieron años después.

#### **1.3.3.1 OCT de dominio tiempo**

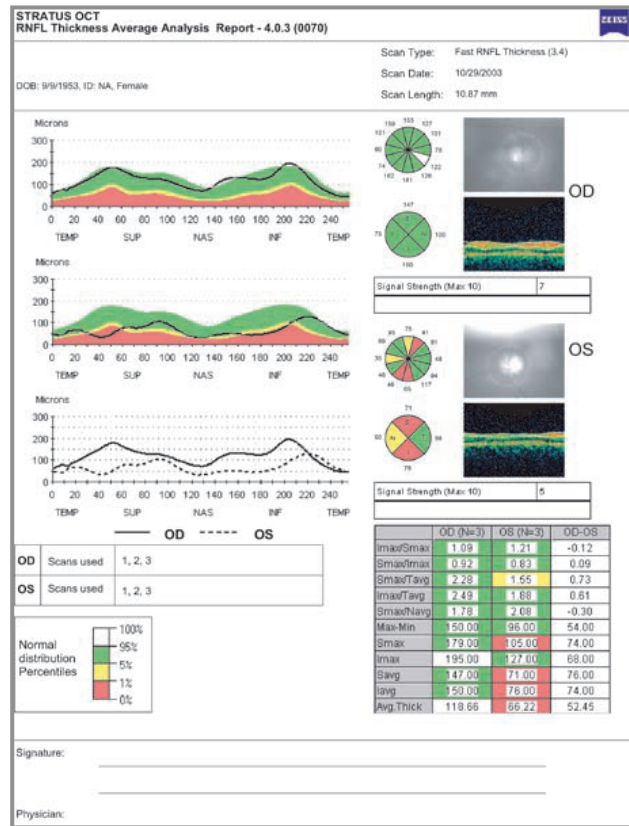
El OCT de dominio tiempo más difundido es OCT Stratus® (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA). OCT Stratus® contiene un interferómetro de fibra óptica que determina las estructuras retinianas midiendo el retraso de la luz reflejada y diseminada desde las diferentes capas de la retina comparando el retraso de la luz reflejada desde la retina con el retraso de la misma luz reflejada en espejo de referencia colocado a una distancia conocida. Un fotorreceptor detecta y mide esta interferencia usando interferometría de baja coherencia. La fuente de luz se va moviendo por la retina, proporcionando un mapa de dos dimensiones de la microestructura de la retina. Stratus® tiene una resolución axial teórica de 10 micras y una velocidad de escaneo de 400 A-Scan/segundo.

El protocolo de adquisición más utilizado para el análisis de la CFNR es el “Fast RNFL Thickness 3.4”, que nos permite la comparación con una base de datos en función de la edad (a partir de los 18 años) y el tamaño de la papila. Realiza tres escaneos alrededor de la papila óptica de 256 puntos con un diámetro de 3.46 mm. Este círculo es alineado manualmente sobre la papila, pero puede verse descentrado con los movimientos oculares durante la toma de imágenes. Presenta, por tanto, algunas limitaciones para captar la morfología de la CFNR por el movimiento del ojo durante el proceso de captura. Por otro lado, la estrategia más

utilizada para analizar los datos es el “RNFL Thickness Average Analysis”, que ofrece los datos de espesor en micras de la CFNR por sectores (12 sectores iguales), poniendo un código de colores de fondo según si los valores son normales o están disminuidos.

Los percentiles de distribución normal del grosor de la CFNR se distribuyen de la siguiente manera: El 1% de las mediciones que presentan un grosor disminuido de la CFNR se incluyen en el área roja y se consideran fuera de los límites normales (rojo < 1%, fuera de los límites normales). El 5% de las mediciones con un grosor disminuido de la CFNR se incluyen en el área amarilla y se consideran sospechosas. El 90% de las mediciones se incluyen en el área verde y se consideran normales. El 5% de las mediciones con un grosor mayor de lo esperado de la CFNR se incluyen en el área blanca. Se ha de tener en cuenta para cualquier medición individual que uno de cada 20 ojos normales (5%) se incluirán por debajo del área de color verde, considerada como normal.

Además de estos datos, el “RNFL Thickness Average Analysis” nos proporciona el valor del espesor medio, los datos por cuadrantes, datos de asimetría entre sectores y entre los dos ojos y un valor de la escala de intensidad de señal (del 1 al 10), que sería deseable que fuera de al menos seis puntos (figuras 10 y 11).



Figuras 10 y 11: OCT Stratus® y hoja de datos.

**Sensibilidad/Especificidad.** Diversos estudios han utilizado las curvas ROC para cuantificar el poder discriminativo del OCT en pacientes con glaucoma establecido. Las medidas con mejor sensibilidad y especificidad son el espesor de la CFNR en el cuadrante inferior y el espesor medio de la CFNR (área bajo la curva ROC: rango de 0.83 a 0.97, en ambos casos, según estudios). El siguiente cuadrante más útil es el cuadrante superior, seguido de las zonas horizontales. Estos hallazgos correlacionan con el hecho de que las zonas de la papila con más cantidad de fibras nerviosas son aquellas donde es más fácil detectar el daño glaucomatoso (164,174-181). Lógicamente, en pacientes que no tienen un glaucoma manifiesto en los que queremos detectar un daño precoz en el nervio óptico, los valores de las áreas bajo la curva de las curvas ROC son menores (0.82 de ABC ROC si el VFI del CV es del 100%, es decir, un CV normal) (182). En la Tabla 4, se resumen los valores de el ABC ROC de los diferentes parámetros medidos con TD-OCT en algunos artículos publicados sobre la CFNR en glaucoma (175-181,183-185).

Índices TD-OCT para la CFNR con Fast-RNFL										
<b>Grosor Medio</b>	0.84	0.83	0.91	0.90	<b>0.94</b>	<b>0.97</b>	0.88	0.83	<b>0.94</b>	0.89
<b>Cuadrante inferior</b>	0.86	0.83	0.91	0.91	<b>0.94</b>	<b>0.97</b>	0.90	0.84	<b>0.91</b>	0.88
<b>Cuadrante superior</b>	0.82	0.77	0.83	0.87	0.88	0.95	0.80	0.82	0.90	0.86
<b>Cuadrante temporal</b>	0.66	0.52	0.65	0.84	0.83	0.90	0.62	0.81	0.88	0.63
<b>Cuadrante nasal</b>	0.61	0.77	0.76	0.69	0.86	0.83	0.76	0.83	0.82	0.73
<b>Autor, año</b>	Kanamori, 2003	Huang, 2005	Medeiros, 2005	Leung, 2005	Wollstein, 2005	Budenz, 2005	Manassakorn, 2006	DeLeónOrtega, 2006	Narvani, 2007	Lu, 2008

Tabla 4. Índices TD-OCT para la CFNR con Fast-RNFL. Modificado de: Muñoz-Negrete FJ. Aplicaciones del estudio con OCT de la CFNR en el glaucoma (183).

**Reproducibilidad.** La reproducibilidad de Stratus® es muy buena y los estudios coinciden básicamente en los resultados. Budenz publicó que el coeficiente de correlación intraclase al realizar 6 medidas de la CFNR (Fast RNFL Thickness) con Stratus® OCT era de 0.95 (IC 95%: 0.93-0.97) en sanos y de 0.97 (IC 95%: 0.95-0.99) en glaucomatosos. Al analizar por cuadrantes, el cuadrante nasal era el menos reproducible con un coeficiente de correlación intraclase de 0.84 (IC 95% inferior de 0.79). La variabilidad test-retest fue de 3.5 micras en el promedio en sujetos sanos y de hasta 13.8 micras en el cuadrante nasal de los ojos glaucomatosos (185). Por otro lado, Arthur, encontró un coeficiente de correlación intraclase para el el valor global de la CFNR en sujetos sanos de 0.86 (IC al 95%: 0.77-0.94), siendo el valor global y el cuadrante inferior los de mejor reproducibilidad y el cuadrante nasal el de peores resultados con un coeficiente de correlación intraclase de 0.78 (IC al 95%: 0.66-0.90) (186,187).

Teniendo en cuenta la resolución y la variabilidad de la TD-OCT (teóricamente, unas 10 micras de resolución axial), se consideran sospechosos de progresión adelgazamientos mayores a 8 micras (174) o 11.67 micras (175), según el autor.

### **1.3.3.2. OCT de dominio espectral o Fourier**

La OCT de dominio espectral mejora considerablemente la resolución axial (5 micras) y la velocidad de adquisición de la imagen con respecto a los TD-OCT. Estas características hacen que las imágenes se vean menos influenciadas por los movimientos sacádicos oculares, que la calidad de las imágenes sea mucho mejor y que puedan realizarse reconstrucciones en tres dimensiones tanto de la retina como de la cabeza del nervio óptico. El aumento de la resolución permite, además, la visualización de estructuras imposibles de ver anteriormente, como los segmentos externos de los fotorreceptores y la capa de células ganglionares.

Existen en el mercado varios modelos de SD-OCT que van actualizándose y mejorando rápidamente, con variaciones entre ellos en todos los parámetros, aunque en este texto nos centraremos en el OCT Spectralis® de Heidelberg. De igual manera que los valores que obtenemos con los TD-OCT no son intercambiables con los SD-OCT (186,188-190), tampoco lo son entre sí los obtenidos entre diferentes SD-OCT (191), por lo que cada aparato debe tener su propia base de datos de normalidad.

#### **a) OCT Cirrus**

OCT Cirrus® (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) es un SD-OCT que utiliza un láser de diodo que emite una sonda con una longitud de onda de 840 nm que proporciona imágenes de las microestructuras oculares. Tiene una velocidad de escaneo de 27.000 A-scan por segundo y una resolución axial de 5 micras. Es 68 veces más rápido que TD-OCT y es capaz de obtener medidas en tres dimensiones de la retina y del nervio óptico. El protocolo que se utiliza para valorar el disco óptico es el “Optic disc cube 200 x 200”, que consiste en tomar datos de 1024 puntos en profundidad x 200 en vertical x 200 en horizontal. Con estos datos, construye un mapa de la CFNR de 6 mm cuadrados, identifica la papila del nervio óptico y su centro, posiciona automáticamente un círculo de 3.46 mm de diámetro alrededor del nervio y analiza el grosor de la CFNR en cada punto.

### **b) RTVue Fourier Domain OCT.**

OCT RTVue® (Optovue, Fremont, CA, USA) es un SD-OCT cuya velocidad de escaneo es de 26.000 A-scan por segundo y cuya resolución axial es también de 5 micras. Como en los otros aparatos, la gran velocidad de escaneo permite obtener un mayor número de imágenes y disminuye los artefactos ya que promedia varias imágenes en una sola para conseguir mayor nitidez. RTVue tiene también la opción de tomar imágenes del polo anterior. La base normativa de RTVue tiene en cuenta la edad, raza y tamaño del disco. Para el análisis del glaucoma, RTVue ofrece exploraciones cuantitativas de la CFNR (“RNFL 3.5”, que realiza un barrido circular de 3.45 mm de diámetro), del nervio óptico (“ONH”, con mapeado radial y circular de la papila) y de las células ganglionares de la mácula (“GCC”), cuyo mapeado puede ser útil para la detección precoz del glaucoma.

### **c) 3D OCT**

3D-OCT® (Topcon Medical Systems, Oakland, NJ, USA) es un SD-OCT combinado con una cámara no midriática de 3.1 a 12.3 megapíxels, según el modelo. La velocidad de escaneo va desde los 18000 A-scan por segundo en el 3D-OCT 1.000 a los 50.000 en el 3D-OCT FA Plus. La resolución axial es de 5 micras y la profundidad de foco de 2.3 mm. En el módulo de glaucoma, 3D-OCT ofrece varias posibilidades: patrón circular con sistema automático de centrado (modificable manualmente) y análisis de la CFNR con patrón 3D, en la que podemos ubicar un círculo para valorar el grosor de la CFNR en cualquier punto. Tiene una base de datos normativa en función de la cual, se representan los valores en la escala cromática clásica (verde, amarillo y rojo).

### **d) OCT Spectralis®**

OCT Spectralis® (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) combina un oftalmoscopio láser confocal de barrido con el procedimiento de adquisición de imágenes de sección transversal mediante el tomógrafo de coherencia óptica Spectral-Domain para la toma de imágenes. Durante la captura de imágenes, un rayo láser explora permanentemente el fondo de ojo, observa los movimientos de éste y sirve de como referencia para poder conducir un

segundo rayo láser sobre la posición apropiada para la adquisición de la imagen de sección transversal. Así, consigue congelar el barrido de la OCT sobre la imagen de fondo del ojo manteniéndolo siempre exactamente en la posición deseada, incluso en caso de movimientos oculares. Esto evita en gran parte los posibles artefactos en las imágenes, especialmente en barridos de volumen 3D. La opción “Follow Up” permite establecer una imagen como referencia para que en sucesivas exploraciones el OCT tome la imagen exactamente en el mismo lugar y pueda realizarse una comparación exacta en cuanto a los valores obtenidos. Así, se suprime el posicionamiento subjetivo de las imágenes de sección transversal y se consiguen detectar mínimas variaciones. Por otro lado, el Eye Tracking Activo permite adquirir varias imágenes de sección transversal OCT en la misma posición exactamente. La superposición automática en directo de las imágenes (ART, Automatic Real Time) permite diferenciar eficazmente las “interferencias” de las señales “verdaderas” provenientes del tejido. De este modo, se suprimen de manera segura todos los ruidos digitales obteniéndose así imágenes diagnósticas muy nítidas con buen contraste.

OCT Spectralis® da la posibilidad de realizar angiografías fluoresceínicas o con verde de indocianina, imágenes de autofluorescencia, imágenes libres de rojo, imágenes con infrarrojo y OCT, con un barrido de líneas de anchura, altura y densidad variables, una estrella o una circunferencia. La velocidad de escaneado es de 40.000 A-scan/segundo, la resolución axial es de 7 micras y de 4 micras tras el tratamiento digital de las imágenes y la resolución transversal es de 14 micras. Para el análisis de la CFNR, el software dispone del protocolo “CFNR”, con una base de datos normativa con la que compara los valores obtenidos mediante un escaneo circular (diámetro de 3.45 micras) alrededor de la papila. En el formato de impresión, aparece la imagen infrarroja de la papila, la imagen de OCT desdoblada con las líneas que delimitan la CFNR y que se pueden mover manualmente para mejorar el contorno en determinados casos, el gráfico de espesor medio y por cuadrantes (dividido en 6 sectores: nasal, nasal-superior, temporal-superior, temporal, temporal-inferior y nasal-inferior) y el gráfico TSINT. Los gráficos TSNIT y el de espesor medio tienen el código de colores habitual, de manera que el verde indica normalidad, el rojo indica espesor inferior al de los límites normales y el amarillo, caso borderline (figura 12). Además, el gráfico TSNIT muestra de forma detallada la existencia de cambios en la CFNR de todas las exploraciones realizadas a ese mismo paciente y ojo.

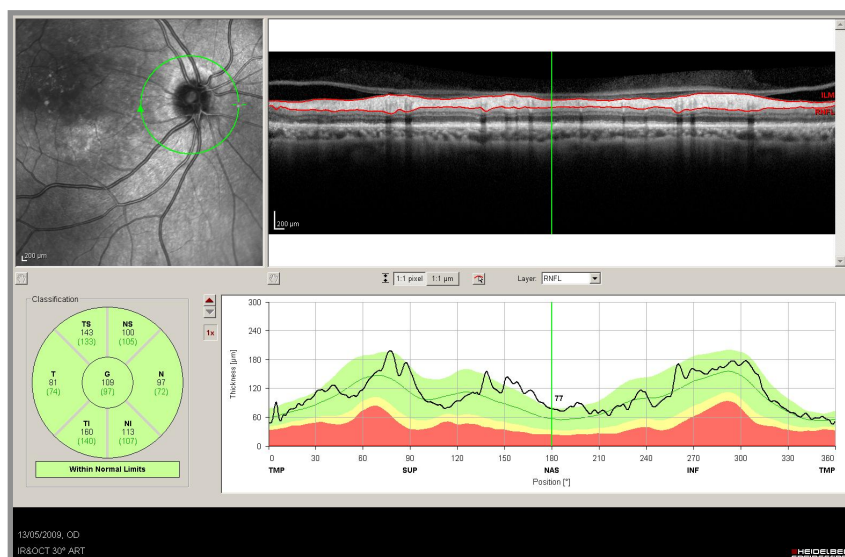


Figura 12. Hoja de datos de OCT Spectralis®.

Existen otros protocolos para el estudio de la cabeza del nervio óptico orientados al análisis de las enfermedades neurooftalmológicas. El “Programa axonal” organiza patrones específicos para neurología, el “Patrón RNFL-N” se centra sobretudo en el sector temporal de la papila, el “Patrón PMB (Nsite Axonal Analytics)” se centra en el haz papilo-macular, el “Volumen en vertical” escanea perpendicularmente a las fibras nerviosas, el “Patrón ONH-N” ofrece una visión 3D para edemas papilares y el “EDI” usado sobre la papila, ofrece imágenes profundas, llegando a la lámina cribosa.

Como vamos a realizar un breve estudio macular con este SD-OCT a nuestros pacientes, haremos una breve mención al análisis “Retinal Thickness Map” (figura 13). Con este análisis macular, podemos visualizar los promedios numéricos de las mediciones para cada una de los nueve subcampos definidos por el ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study). Estos nueve subcampos vienen definidos por tres anillos concéntricos situados a 1, 3 y 6 mm de la fovea, de forma que el promedio del área interior anillo central se define como grosor foveal central y los otros dos anillos se dividen en cuatro zonas cada uno. El anillo intermedio se compone de las zonas interior superior, interior nasal, interior inferior e interior temporal y el anillo exterior de las zonas exterior superior, exterior nasal, exterior inferior y exterior temporal.

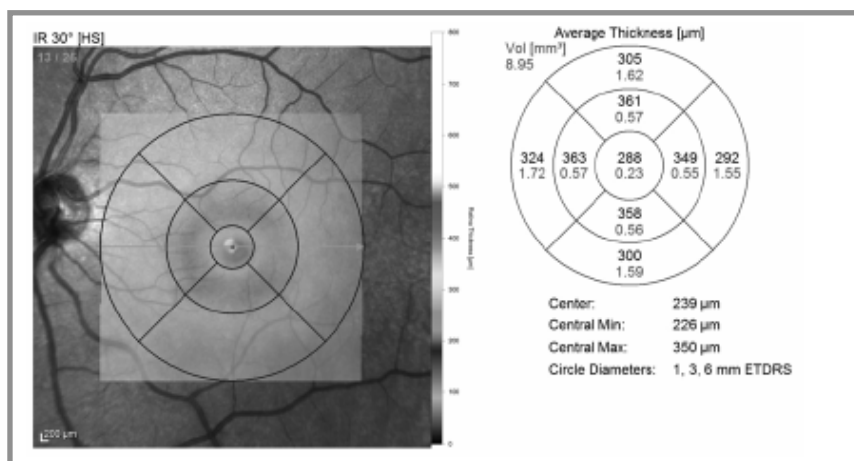


Figura 13. Retinal thickness map.

**Sensibilidad/Especificidad.** Puesto que nos encontramos ante una prueba diagnóstica, es de gran interés conocer su ABC ROC. En la Tabla 5 se resumen los valores de el ABC ROC de los diferentes parámetros medidos con SD-OCT en algunos artículos publicados sobre la CFNR en glaucoma (182,192-196).

Índices SD-OCT para la CFNR							
<b>Grosor Medio</b>	0.88	<b>0.95</b>	<b>0.95</b>	0.82	0.88	<b>0.88</b>	0.87
<b>Cuadrante inferior</b>	0.88	<b>0.95</b>	<b>0.95</b>	0.81	0.87	0.85	0.86
<b>Cuadrante superior</b>	0.85	0.92	0.93	0.81	0.88	<b>0.88</b>	0.86
<b>Cuadrante temporal</b>	0.75	0.78	0.81		0.69	0.70	0.72
<b>Cuadrante nasal</b>	0.70	0.62	0.74		0.60	0.73	0.71
<b>Autor, año</b>	Rao, 2010	Leung, 2010	Mwanza, 2010	Li, 2010	Leite, 2011		
<b>OCT</b>	RTVue	Cirrus	Cirrus	RTVue	Cirrus	Spectralis	RTVue

Tabla 5. Índices SD-OCT para la CFNR. Modificado de: Muñoz-Negrete FJ. Aplicaciones del estudio con OCT de la CFNR en el glaucoma (192).

Con OCT Spectralis®, los parámetros más discriminativos son el espesor del cuadrante superior y el espesor medio, con un ABC ROC de 0.88 en ambos casos (196). En glaucomas incipientes, el cuadrante superior muestra una ligera mayor ABC ROC, mientras que en los glaucomas moderados, el espesor medio tiene mejor ABC ROC (182,194,197,198). En el estudio comparativo de Leite, los 3 SD-OCT que estudió (Spectralis®, Cirrus® y RTVue®) tuvieron una capacidad diagnóstica similar (196). En los cuadrantes nasal y temporal, a veces no se llega a objetivar diferencia entre sanos y glaucomatosos, lo que indica que se afectan de forma más tardía. Según Mwanza, un adelgazamiento de al menos 4 micras medido con un Cirrus OCT, puede ser considerado sospechoso de progresión (198). Sorprendentemente, hay numerosos trabajos que comparan las curvas ROC para SD-OCT y TD-OCT que no encuentran que para el diagnóstico del glaucoma sean mejores los SD-OCT (199,200) .

**Reproducibilidad.** SD-OCT muestra una excelente reproducibilidad en la medición de la CFNR tanto en sujetos sanos como en glaucomatosos. En el estudio de Wu con Spectralis®, se realizaron 3 tomas en la misma visita en sujetos sanos y glaucomatosos con la opción de follow-up. La desviación estándar intrasujeto de la media global en sanos fue de 1.34 micras +/- 0.2 (media +/-1.96 por error estándar) y de 1.14 +/- 0.19 micras en glaucomatosos. El coeficiente de correlación intraclase fue a su vez de 0.99 (IC al 95%: 0.982-0.994) en sanos y de 0.996 en glaucomatosos (IC al 95%: 0.993-0.998) (201). Otros estudios arrojan resultados similares y ponen de manifiesto la mejoría significativa que suponen las opciones de seguimiento de la mirada y de “Follow Up” (186,202,203).

### 1.3.3.3 Artefactos de la OCT

Los artefactos en el examen de la papila, como cabe esperar, son más frecuentes con los TD-OCT. En los nuevos OCT de dominio espectral, el centrado automático, la fijación de la imagen previa a la captación y la rapidez en la toma de imágenes ha aumentado notablemente la calidad de las imágenes (204).

La baja señal es uno de los artefactos más frecuentes y se ve agravado por la edad, la miosis y la opacidad de medios (205). En los SD-OCT, sin embargo, si los medios son transparentes, las medidas en miosis y midriasis son muy similares (206). En un reciente artículo (207), se puso de manifiesto que al realizar la medición de la CFNR con TD-OCT en pacientes con

cataratas la intensidad de señal era menor y el grosor de la CFNR era un 9.3% menor de media que al realizar la misma medición sin la catarata, con lo cual, hay que tenerlo en cuenta a la hora de hacer diagnósticos de glaucoma. Por otro lado, el OCT Spectralis® tiene la ventaja del auto-tracking, que mejora la captación de las imágenes cuando hay movimientos oculares o parpadeo.

Otro tipo de artefacto es el error en el centrado del disco óptico, más común al utilizar aparatos de dominio tiempo. Este descentrado hace que se vean afectadas, sobretodo, las medidas por cuadrantes, pero la media puede ser muy similar a la de una imagen con buen centrado si el disco de 3.46 mm de diámetro donde se realiza la medida no corta la superficie de la papila (208).

La atrofia peripapilar es otra causa de artefacto, ya que el software puede identificar incorrectamente los bordes de la papila y dar medidas erróneas de área papilar, que en muchas ocasiones pueden corregirse modificando manualmente los puntos de referencia del EPR. La atrofia puede artefactar también la medida del grosor total de la retina cuando al círculo peripapilar atraviesa una zona de atrofia, pero parece no tener influencia sobre la medida de la CFNR (209). Con los nuevos OCT de dominio espectral, se ha mejorado mucho este aspecto, ya que la delimitación de los límites es mucho mejor.

#### **1.3.4. Anatomía de la CFNR desde la OCT**

En la sección de la retina obtenida con un OCT, se pueden distinguir líneas horizontales de distinta reflectividad. Las bandas se corresponden con las capas de la retina, sin embargo, su espesor no es proporcional al encontrado en los cortes histológicos. A diferencia de lo que ocurre en los cortes histológicos, en los que las capas se tiñen según sus componentes, en las imágenes de OCT vemos las capas según sus propiedades ópticas. La primera capa de alta reflectividad es la capa de fibras nerviosas de la retina, formada por los axones de las células ganglionares. Esta capa aumenta de espesor hacia la papila. Los vasos retinianos internos que circulan por esta capa generan un bloqueo al paso de la luz del OCT dando lugar a una sombra posterior. La siguiente capa, de reflectividad media, se corresponde con la capa de células ganglionares, que igualmente aumenta de espesor alrededor de la papila, y que suele verse representada en el mismo color que la siguiente capa, la capa plexiforme interna. Las

siguientes bandas son la capa nuclear interna, de baja reflectividad, y la plexiforme externa, de reflectividad media. La siguiente banda hiporreflectiva, en contacto con la depresión foveal, es la capa nuclear externa, seguida de la membrana limitante externa, de reflectividad media. A continuación, encontramos tres líneas hiperreflectantes paralelas que corresponden más internamente a la unión de los segmentos internos y externos de los fotorreceptores (IS/OS), en el centro el EPR y, en la parte externa, el complejo membrana de Bruch-coriocapilar (figura 14).

La CFNR está constituida por los axones de las células ganglionares y los astrocitos, que dan soporte. La distribución de fibras nerviosas estudiada mediante OCT alrededor de la papila del nervio óptico sigue la regla ISNT. A nivel papilar, también se distingue el resto de capas de la retina y la CFNR presenta un grosor mayor (204).

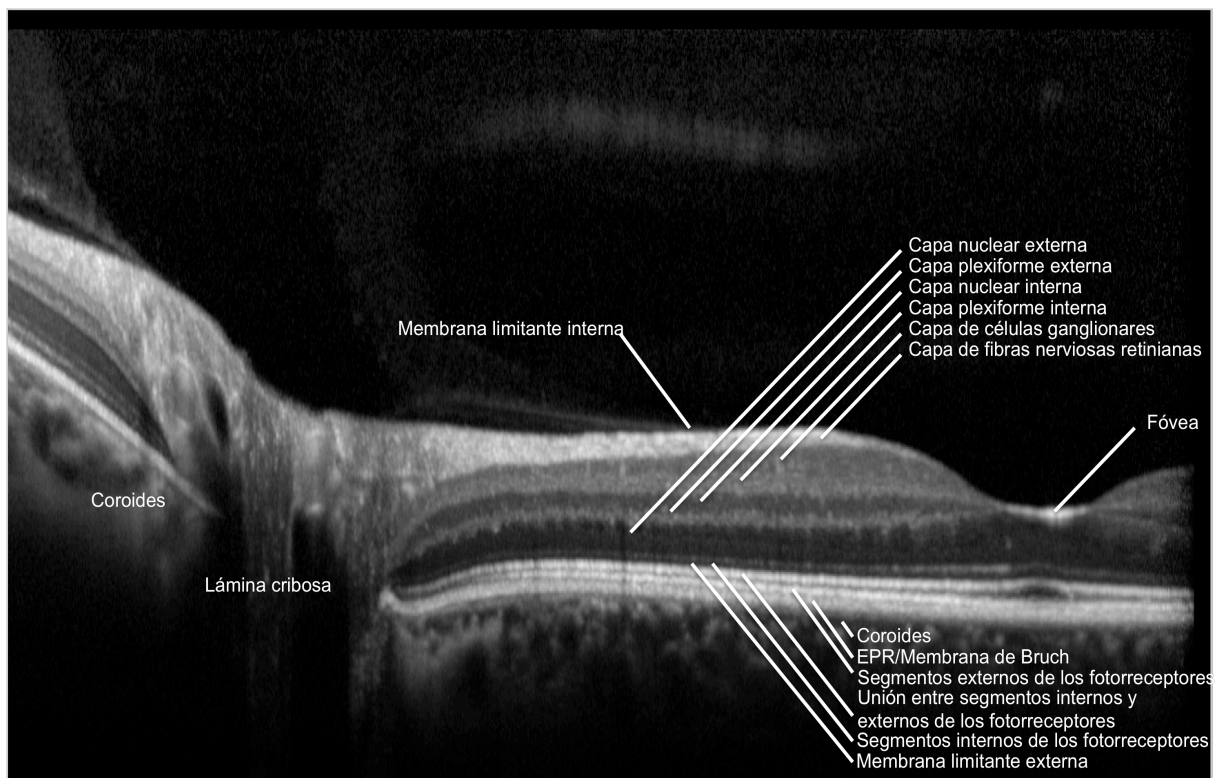


Figura 14. Capas de la retina con OCT Spectralis®.

### **1.3.5. Evaluación clínica de la capa de fibras nerviosas**

La OCT cuantifica el grado de adelgazamiento de la CFNR en el glaucoma y también en otras neuropatías no glaucomatosas, en las que puede haber tanto adelgazamiento (atrofia) como engrosamiento de la CFNR (edema, inflamación). En líneas generales, el patrón de adelgazamiento en las neuropatías afecta predominantemente al sector temporal que suele estar respetado en el glaucoma hasta fases avanzadas (210).

Los valores de normalidad al utilizar TD-OCT han sido obtenidos por la casa comercial a partir de la valoración de cientos de papilas de ojos normales, con edades comprendidas entre los 18 y los 80 años. Los valores de grosor medio de la CFNR considerados como normales son de 82 a 118 micras.

Cuando desarrollamos la idea de iniciar este estudio, apenas disponíamos de datos de normalidad de la CFNR medidas con SD-OCT. Ahora sabemos que las diferencias entre los diferentes aparatos hacen que los valores para sujetos normales y, por tanto para sujetos con patología, no sean extrapolables. Estas medidas de normalidad oscilan en un rango de 89.9 y 113 micras, según el dispositivo estudiado, y condiciona que cada OCT tenga una base de datos de normalidad propia (211). En el caso de Spectralis®, los datos de normalidad incluyen sujetos con edades comprendidas entre los 18 y los 78 años y el método de comparación con la normalidad está basado en un regresión lineal partiendo de la media de edad de los valores normales y con una progresión de 0.75 micras por década. Por ejemplo, la media global para sujetos normales con una edad media de 48 años sería de 97 micras, con un rango de normalidad de 82 a 111 micras (tabla 6).

<b>Distribución normativa por sectores para la edad de de 48 años</b>									
	<b>P</b>	<b>N</b>	<b>NI</b>	<b>TI</b>	<b>T</b>	<b>HPM</b>	<b>TS</b>	<b>NS</b>	<b>N</b>
<b>Por encima de los límites normales (p&lt;0.01)</b>	≥ 117	≥ 105	≥ 157	≥ 184	≥ 101	≥ 76	≥ 171	≥ 146	≥ 105
<b>Límite por encima (p&lt;0.05)</b>	111-117	95-105	142-157	171-184	93-101	70-76	160-171	133-146	95-105
<b>Dentro de los límites normales (p&gt;0.05)</b>	82-111	48-95	69-142	111-171	54-93	42-70	107-160	71-133	48-95
<b>Límite por debajo (p&lt;0.05)</b>	76-82	38-48	53-69	98-111	46-54	37-42	96-107	58-71	38-48
<b>Por debajo de los límites normales (p&lt;0.01)</b>	≤ 76	≤ 38	≤ 53	≤ 98	≤ 46	≤ 37	≤ 96	≤ 58	≤ 38
<b>Media</b>	97	72	105	141	74	56	134	102	72

Tabla 6: P: promedio. PMB: Haz papilomacular. (Modificado de Heidelberg Engineering en Bloss Group).

¿Qué variables clínicas pueden influir en el espesor de la CFNR? Es un hecho conocido que existe un adelgazamiento progresivo de la CFNR con la edad, pero también influyen otros factores. Varios autores han tratado de cuantificar esa pérdida, como recoge la tabla 7.

OCT	Resultados	Autor/año
Stratus®	CFNR decrece 2.6-2.9 micras/10 años y aumenta 1.5-1.8 micras por dioptría positiva.	Hougaard, 2006.
Stratus®	Disminución de la RNFL de 0.16 micras/año, sobretodo cuadrante superior.	Parikh, 2007
Stratus®	Media: 100.1 micras (SD: 11.6). Pérdida de 2 micras/10 años (CI95%:1.1-3.4)	Budenz 2007
Stratus®	Adelgazamiento de la RNFL de 0.27%/año y de 0.5%/ año de células ganglionares medido por perimetría.	Harwerth, 2008
Stratus®	Pérdida media de 0.43±0.92 micras/año (sup: 0.19+/-1.85 e inf: 0.52+/-2.49).	Grewal, 2012
Spectralis®	Media: 97.2 ± 9.7 micras. Pérdida con la edad (r = -0.214) de 1.90 micras/10 años. Correlación también con longitud axial (r = -0.391) y error refractivo (r = 0.396).	Bendschenider, 2010
Cirrus®	Análisis transversal: Correlación negativa entre edad y promedio (-0.33 micras/año), inferior (-0.45 micras/año) y temporal (-0.31 micras/año). Análisis longitudinal: Tasas medias de cambio de la CFNR promedio, superior e inferior: -0.52, -1.35 y -1.25 micras/año, respectivamente.	Leung, 2012

Tabla 7. Hougaard 2006 (212), Parikh 2007 (213), Budenz 2007 (214), Harwerth 2008 (215), Grewal 2012 (216), Bendschneider 2010 (217), Leung 2012 (218).

Por otro lado, tenemos que el tamaño de la papila también influye en el valor de la CFNR, ya que a mayor tamaño de la papila, mayor valor de la CFNR (197). Una explicación posible es que como el diámetro del anillo de medida no varía, los valores serían tomados más cerca del

disco, sobreestimando el valor de la CFNR, ya que ésta disminuye de grosor a medida que se aleja del nervio. La longitud axial también muestra correlación con el grosor de la CFNR, de manera que a mayor longitud axial, menor es el grosor de la CFNR (216,217).

## **OBJETIVOS**



## 2 OBJETIVOS

Objetivo principal:

Evaluar de forma prospectiva los cambios en la capa de fibras nerviosas de la retina inducidos por la administración intravítrea de fármacos inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial.

Objetivos secundarios:

- a) Evaluar el efecto de la administración intravítrea de fármacos anti-factor de crecimiento vascular endotelial sobre la presión intraocular.
- b) Evaluar la posible toxicidad directa (presión intraocular independiente) de los fármacos anti-factor de crecimiento vascular endotelial sobre la capa de fibras nerviosas de la retina.
- c) Evaluar la correlación entre la tomografía de coherencia óptica de dominio temporal y la de dominio espectral en los resultados del estudio.



## **MATERIAL Y MÉTODOS**



## **3 MATERIAL Y MÉTODOS**

### **3.1 Diseño del estudio**

El siguiente es un estudio longitudinal prospectivo y controlado diseñado para analizar el grosor de la CFNR en pacientes con DMAE tratados con ranibizumab intravítreo. Se realizó una medición inicial basal y otra al mes tras la primera inyección intravítrea, a los 3 meses, a los 6 meses y a los 12 meses. Para ello, se utilizaron dos tomógrafos de coherencia óptica diferentes: un Stratus® OCT (TD-OCT) y un Spectralis® OCT (SD-OCT). El estudio cumple con los principios de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité de ética del Hospital Clínico San Carlos de Madrid.

### **3.2 Clasificación de los grupos**

A cada sujeto de estudio se le realizó una completa historia ocular y sistémica para seleccionar los pacientes que cumplían los requisitos para el estudio.

#### **3.2.1 Casos**

Se reclutaron 54 ojos de 54 pacientes consecutivos diagnosticados de DMAE exudativa del departamento de Retina del Hospital Clínico San Carlos. Sólo se incluyeron en el estudio aquellos pacientes con DMAE de tipo exudativo que fueran a recibir por primera vez inyecciones intravítreas de ranibizumab. El diagnóstico de la DMAE se estableció por la demostración de la aparición anómala de neovasos coroideos o de una membrana neovascular coroidea. Las pruebas diagnósticas que se utilizaron para el diagnóstico fueron la SD-OCT y la AFG. El protocolo habitual seguido en el Servicio de Retina para el tratamiento de la DMAE siguió las pautas de la Agencia Europea del Medicamento (EMA). Este estudio no interfirió en estas pautas y su aplicación fue la habitual. La dosis de carga habitual de ranibizumab intravítreo es de una inyección al mes durante los tres primeros meses tras el diagnóstico y, posteriormente, una nueva inyección en caso de demostrarse reactivación de la

lesión exudativa en la retina (pro re nata). Se incluyó sólo un ojo de cada paciente como caso, si cumplía los criterios de inclusión.

### **3.2.2 Controles**

Se incluyeron 30 ojos de 30 pacientes como controles, que correspondían a los ojos adelfos de los pacientes elegidos como casos, que no cumplieran criterios de exclusión y que no tuvieran DMAE susceptible de tratamiento.

### **3.3 Criterios de inclusión y exclusión**

#### **Criterios de inclusión:**

- Personas de ambos sexos con edad para otorgar el consentimiento legal.
- Presencia de DMAE exudativa.
- No tratamientos previos para la DMAE.
- Obtención de la firma del consentimiento informado antes de cualquier procedimiento del estudio.
- Posibilidad de completar el curso del estudio y cumplir adecuadamente con las instrucciones que se le den.

#### **Criterios de exclusión:**

- Enfermedad general (p. ej., hipertensión, diabetes) no controlada.
- Falta de colaboración para realizar las pruebas.
- Tratamiento previo para la DMAE.
- Patología del nervio óptico, incluido el glaucoma.
- Presión intraocular elevada (mayor o igual de 21 mm Hg).
- Factores asociados a glaucoma secundario.
- Cualquier enfermedad ocular activa (p. ej., uveítis, infecciones oculares o sequedad ocular intensa).

- Enfermedades o situaciones oculares que contraindiquen la realización de las pruebas previstas.
- Enfermedad o estado del paciente que, en opinión del investigador, aumente significativamente su riesgo, interfiera los resultados del estudio o dificulte notablemente la participación del enfermo en el estudio.

### 3.4 Variables recogidas

Se recogieron las siguientes variables en una tabla Excel:

- Número de paciente
- Número de historia clínica
- Grupo: caso/control
- Ojo: derecho/izquierdo
- Tipo de membrana neovascular: clásica, predominantemente clásica, mínimamente clásica, oculta, proliferación angiomatosa retiniana y vasculopatía polipoidea
- Fecha de nacimiento: edad
- Sexo: masculino/femenino
- Fecha de cada inyección
- Número de inyecciones
- Incremento de PIO con cada inyección: sí/no, valor
- Necesidad de tratamiento hipotensor con cada inyección: sí/no
- Agudeza visual: basal, 1 mes, 3 meses, 6 meses y 1 año.
- Grosor promedio de la CFNR con TD-OCT: basal, al mes, a los 3 meses, a los 6 meses y a los 12 meses.
- Grosor promedio con TD-OCT de cuadrantes superior, inferior, nasal y temporal, por separado: basal, al mes, a los 3 meses, a los 6 meses y a los 12 meses.
- Grosor promedio de la CFNR con SD-OCT: basal, al mes, a los 3 meses, a los 6 meses y a los 12 meses.
- Grosor promedio con SD-OCT de cuadrantes superior, inferior, nasal y temporal, por separado: basal, al mes, a los 3 meses, a los 6 meses y a los 12 meses.
- Grosor macular con SD-OCT basal y a los 12 meses: grosor foveal central, zonas interior superior, interior nasal, interior inferior e interior temporal y zonas exterior superior, exterior nasal, exterior inferior y exterior temporal.

### 3.5 Calendario de visitas

El periodo de reclutamiento fue de 11 meses, con un año de seguimiento para cada paciente.

#### **Visita basal:** de reclutamiento (visita 1):

Generalmente, coincidió con el día en que el paciente acudía al Hospital para su primera inyección intravítrea de ranibizumab. Se explicó a todos los pacientes la naturaleza y propósito del estudio, se respondió a sus preguntas, se les entregó la hoja informativa del protocolo del estudio y firmaron el consentimiento informado cuando estuvieron de acuerdo. Se les realizó una historia oftalmológica y médica general, así como una exploración ocular con biomicroscopía, una toma de PIO, una tomografía con TD-OCT y una tomografía con SD-OCT de la papila óptica. Se tomó la PIO una hora tras la inyección y, si ésta había sufrido un incremento mayor de 5 mm de Hg con respecto a la PIO basal, se citó al paciente al día siguiente para un nuevo control de PIO. Si la PIO superaba los 30 mm de Hg o existía un aumento mayor a 10 mm de Hg con respecto a la basal, se revisaba al paciente una hora más tarde para instaurar tratamiento precoz si la PIO se mantenía en esos niveles.

#### **Visita de control de PIO a las 24 horas:**

No siempre necesaria: si la PIO seguía elevada, debía instaurarse tratamiento tópico para su control.

#### **Vista 2:** 1 mes postinyección.

Coincidió con la segunda inyección intraocular del paciente. Se realizó una toma de PIO, un OCT con TD-OCT y un OCT con SD-OCT. Se tomó de nuevo la PIO una hora tras la inyección y, si ésta había sufrido un incremento mayor de 5 mm de Hg con respecto a la PIO basal, se citó al paciente al día siguiente para un nuevo control de PIO.

#### **Visita de control de PIO a las 24 horas:**

No siempre necesaria: si la PIO seguía elevada, debía instaurarse tratamiento tópico para su control.

**Visita 3:** 2 meses postinyección.

Coincidió con la tercera inyección intraocular del paciente. Control de PIO pre y postinyección (Idem que visita 2)

**Visita de control de PIO a las 24 horas:**

No siempre necesaria: si la PIO seguía elevada, debía instaurarse tratamiento tópico para su control.

**Visita 4:** 3 meses postinyección.

Se realizó una TD-OCT y una SD-OCT.

**Visita 5:** 6 meses postinyección.

Se realizó una TD-OCT y una SD-OCT.

**Visita 6:** 12 meses postinyección.

Se realizó una TD-OCT y una SD-OCT.

**Visitas de control de PIO pre y post inyección “extras”:**

Sólo si el paciente requirió inyecciones intraoculares tras la dosis de carga.

### **3.6 Consentimiento informado**

Se explicó a todos los pacientes la naturaleza y propósito del estudio, se respondió a sus preguntas, se les entregó la hoja informativa del protocolo del estudio y firmaron el consentimiento informado cuando estuvieron de acuerdo con ser incluidos en el estudio (Anexo IV).

La hoja de información (Anexo III) incluía una descripción de la patología del paciente y del proceso de estudio que se iba a realizar. Se explicaba al paciente que no existían problemas descritos en la realización de las pruebas y que llevaríamos un control adicional de su PIO.

Cuando el paciente estuvo informado y realizó las preguntas que creyó oportunas, se le entregó la hoja del Consentimiento Informado para que la leyera y, si estaba de acuerdo,

rellenara sus datos y lo firmara. Una vez firmado, el paciente quedaba incluido en el estudio. Todos los documentos (Consentimiento Informado y Hoja de Información) fueron aprobados previamente por el Comité Ético del Hospital Clínico San Carlos (Anexo I).

Se explicó a los pacientes que podían revocar el Consentimiento Informado en cualquier momento sin tener que dar ninguna explicación y sin que eso influyera en su tratamiento y seguimiento posterior.

En el presente estudio, se cumplieron todos los principios éticos incluidos en la Declaración de Helsinki, en relación a la investigación médica en seres humanos.

### **3.7 Anamnesis y exploración oftalmológica**

El protocolo de exploración se realizó siguiendo el orden del calendario de visitas (Anexo II).

#### **3.7.1 Historia clínica general y oftalmológica:**

- Datos epidemiológicos. Edad, sexo, raza.
- Antecedentes personales de interés tanto oftalmológicos como generales para descartar la presencia de criterios de exclusión.

#### **3.7.2 Exploración oftalmológica**

- Mejor agudeza visual corregida, que se tomaba en cada visita del paciente con la escala ETDRS, siempre en la misma habitación y con condiciones lumínicas similares.
- Biomicroscopía con lámpara de hendidura (Haag-Streit 900, Bern, Suiza), para evaluar el globo ocular y descartar criterios de exclusión.

- PIO con un tonómetro de Perkins (tonómetro de mano Perkins tipo MK2, Clement Clarke International, Essex, Inglaterra) tras instilación de una gota de fluoresceína sódica 2.5 mg/ml y clorhidrato de oxibuprocaina 4 mg/ml en solución acuosa (Fluotest colirio, Alcon Cusi, Barcelona, España).
- Análisis de la CFNR con un TD-OCT y un SD-OCT.

### **3.8 Adquisición de datos**

En la introducción (apartado 1.3.3) se han comentado ampliamente las características de los dos dispositivos que hemos utilizado para realizar las mediciones.

#### **3.8.1 OCT Stratus®**

La medición del grosor de la CFNR a nivel peripapilar se realizó automáticamente mediante el protocolo “Fast RNFL Thickness 3.4” del Stratus® OCT 3000 (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA). Este protocolo consiste en la medición de un total de 256 A-scan a lo largo de un anillo circular de 3.46 mm de diámetro centrado manualmente en el nervio óptico.

Se requirió una pupila de al menos 4 mm diámetro para poder realizar las tomas. Para ello, se bajó la iluminación de la sala y, con el paciente correctamente colocado en el dispositivo, se le pidió que mirara hacia una luz situada en el lado contralateral al ojo de exploración hasta ver en la pantalla la imagen de la retina y del nervio. Tras enfocar correctamente la papila, se centró el círculo de exploración para inmediatamente realizar la toma o toma. Para el presente estudio, se utilizaron las exploraciones adquiridas con calidad suficiente (intensidad de la señal  $\geq 6$ ), observando que el anillo estuviera centrado alrededor del nervio óptico sin cortar la superficie de la papila, ya que los datos de promedio en estos casos son fiables (figura 15).

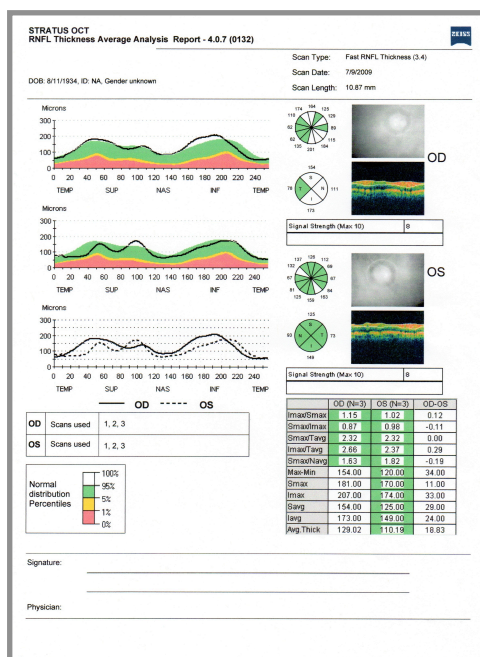


Figura 15: Hoja de datos de OCT papilar de OCT Stratus®.

Las siguientes medidas fueron analizadas: grosor medio de la RNFL (360°) y grosor de la misma en los cuadrantes superior, nasal, temporal e inferior.

### 3.8.2 OCT Spectralis®

La OCT de dominio espectral mejora considerablemente la resolución axial (5 micras) y la velocidad de adquisición de la imagen con respecto a los TD-OCT.

Previamente a la captación de la imagen, con el paciente correctamente colocado en el dispositivo, se le pidió que mirara hacia una luz situada en el lado contralateral al ojo de exploración. A continuación, se enfocó con la mayor exactitud posible la papila y los vasos y se “fijó” la imagen en la pantalla. Usando el protocolo “RNFL Thickness”, se centró correctamente el anillo alrededor de la papila y se captó la imagen. Se desecharon las tomas de mala calidad hasta obtener una buena definición de la papila y de los vasos sanguíneos y un anillo de exploración correctamente centrado en la papila del nervio óptico, ya que era uno de los criterios de calidad para poder utilizar esa exploración. A continuación, se estableció como referencia esa primera exploración. En sucesivas visitas, se utilizó la opción “Follow

Up”, que permitió tomar la nueva imagen exactamente en el mismo lugar que la de referencia y detectar mínimas variaciones.

La superposición automática en directo de las imágenes (ART, Automatic Real Time) permite diferenciar eficazmente las “interferencias” de las señales “verdaderas” provenientes del tejido. En este caso, se exigió una puntuación mayor de 16. De este modo, se suprimieron de manera segura todos los ruidos digitales y se obtuvieron imágenes diagnósticas muy nítidas con buen contraste. Estas características hicieron que las imágenes se vieran menos influenciadas por los movimientos oculares y que tuvieran una calidad mucho mejor. Con tal de conseguir las mejores imágenes, se requirió una proporción signal-to-noise mayor o igual a 15 dB.

En las tomas en que la CFNR no estuviera correctamente delimitada por las dificultades del software para encontrar los límites exactos, se mejoró manualmente la delimitación de la CFNR.

Las siguientes medidas fueron analizadas en los resultados: grosor medio de la RNFL (360°) y grosor de la misma en los cuadrantes superior, nasal, temporal e inferior. Para obtener los valores del cuadrante superior, se realizó la media aritmética entre el nasal superior y el temporal superior y de igual manera se procedió para obtener los valores del cuadrante inferior: se realizó la media entre el nasal inferior y el temporal inferior (figura 16).

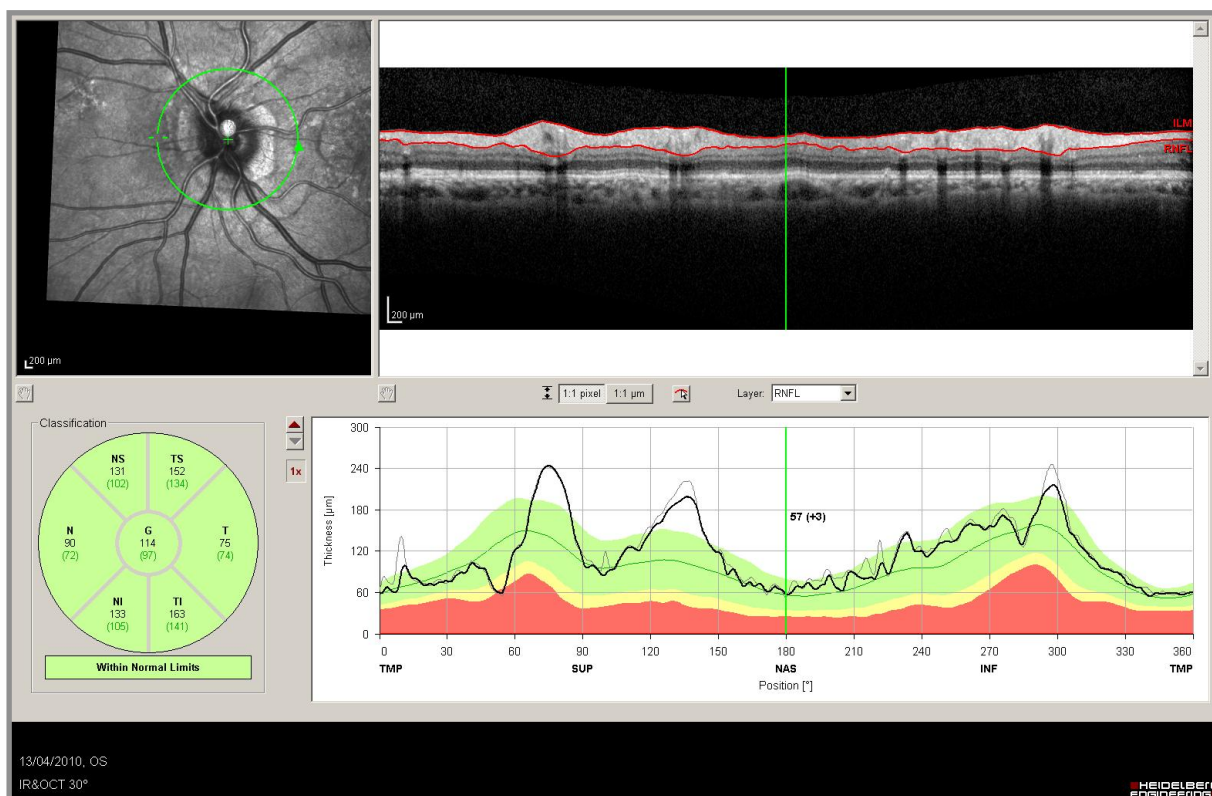


Figura 16: Hoja de datos de OCT papilar de OCT Spectralis®.

Para descartar que el edema macular asociado a la DMAE llegara hasta el nervio óptico e influenciara la medida de la CFNR, se realizó una exploración macular basal y a los 12 meses con “Follow-Fp” en los casos. Se utilizó el análisis “retinal thickness map” para visualizar los promedios numéricos de las mediciones para cada una de los 9 subcampos definidos por el ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) (figura 17). Se consideraron para el análisis 3 anillos concéntricos situados a 1, 3 y 6 mm de la fovea. El promedio del área interior anillo central se definió como grosor foveal central. El anillo intermedio se dividió en 4 zonas para el análisis (interior superior, interior nasal, interior inferior e interior temporal) y lo mismo se hizo con el anillo exterior (exterior superior, exterior nasal, exterior inferior y exterior temporal). Los valores numéricos se utilizaron posteriormente en el análisis estadístico.

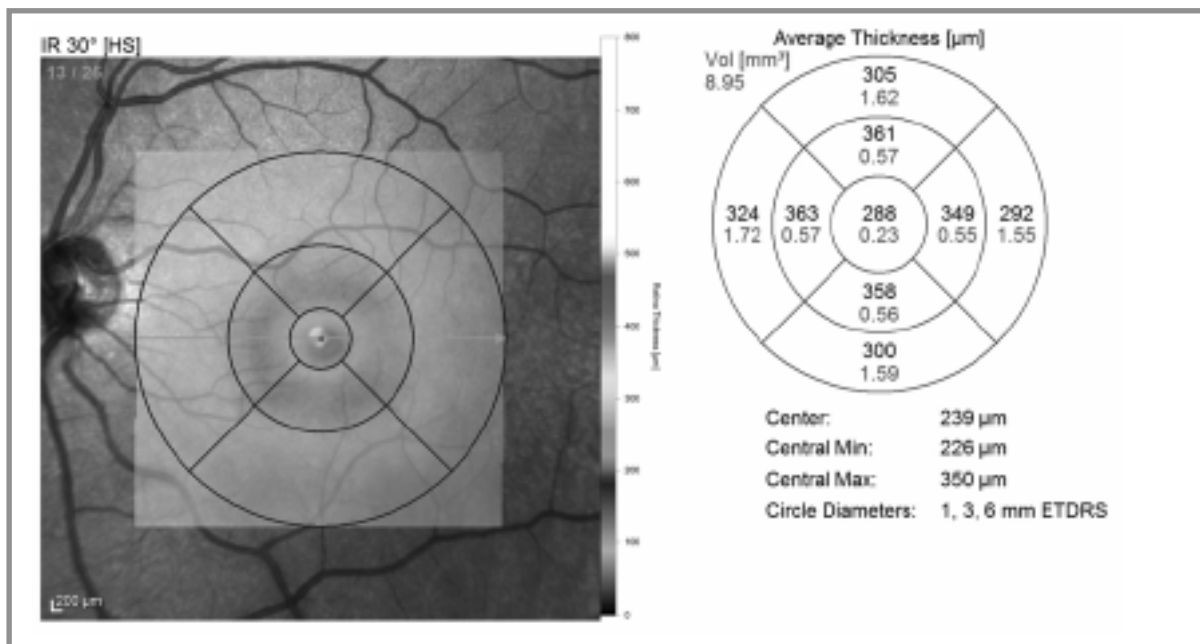


Figura 17: Retinal thickness map de OCT Spectralis®.

### 3.9 Método estadístico

Todos los datos del estudio fueron incorporados a una base de datos del programa Microsoft Excel 2008 para Mac (Versión 12.0). La tabla fue diseñada específicamente para este estudio.

Todos los test estadísticos se llevaron a cabo utilizando el programa SPSS versión 18.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL), utilizando la base de datos de Excel. Mediante el test de Kolmogorov-Smirnov se evaluó la normalidad de las distintas variables cuantitativas de estudio. Las variables cuantitativas se expresaron mediante sus correspondientes medias y desviación estándar. La mediana y el rango intercuartílico se utilizaron para describir las variables con distribución no normal.

Los cambios intragrupo del análisis del grosor de la CFNR con respecto al valor basal en cada uno de los grupos de estudio se realizó mediante el test de la t-pareada de Student. Los cambios entre los dos grupos durante el seguimiento se realizaron utilizando un test de ANOVA para medidas repetidas.

La correlación entre el grosor macular y el grosor de la CFNR se evaluó con el coeficiente de correlación de Pearson.

Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo para todas las comparaciones. El efecto de comparaciones múltiples se compensó utilizando el test a posteriori de Bonferroni.

## **RESULTADOS**



### 4.1 Estadística descriptiva.

#### 4.1.1. Características del grupo de estudio

Cincuenta y cuatro pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión fueron incluidos en el estudio. 54 ojos fueron válidos como casos y 30 ojos contralaterales cumplieron criterios como controles. 49 casos y 27 controles cumplieron con el seguimiento previsto y fueron utilizados para el análisis, lo que supuso un 9.2% de pérdidas en los casos y un 10% en los controles. Uno de los ojos control fue eliminado del estudio por el desarrollo de una neovascularización en dicho ojo; el resto de los pacientes fue retirado del estudio por no acudir a las visitas previstas.

Edad: La media de edad de los casos fue de 79.2 años (DE 7.0) y la de los controles de 77.2 (DE 6.5), con diferencia no significativa ( $p=0.233$ ).

Género: En cuanto a los casos, 20 pacientes eran varones y 29 mujeres y, en los controles, la proporción fue de de 13 varones y 14 mujeres.

Tipo de membrana neovascular (casos): el 67.3% eran MNV ocultas, el 6.1% eran MNV mínimamente clásicas, el 22.4% eran MNV predominantemente clásicas y el 4.2% eran MNV de tipo proliferación angiomasosa retiniana.

El total de inyecciones realizadas a lo largo del seguimiento fue de 236 (rango 3-8), con una media de inyecciones por ojo a los 12 meses de 4.8 (DE 1.6).

La agudeza visual (AV) media de los casos fue de 55.1 letras (DE 20.4) al inicio, de 61.3 letras (DE 18.3) a los 3 meses, de 61.3 letras (DE 18.8) a los 6 meses y de 58.6 letras (DE 21.3) a los 12 meses de seguimiento. La AV media de los controles fue de 62.9 letras (DE 28.9) al inicio, de 64.8 letras (DE 27.1) a los 3 meses, de 65.2 letras (DE 28.7) a los 6 meses y de 64.9 letras (DE 28.4) a los 12 meses de seguimiento.

	Casos (n=49)	Controles (n=27)
Género		
Varones/Mujeres	20/29	13/14
Raza		
Caucásicos	49 (100)	27 (100)
Edad		
Media (años)	79.2	77.2
Desviación Estándar	7.0	6.5
Tipo de lesión		
Predominantemente clásica	22.4%	
Mínimamente clásica	6.1%	
Oculta	67.3%	
Otras (RAP)	4.2%	
Mejor AV corregida		
Basal	55.1 ± 20.4	62.9 ± 28.9
3 meses	61.3 ± 18.3	64.8 ± 27.1
6 meses	61.3 ± 18.8	65.2 ± 28.7
12 meses	58.6 ± 21.3	64.9 ± 28.4
Presión intraocular basal		
Media	13.8	14
Mediana; rango	14; 8-21	8-20
Presión intraocular 1 hora postinyección		
Media	13.9	
Mediana; rango	14; 8-28	

Tabla 8. Estadística descriptiva

La PIO intraocular basal fue de 13.8 mm Hg. en los casos, con un rango de 8 a 21 mmHg, y de 14 mmHg en los controles, con un rango de 8 a 20 mm Hg.

La incidencia de picos hipertensivos (incremento de PIO mayor de 5 mmHg) a la hora de la inyección fue del 0.4%, que corresponde a un único paciente cuya PIO era igual al valor basal a las 24 horas. Ningún paciente requirió tratamiento hipotensor por incrementos mayores de 10 mmHg ni por valores superiores a 30 mm Hg mantenidos. En ningún caso se registraron picos hipertensivos en los controles de las 24 horas postinyección. En la tabla 9 se muestran las medias de los valores previos a cada inyección y una hora después, en el grupo de los casos.

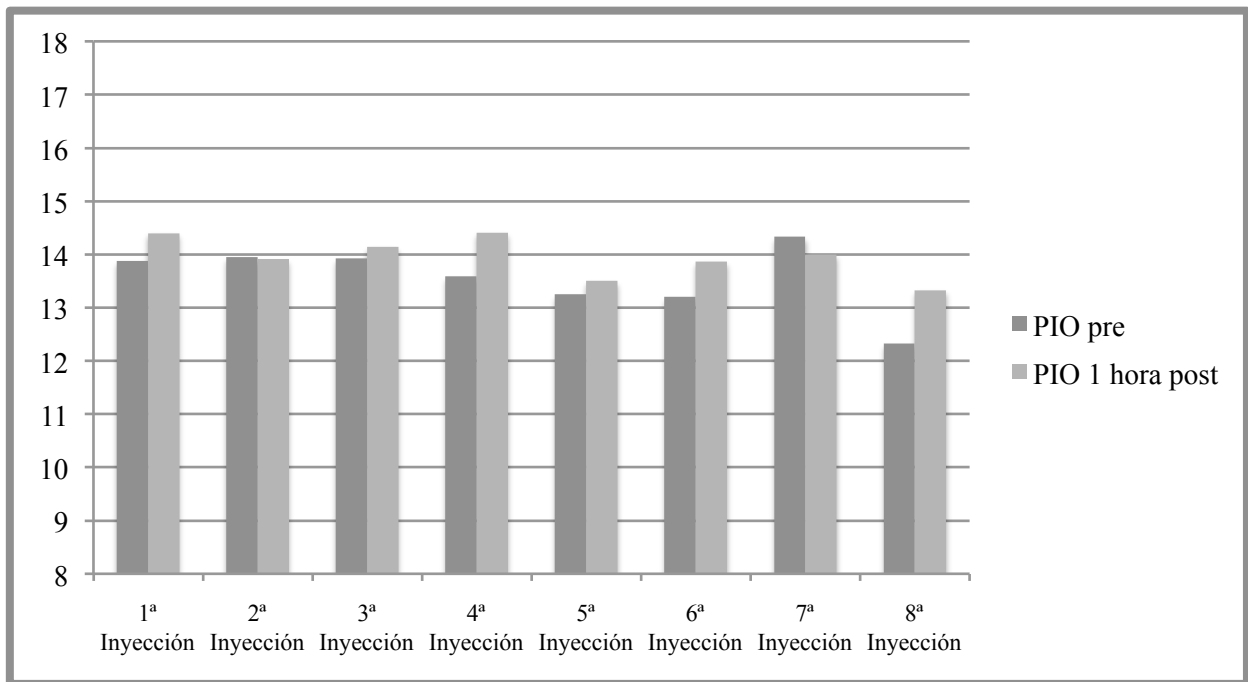


Tabla 9. Estadística descriptiva. Valores de las presiones basales y una hora tras la inyección en el grupo de los casos.

#### 4.1.2. Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio espectral

La media del grosor promedio de la CFNR basal medido con SD-OCT fue de 105.7 micras (DE 12.2) en los casos y de 101.8 micras (DE 11.6) en los controles. Al realizar una t de Student para muestras independientes, no se hallaron diferencias significativas entre los valores basales de ambos grupos ( $p=0.176$ ). Los valores a los 3, 6 y 12 meses fueron de 101.4 (DE 10.4) micras, 101.1 micras (DE 10.7), 100.2 micras (DE 11.0) en los casos y de 100.4 micras (DE 11.7), 99.3 micras (DE 11.1) y 100.5 micras (DE 10.8) en los controles, respectivamente.

En un 17% de las tomas, fue necesario mejorar manualmente la delimitación de la CFNR por las dificultades del software para encontrar los límites correctos.

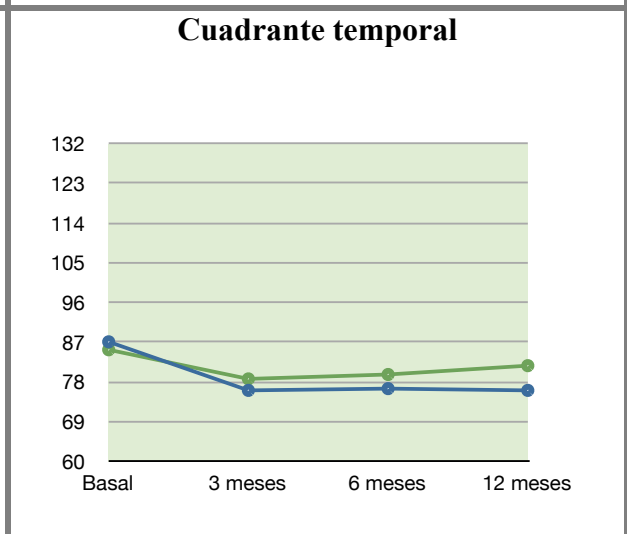
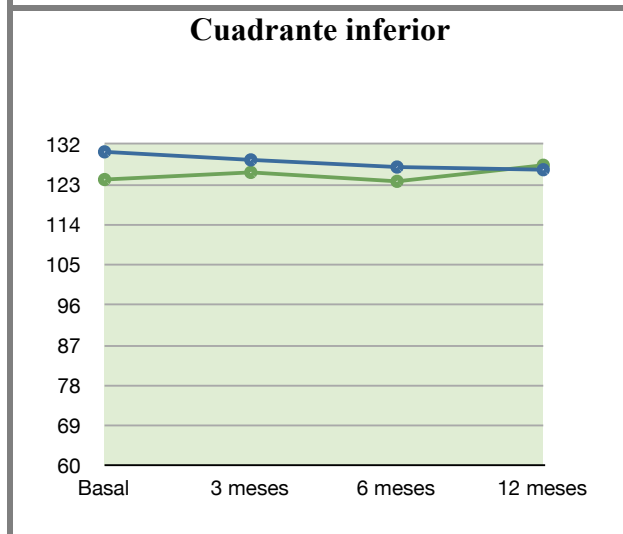
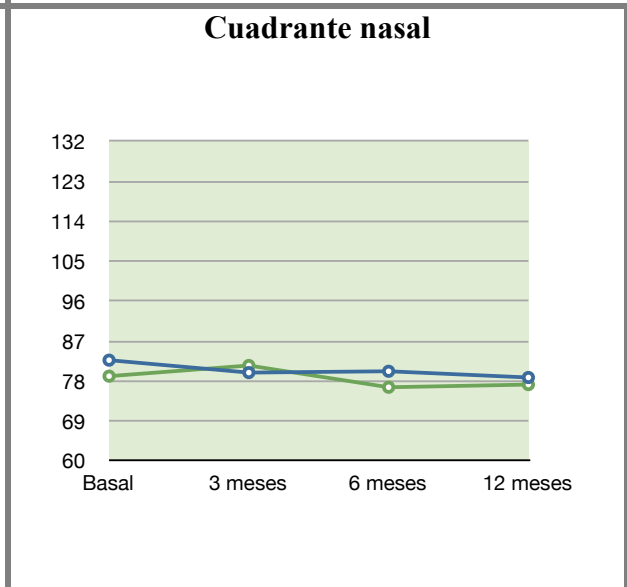
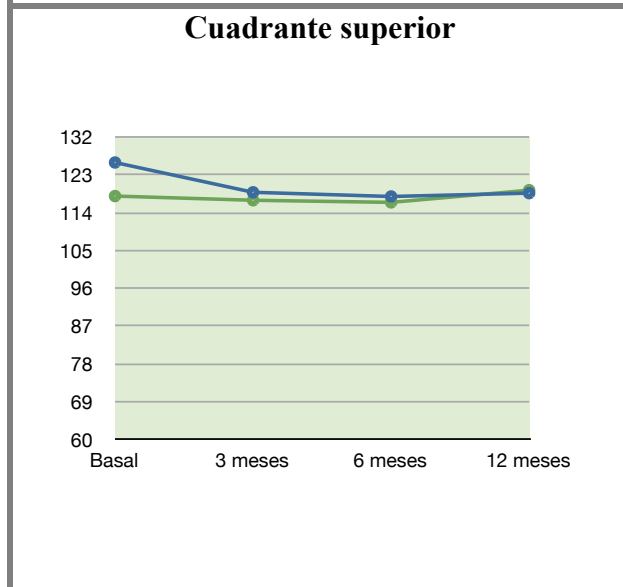
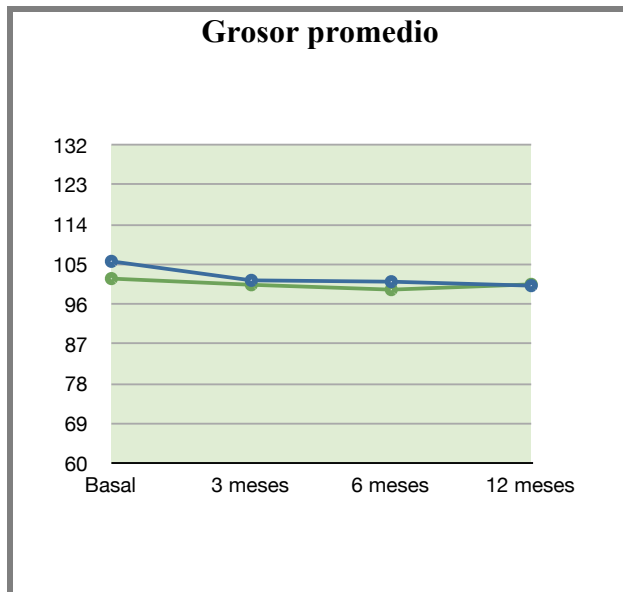
La media de los valores por sectores (superior, nasal, inferior y temporal) se presenta en la tabla 10.

<b>OCT DE DOMINIO ESPECTRAL</b>	<b>Casos (n=49)</b>	<b>Controles (n=27)</b>
<b>Promedio grosor CFNR</b>		
Basal	105.7 ± 12.2	101.8 ± 11.6
3 meses	101.4 ± 10.4	100.4 ± 11.7
6 meses	101.1 ± 10.7	99.3 ± 11.1
12 meses	100.2 ± 11.0	100.5 ± 10.8
<b>Cuadrante Superior</b>		
Basal	126.0 ± 23.4	118.0 ± 17.7
3 meses	118.9 ± 17.1	117.0 ± 16.7
6 meses	117.9 ± 18.8	116.5 ± 16.2
12 meses	118.7 ± 20.0	119.4 ± 17.7
<b>Cuadrante Nasal</b>		
Basal	82.7 ± 19.9	79.1 ± 12.6
3 meses	79.9 ± 16.3	81.5 ± 18.8
6 meses	80.2 ± 15.8	76.6 ± 13.8
12 meses	78.8 ± 14.3	77.2 ± 12.8
<b>Cuadrante Inferior</b>		
Basal	130.3 ± 16.6	124.1 ± 22.7
3 meses	128.5 ± 15.9	125.7 ± 20.3
6 meses	126.9 ± 15.1	123.7 ± 21.6
12 meses	126.3 ± 14.6	127.3 ± 29.3
<b>Cuadrante Temporal</b>		
Basal	87.1 ± 22.5	85.2 ± 17.7
3 meses	76.1 ± 11.9	78.7 ± 14.4
6 meses	76.5 ± 14.5	79.7 ± 16.0
12 meses	76.1 ± 14.5	81.6 ± 19.3

Media +/- DE (micras).

Tabla 10. Valores de la CFNR medidos con SD-OCT.

**Gráficos:**



#### **4.1.3. Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio temporal**

La media del grosor promedio de la CFNR basal medido con TD-OCT fue de 101.6 micras (DE 14.2) en los casos y de 97.5 micras (DE 16.3) en los controles. Al realizar una t de Student para muestras independientes, no se hallaron diferencias significativas entre los valores basales de ambos grupos ( $p=0.248$ ). Los valores a los 3, 6 y 12 meses fueron de 96.1 (DE 14.9) micras, 97.2 micras (DE 16.7), 96.9 micras (DE 16.8) en los casos, y de 95.7 micras (DE 11.9), 96.4 micras (DE 12.9) y 94.7 micras (DE 13.7) en los controles, respectivamente.

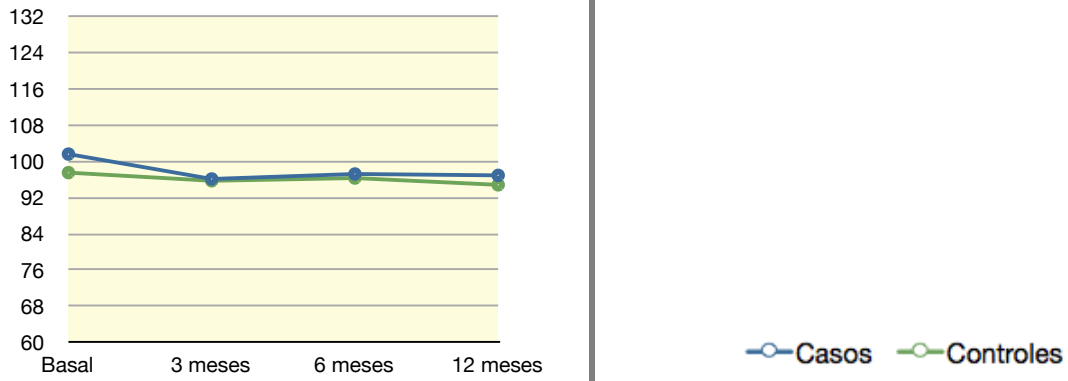
La media de los valores por sectores (superior, nasal, inferior y temporal) se presenta en la tabla 11.

<b>OCT DE DOMINIO TEMPORAL</b>	<b>Casos (n=49)</b>	<b>Controles (n=27)</b>
<b>Promedio grosor CFNR</b>		
Basal	101.6 ± 14.2	97.5 ± 16.3
3 meses	96.1 ± 14.9	95.7 ± 11.9
6 meses	97.2 ± 16.7	96.3 ± 12.9
12 meses	96.9 ± 16.8	94.8 ± 13.7
<b>Cuadrante Superior</b>		
Basal	115.4 ± 22.3	113.4 ± 23.2
3 meses	107.3 ± 23.7	111.5 ± 23.3
6 meses	113.3 ± 25.3	111.2 ± 21.2
12 meses	108.8 ± 29.1	109.1 ± 27.5
<b>Cuadrante Nasal</b>		
Basal	85.7 ± 25.1	83.6 ± 26.0
3 meses	75.9 ± 22.1	78.1 ± 20.6
6 meses	77.4 ± 25.5	75.1 ± 17.1
12 meses	77.7 ± 24.2	76.4 ± 19.2
<b>Cuadrante Inferior</b>		
Basal	129.7 ± 20	123.6 ± 30.1
3 meses	128.2 ± 24.3	126.0 ± 18.5
6 meses	124.9 ± 21.1	125.0 ± 21.3
12 meses	127.4 ± 23.0	119.8 ± 22.2
<b>Cuadrante Temporal</b>		
Basal	74.6 ± 20.4	68.9 ± 15.7
3 meses	71.6 ± 17.4	70.0 ± 19.2
6 meses	72.7 ± 16.6	75.7 ± 20.8
12 meses	73.0 ± 16.1	70.8 ± 16.2

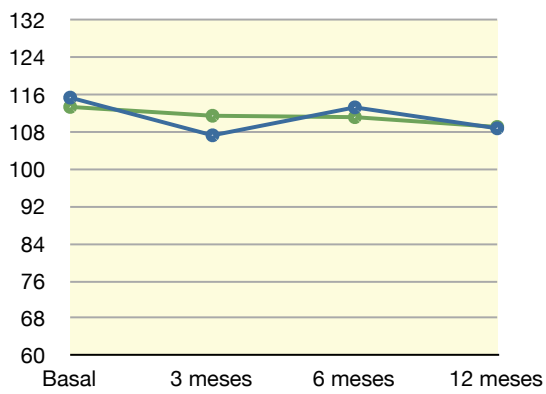
Media +/- DE (micras).

Tabla 11. Valores de la CFNR medidos con TD-OCT.

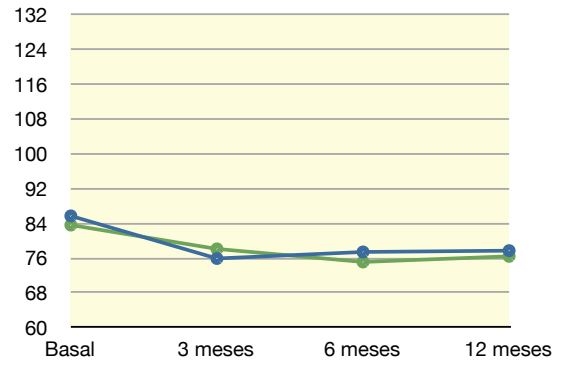
### Grosor promedio



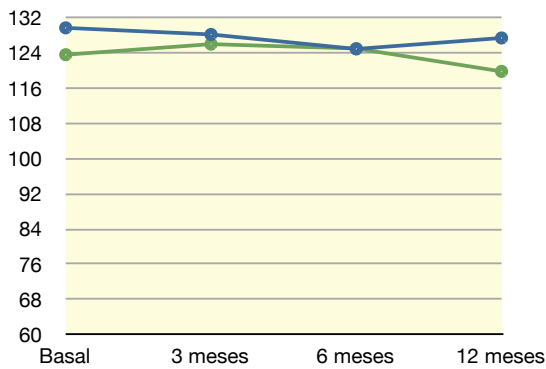
### Cuadrante superior



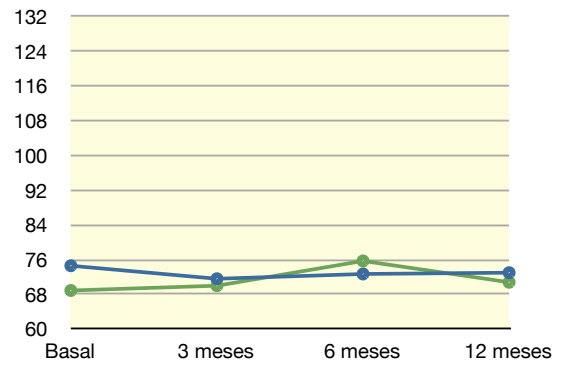
### Cuadrante nasal



### Cuadrante inferior



### Cuadrante temporal



## 4.2 Estadística analítica

### 4.2.1. Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio espectral

Se halló una diferencia significativa al realizar una t-Student para muestras relacionadas entre el promedio basal y a los 12 meses en los casos, así como en los cuadrantes superior, nasal y temporal. En los controles, no se encontraron diferencias significativas en ningún cuadrante ni en el promedio (Tabla 12). Al comparar las diferencias en el promedio de grosor de la CFNR entre casos y controles a lo largo del seguimiento con un ANOVA para medidas repetidas, estas diferencias resultaron no ser significativas ( $p=0.065$ ).

OCT DE DOMINIO ESPECTRAL	Casos (n=49)	Controles (n=27)
<b>Promedio grosor CFNR</b>		
Basal	105.7 ± 12.2	101.8 ± 11.6
12 meses	100.2 ± 11.0	100.5 ± 10.8
Diferencia	5.6 ± 9.1	1.3 ± 9.6
p	<b>&lt;0.001</b>	0.477
<b>Cuadrante Superior</b>		
Basal	126.0 ± 23.4	118.0 ± 17.7
12 meses	118.7 ± 20.0	119.4 ± 17.7
Diferencia	7.3 ± 22.9	-1.4 ± 18.7
p	<b>0.030</b>	0.695
<b>Cuadrante Nasal</b>		
Basal	82.7 ± 19.9	79.1 ± 12.6
12 meses	78.8 ± 14.3	77.2 ± 12.8
Diferencia	3.9 ± 14.6	1.9 ± 9.9
p	0.064	0.333
<b>Cuadrante Inferior</b>		
Basal	130.3 ± 16.6	124.1 ± 22.7
12 meses	126.3 ± 14.6	127.3 ± 29.3
Diferencia	4 ± 9.4	-3.1 ± 28
p	<b>0.005</b>	0.562
<b>Cuadrante Temporal</b>		
Basal	87.1 ± 22.5	85.2 ± 17.7
12 meses	76.1 ± 14.5	81.6 ± 19.3
Diferencia	11 ± 20.2	3.6 ± 14.4
p	<b>&lt;0.001</b>	0.201
<b>ANOVA para medidas repetidas casos-controles (grosor promedio): <math>p=0.065</math></b>		

Media +/- DE (micras).

Tabla 12. T-Student para muestras relacionadas entre el promedio basal y a los 12 meses con SD-OCT.

#### 4.2.2. Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio temporal

Se halló una diferencia significativa al realizar una t-Student para muestras relacionadas entre el promedio basal y a los 12 meses en los casos, así como en los cuadrantes superior y nasal. En los controles, no se encontraron diferencias significativas en ningún cuadrante ni en el promedio (Tabla 13). Al comparar las diferencias en el promedio de grosor de la CFNR entre casos y controles a lo largo del seguimiento con un ANOVA para medidas repetidas, estas diferencias resultaron no ser significativas ( $p=0.465$ ).

OCT DE DOMINIO TEMPORAL	Casos (n=49)	Controles (n=27)
<b>Promedio grosor CFNR</b>		
Basal	101.6 ± 14.2	97.5 ± 16.3
12 meses	96.9 ± 16.8	94.8 ± 13.7
Diferencia	4.2 ± 8.8	3.6 ± 10.6
p	<b>0.003</b>	0.135
<b>Cuadrante Superior</b>		
Basal	115.4 ± 22.3	113.4 ± 23.2
12 meses	108.8 ± 29.1	109.1 ± 27.5
Diferencia	6.2 ± 17.5	3.8 ± 18
p	<b>0.028</b>	0.344
<b>Cuadrante Nasal</b>		
Basal	85.7 ± 25.1	83.6 ± 26
12 meses	77.7 ± 24.2	76.4 ± 19.2
Diferencia	8.19 ± 24.2	9.4 ± 20.7
p	<b>0.036</b>	0.05
<b>Cuadrante Inferior</b>		
Basal	129.7 ± 20	123.6 ± 30.1
12 meses	127.4 ± 23.0	119.8 ± 22.2
Diferencia	2.6 ± 20	5.33 ± 23.8
p	0.396	0.318
<b>Cuadrante Temporal</b>		
Basal	74.6 ± 20.4	68.9 ± 15.7
12 meses	73.0 ± 16.1	70.8 ± 16.2
Diferencia	0.7 ± 19	-1.67 ± 11
p	0.819	0.497
<b>ANOVA para medidas repetidas casos-controles (grosor promedio): <math>p= 0.465</math></b>		

Media +/- DE (micras).

Tabla 13. T-Student para muestras relacionadas entre el promedio basal y a los 12 meses con TD-OCT.

### 4.2.3. Cambios en el grosor macular y correlación con la CFNR

Con el fin de evaluar el efecto de los cambios en el grosor macular inducido por ranibizumab sobre el grosor la CFNR, se determinó el espesor macular durante el seguimiento con SD-OCT. Para ello, se realizó un análisis “Retinal Thickness Map”, visualizando los promedios numéricos de las mediciones para cada uno de los 9 subcampos definidos por el ETDRS. La Tabla 14 muestra el espesor de cada zona macular al inicio y al final del seguimiento. Durante el estudio, se detectaron diferencias significativas en el área central foveal y en dos de las 4 zonas del anillo interior (nasal e inferior). En contraste, los espesores registrados para las cuatro zonas del anillo exterior no mostraron diferencias significativas con respecto a la visita basal.

Se analizó la correlación en el cambio de espesor a lo largo del año de seguimiento entre la región nasal del anillo exterior macular y los cambios en los cuadrantes superior, inferior y temporal de la CFNR. No se detectaron correlaciones significativas para ninguno de los cuadrantes (superior  $r = -0.026$ ,  $p = 0.884$ ; inferior  $r = 0.170$ ,  $p = 0.334$ ; temporal  $r = -0.312$ ,  $p = 0.077$ ). Tampoco se observó una correlación significativa en los cambios de espesor producidos durante el seguimiento en la zona superior del anillo exterior macular y las producidas en el cuadrante superior de la CFNR ( $r = -0.200$ ,  $p = 0.264$ ), ni entre la zona inferior del anillo macular exterior y el cuadrante inferior CFNR ( $r = 0.156$ ,  $p = 0.385$ ).

	<b>Basal</b>	<b>12 meses</b>	<b>p</b>
<b>Grosor foveal central</b>	353.4 ± 113.4	301.9 ± 58.5	0.011
<b>Anillo interior</b>			
Superior	347.6 ± 72.5	337.7 ± 54.7	0.320
Nasal	359.5 ± 84.1	334.6 ± 53.9	<b>0.036</b>
Inferior	351.6 ± 64.7	330.5 ± 43.0	<b>0.039</b>
Temporal	353.0 ± 63.9	334.4 ± 52.7	0.080
<b>Anillo exterior</b>			
Superior	306.9 ± 38.1	303.8 ± 45.0	0.563
Nasal	309.5 ± 32.6	308.3 ± 48.9	0.833
Inferior	292.4 ± 32.8	285.7 ± 27.7	0.340
Temporal	290.6 ± 40.7	279.1 ± 28.0	0.194

Media +/- DE (micras)

Tabla 14. Espesor de cada zona macular al inicio y al final del seguimiento.

#### 4.2.4 ¿Influye el número de inyecciones en la pérdida de CFNR?

No se ha podido calcular este efecto ya que la comparación entre casos y controles no se ha hallado significativa ( $p=0.065$ ).

## **DISCUSIÓN**



## 5 DISCUSIÓN

Las inyecciones intravítreas se han convertido en una intervención cada vez más común en el tratamiento de enfermedades de la retina, principalmente en el tratamiento de la DMAE exudativa. El presente estudio ha puesto de manifiesto que la inyección repetida de 0.05 ml ranibizumab intravítreo se asocia, en los ojos tratados, a una disminución significativa de la CFNR que no ha aparecido en los ojos utilizados como control. Hasta donde sabemos, no existen estudios previos controlados dirigidos a estudiar los efectos de las inyecciones intravítreas repetidas de antiVEGF sobre la CFNR. En teoría, las modificaciones en la CFNR podrían ser inducidas por un aumento de volumen producido por la inyección o por un efecto tóxico directo del fármaco sobre la CFNR.

### 5.1 Comentario sobre la metodología del estudio

La idea de iniciar esta Tesis Doctoral surgió del planteamiento de que en el Hospital Clínico San Carlos se atendía un gran volumen de pacientes con DMAE que estaban siendo tratados de forma reiterada con unas novedosas inyecciones intravítreas cuyo principio activo era ranibizumab. De aquí, surgió la cuestión: ranibizumab da muy buenos resultados en la DMAE, pero ¿es seguro para el nervio óptico y sus componentes? Es evidente que al inyectar un volumen extra en el globo ocular existe un aumento de presión que, aunque sea transitorio como se ha ido demostrando después, podría dañar el nervio óptico, tan sensible a los cambios de PIO. Por otro lado, también existe la posibilidad de que ranibizumab o algunos de los excipientes del fármaco comercializado tengan un efecto tóxico para la retina. Esto último es difícilmente demostrable sin disponer de un estudio anatomopatológico de los tejidos, pero quizás datos indirectos podrían dar alguna pista hacia este mecanismo de daño.

El método estándar para valorar si un sujeto desarrolla un glaucoma es la campimetría, pero existía el obstáculo de que los pacientes con DMAE no podían realizar una campimetría fiable porque la afectación macular les impedía fijar el punto de referencia adecuadamente. Ésa es la

razón por la que se decidió usar el OCT como medio de seguimiento de los cambios en la CFNR.

La llegada del nuevo SD-OCT al Servicio fue el impulso definitivo para iniciar la toma de datos. Apenas había estudios previos relacionados; de hecho, la falta de datos para calcular un tamaño muestral de partida, hicieron necesario tomar un número de pacientes asequible para la envergadura de esta Tesis pero, de algún modo, subjetivo.

Se eligió un total de 54 pacientes consecutivos con DMAE sin glaucoma. Los ojos contralaterales sin DMAE sirvieron como controles de los afectados, asumiendo la posibilidad de que una pequeña parte del fármaco pasara a la circulación general y, de ahí, al ojo sano, pudiendo producir efectos sobre la CFNR también en el ojo sano.

El hecho de tomar la PIO antes y una hora tras la inyección no iba encaminado a estudiar cuánto era el aumento de PIO después de cada inyección, ya que esto sí estaba estudiado, sino a verificar si había aumentos sostenidos de la PIO que pudieran afectar a los resultados.

## **5.2 Características del grupo de estudio**

El estudio se realizó con 49 casos y con 27 controles, tras una pérdida de un 9.2% en casos y un 10% de controles sobre la muestra inicial. En todos los casos, los pacientes salieron del estudio porque no llegaron a cumplir el año de seguimiento.

De los casos, 20/49 eran varones y 29/49 eran mujeres y, de los controles, 13/27 eran varones y 14/27 eran mujeres. Aunque en los controles la cifra estaba muy equilibrada, en los casos la proporción era diferente. Se consideró que, para un estudio de estas características, esas diferencias no eran relevantes y no se esperaba que tuvieran influencia en los resultados. De hecho, no está probado que existan diferencias significativas entre sexos en cuanto a la prevalencia del glaucoma, habiendo estudios con resultados contradictorios (25,26).

El total de inyecciones realizadas fue de 4.8 de media (DE 1.6), con un rango de tres a ocho inyecciones en un año. De estas inyecciones, tres correspondieron a la dosis de ataque que se realizó por protocolo del Servicio en todos los pacientes y, el resto, correspondieron a dosis

posteriores. Estas dosis “extras” se administraron por dos razones: a) por no ser suficiente con la dosis inicial para controlar la membrana neovascular o, b) por reactivación de las lesiones. El número de inyecciones de los pacientes se encuadra dentro de lo habitual para el tratamiento de la DMAE neovascular.

En cuanto a la AV, en los casos, hubo una ganancia media de 3.8 letras a los 12 meses de tratamiento, que nos indica que los pacientes han ganado AV, presumiblemente, a causa del tratamiento intravítreo con ranibizumab. La historia natural de la DMAE neovascular es una dramática pérdida de AV si no se trata. En el caso de los controles, hubo una mejoría de dos letras a los 12 meses, con variabilidad en las diferentes medidas. Este dato parece achacable a una fluctuación en la toma de medidas.

### **5.3 Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio espectral**

#### **Grosor promedio:**

Al analizar los cambios en el promedio de grosor de la CFNR de los casos por un lado y de los controles por otro a lo largo del tiempo, se encontró una disminución significativa de la CFNR en los casos a los 12 meses de seguimiento con respecto al valor basal. El grosor promedio basal de la CFNR en los casos era de 105.7 micras (DE 12.2) y a los 12 meses de 100.2 (DE 11), con una  $p < 0.001$ . Esta disminución no fue hallada en los controles, en los que el espesor de la CFNR fluctuó levemente en las diferentes medidas. Al comparar casos con controles mediante un test de ANOVA para medidas repetidas (casos con controles en cada toma de medidas), no se encontraron diferencias significativas por décimas, siendo la  $p$  de 0.065, es decir rozando la significación.

El grosor promedio es, junto con el grosor del cuadrante superior, la medida más discriminativa a la hora de detectar el inicio de un glaucoma, medido con un SD-OCT (182,193-195). Según Mwanza (195), una disminución de la CFNR de 4 micras medida con Cirrus ya puede ser considerada como sospechosa de progresión. En este caso, hemos utilizado un SD-OCT, con una capacidad diagnóstica similar a un OCT Cirrus® (196).

### **Cuadrante Superior:**

Con respecto al cuadrante superior, también hallamos una disminución significativa de la CFNR en el grupo de los casos. El grosor basal era de 126 micras (DE 23.4) y el final de 118.7 micras (DE 20). Según los índices de sensibilidad y especificidad de los diferentes estudios publicados, el cuadrante superior tiene la mejor ABC ROC en los glaucomas incipientes, seguido del grosor medio (182,193-196).

Estos datos, junto con los de disminución del grosor promedio, sugieren que la disminución de grosor de la CFNR puede deberse a los picos de PIO que se producen tras cada inyección.

### **Cuadrante Nasal:**

En el cuadrante nasal, no se hallaron diferencias significativas entre los valores basales y a los 12 meses. Según los estudios realizados por Li, Mwanza, Leung y Rao (182,193-195), este cuadrante junto con el temporal, sería el que se afectaría más tardíamente en el glaucoma, siendo su ABC ROC de entre 0.6 y 0.74.

### **Cuadrante Inferior:**

En el cuadrante inferior, se hallaron diferencias significativas entre los valores basales y a los 12 meses, con una disminución de grosor significativa, siendo el valor basal de 130.3 micras (DE 16.6) y el valor a los 12 meses de 126.3 micras (DE 14.6). El cuadrante inferior tiene una buena sensibilidad/especificidad en la detección del precoz del glaucoma, pero esta relación no es tan buena como el valor promedio y el superior.

### **Cuadrante Temporal:**

En el cuadrante temporal también se halló una muy significativa pérdida de grosor de la CFNR, de forma que el grosor basal era de 87.1 micras (DE 22.5) y el final de 76.1 micras (DE 14.5).

Como se comentaba antes, el cuadrante temporal suele afectarse de forma tardía en el glaucoma y el hecho de que haya disminuido de grosor en este estudio era un dato discordante a tener en cuenta. Hipótesis:

- 1ª hipótesis: los picos de PIO postinyección podrían afectar de manera especial a las fibras temporales. En 2007, Tsai et al, estudiaron los cambios que acontecían en el grosor del nervio óptico de 17 pacientes tras un episodio de glaucoma agudo. Lógicamente, estos episodios de aumento de PIO eran mucho más dilatados en el tiempo que los escasos minutos que soportan los pacientes sometidos a inyecciones intravítreas de ranibizumab. Los hallazgos mostraron que en la primera semana se producía un aumento difuso de la CFNR, seguido de una disminución de grosor significativa en todos los cuadrantes a las 4 y 12 semanas, sin una especial predilección por el cuadrante temporal (219).
- 2ª hipótesis: el fármaco podría tener una toxicidad sobre la CFNR con cierta selectividad por esa zona. Es poco plausible, pero no lo podemos demostrar ni descartar. Más adelante, comentaremos más a fondo este punto (apartado 5.8).
- 3ª hipótesis: el edema macular que se produce en la DMAE húmeda podría llegar hasta el anillo de medición peripapilar del OCT. De esta forma, al disminuir el edema macular a causa del tratamiento con ranibizumab intravítreo, un hipotético edema peripapilar también disminuiría. Para descartar o verificar esta posibilidad, comparamos los valores de los sectores externos (nasales, superiores e inferiores) maculares para estudiar si existía una disminución significativa del grosor macular más cercano a la papila del nervio óptico. Los resultados descartaron que hubiera cambios significativos a lo largo del seguimiento en las zonas maculares cercanas al nervio óptico. Como es lógico y previsible, sí se encontraron cambios en el grosor macular en las zonas centrales, debidos presumiblemente al edema macular por la neovascularización.

En vista de los datos, no se ha hallado una respuesta basada en esta investigación para explicar la disminución significativa de la CFNR en el sector temporal de la papila.

## 5.4 Cambios en la CFNR medidos con OCT de dominio temporal

### **Grosor promedio:**

De igual forma que con el SD-OCT, al analizar los cambios en el promedio de grosor de la CFNR de los casos por un lado y de los controles por otro, a lo largo del tiempo, se encontró una disminución significativa de la CFNR en los casos a los 12 meses de seguimiento con respecto al valor basal. El grosor promedio basal de la CFNR en los casos era de 101.6 micras (DE 14.2) y a los 12 meses de 96.9 micras (DE 16.8) ( $p=0.003$ ). Esta disminución significativa no se halló en los controles, en los que el espesor de la CFNR fluctuaba levemente en las diferentes medidas. Al comparar casos con controles mediante un test de ANOVA para medidas repetidas (casos con controles en cada mes de toma de medidas), no se encontraron diferencias significativas.

El grosor promedio es, junto con el cuadrante inferior, la medida más discriminativa a la hora de detectar el inicio de un glaucoma, medido con TD-OCT, oscilando la curva ABC ROC entre 0.83 y 0.97 tanto en el grosor medio como en el cuadrante inferior (175-181,183-185).

### **Cuadrante Superior:**

Con respecto al cuadrante superior, también se halló una disminución significativa de la CFNR en el grupo de los casos. El grosor basal era de 115.4 micras (DE 22.3) y el final de 108.8 micras (DE 29.1). Según los índices de sensibilidad y especificidad de los diferentes estudios publicados, el cuadrante superior tiene una ABC ROC en los glaucomas incipientes de entre 0.77 y 0.95 (175-181,183-185).

### **Cuadrante Nasal:**

En el cuadrante nasal, a diferencia de lo que ocurre con la SD-OCT, se hallaron diferencias significativas entre los valores basales y a los 12 meses con una  $p=0.036$ . Según los estudios realizados por Li, Mwanza, Leung y Rao (182,193-195), éste cuadrante junto con el temporal serían los que se afectarían más tardíamente en el glaucoma.

### **Cuadrante Inferior:**

En el cuadrante inferior, no se hallaron diferencias significativas entre los valores basales y a los 12 meses. Este cuadrante es, junto con el grosor promedio, es que mejor discrimina a los pacientes glaucomatosos.

### **Cuadrante Temporal:**

En el cuadrante temporal tampoco se halló una pérdida de grosor de la CFNR, a diferencia con lo que ocurrió con SD-OCT.

## **5.5 Comentario sobre la relación entre OCT de dominio espectral y OCT de dominio temporal**

Como se puede observar al comparar los resultados de SD-OCT y TD-OCT, los datos correlacionan en la disminución global de la CFNR a lo largo del tiempo en el grupo tratado con ranibizumab. Pero no concuerdan exactamente. Mientras que con ambos OCT se han hallado diferencias significativas en el grosor medio y en el cuadrante superior, con SD-OCT también se ha hallado una disminución significativa en los cuadrantes temporal e inferior y con TD-OCT en el cuadrante nasal. ¿Por qué? La respuesta no es sencilla, pero pueden influir varios factores:

- Por un lado, la calidad de las imágenes obtenidas con SD-OCT ha sido mucho mejor que con TD-OCT. Spectralis® da la opción de modificar el perfilado de la CFNR si el aparato no lo ha hecho correctamente por sí solo. TD-OCT, en cambio, no permite mejorar la imagen manualmente y ha sido relativamente frecuente obtener imágenes con una delimitación de la CFNR con algún defecto, a pesar de repetir las medidas numerosas veces.
- SD-OCT realiza una superposición automática en directo de las imágenes (ART, Automatic Real Time), que permite diferenciar eficazmente las “interferencias” de las señales “verdaderas” provenientes del tejido a estudio, a diferencia de TD-OCT.

- SD-OCT tiene un sistema que evita que los movimientos de los ojos influyan en la captación de la imagen, a diferencia de TD-OCT.
- SD-OCT tiene la opción de situar el círculo de exploración alrededor de la cabeza del nervio óptico exactamente en el mismo lugar en cada exploración, haciendo más fiable la comparación entre tomas, a diferencia de TD-OCT.
- Teniendo en cuenta la resolución y la variabilidad de TD-OCT, se consideran sospechosos de progresión adelgazamientos mayores a 8-11.67 micras (174,175). Con SD-OCT, obtener una disminución de la CFNR de 4 micras ya puede ser considerada como sospechosa de progresión (195). En el presente estudio, con SD-OCT se ha obtenido una disminución de la CFNR promedio de  $5.6 \pm 9.1$  micras, que es mayor que lo que se considera sospechoso de progresión. Con TD-OCT, la disminución de la CFNR promedio ha sido de  $4.2 \pm 8.8$  micras, lejos de las 8 micras recomendables para considerar una disminución como significativa.

Por estas razones, parecen más fiables los resultados obtenidos con SD-OCT que con TD-OCT.

## **5.6 Presión intraocular**

En el presente estudio, únicamente se detectó un caso con un incremento significativo de PIO una hora tras la inyección y ningún paciente requirió tratamiento para disminuir la presión durante el año de seguimiento. El hecho de haber realizado el control de la PIO a la hora de la inyección, y no inmediatamente después, ha impedido con toda probabilidad la detección de picos hipertensivos de mayor importancia en los primeros minutos del postoperatorio. Estos picos hipertensivos podrían ser los causantes del adelgazamiento de la CFNR tras las inyecciones repetidas en los ojos tratados a lo largo del seguimiento, aunque tal efecto debería no llegar a producirse por el mecanismo de autorregulación del flujo sanguíneo, que permite mantener una perfusión adecuada en ojos no afectados por glaucoma (5). El objetivo de tomar la presión una hora después, como se comentaba anteriormente, ha sido detectar incrementos sostenidos de la PIO.

Varios autores han estudiado la relación entre los agentes anti-VEGF y los picos de PIO observados a consecuencia de su administración. Los resultados van en consonancia con lo obtenido en este estudio.

### **5.6.1 Cambios en la PIO a CORTO plazo**

Hollands et al (2007) analizaron el efecto a corto plazo de las inyecciones de bevacizumab intravítreo sobre la PIO y encontraron un aumento significativo de la presión en los primeros minutos postoperatorios pasando de una presión basal de 14.0 (CI al 95% de 13.4-14.7) mm Hg a 36.1 (CI al 95% de 33.5-38.6) mm Hg a los dos minutos de la inyección. A los 30 minutos de la inyección, la presión había vuelto a niveles similares a los basales. Únicamente en tres ojos de los 104 estudiados (2.9%), la presión se mantuvo por encima de 25 mm Hg durante más de 30 minutos, normalizándose en dos casos a las dos horas sin medicación. El caso restante requirió tratamiento hipotensor durante una semana antes de normalizarse las cifras de presión (144).

Falkenstein et al (2007) realizaron un estudio en 70 pacientes que recibieron 122 inyecciones de bevacizumab para el tratamiento de DMAE. La PIO media basal fue de 15.17 mm Hg, a los 3 minutos postinyección fue de 36.27 mm Hg y de 24.56 a los 10 minutos. A los 15 minutos, la PIO era menor de 30 mm Hg en todos los ojos sin necesidad de tratamiento médico adicional (220).

Kim et al (2008) midieron la PIO a 112 pacientes en 213 inyecciones intravítreas de ranibizumab (12%), bevacizumab (67%), pegaptanib (14%) y triamcinolona (8%) para tratar diferentes patologías. El estudio, retrospectivo, se realizó comparando las medidas de PIO inmediatamente antes de la inyección y después de la inyección en intervalos de 5 minutos hasta que la PIO era menor de 30 mm Hg. La PIO se elevó significativamente, pero se redujo a menos de 30 mm Hg en el 96% de las inyecciones a los 15 minutos y en el 100% a los 30 minutos. Los pacientes con glaucoma (20%) tardaron significativamente más en conseguir normalizar su PIO (143).

Con el mismo fármaco que en el presente estudio, Sharei et al (2010) estudiaron 45 ojos que fueron tratados con 0.05 ml de ranibizumab, encontrando incrementos medios de 25 mmHg inmediatamente tras la inyección. Un 71.1% de los ojos tratados presentaron presiones por encima de 40 mmHg y un 42.2% presiones por encima de los 50 mmHg. La normalización fue, como en los casos anteriores, espontánea en la mayoría de los ojos tratados sin necesidad de tratamiento médico adicional siendo la diferencia a los 10 minutos únicamente de +4.6 +/- 7.0 mmHg con respecto a la presión basal (221).

### **¿Es eficaz el uso de antihipertensivos para prevenir los picos de presión?**

El consenso general es que los picos de PIO están limitados a los primeros minutos tras la inyección. Para saber si el tratamiento profiláctico con antihipertensivos es eficaz para prevenir su aparición, Frenkel et al (2010) realizaron un estudio en 71 pacientes con DMAE que recibieron una inyección intravítrea de bevacizumab (0.05 ml), ranibizumab (0.05 ml) o pegaptanib (0.09 ml). A algunos ellos se les administró una dosis de antihipertensivo una hora antes de la inyección. Los tres tipos de inyecciones intravítreas causaron picos de PIO significativos inmediatamente después de la inyección: pegaptanib 38.5 mm Hg de media, ranibizumab 37.75 mm Hg de media y bevacizumab 34.88 mm Hg de media. La PIO se redujo a menos de 30 mm Hg en los 3 grupos a los 20 minutos, sin diferencias entre los pacientes con glaucoma y sin glaucoma (222).

#### **5.6.2 Cambios en la PIO a LARGO plazo**

Algunos estudios han puesto de manifiesto que pacientes tratados con múltiples inyecciones de fármacos antiVEGF presentan con el tiempo elevaciones mantenidas de la PIO que requieren tratamiento antiglaucomatoso sin que se conozca hasta el momento cuál es el origen de las mismas. Bakri et al, en 2008, describieron el aumento de PIO severo y sostenido en 4 pacientes sin antecedentes de glaucoma ni de hipertensión ocular que habían recibido ranibizumab intravítreo a las dosis habituales de 0.5 mg. En dos pacientes, el aumento de PIO ocurrió un mes después de la segunda inyección de ranibizumab y, en otro, un mes después de la primera inyección. El cuarto paciente debutó varias horas después de la primera dosis. Los cuatro pacientes requirieron tratamiento tópico para bajar la PIO (223). Sería interesante

conocer el porcentaje de pacientes que suponen aquéllos con aumento sostenido de la PIO sobre el total para hacernos una idea de la magnitud del problema.

En la misma línea, Tseng et al (2012), en un estudio posterior a la recogida de nuestros datos, encontraron que las inyecciones repetidas de agentes antiVEGF en pacientes con DMAE podían conducir a incrementos sostenidos de PIO que en ocasiones requerían tratamiento antihipertensivo, incluso en pacientes que previamente habían tolerado correctamente las inyecciones. A diferencia del anterior estudio, la media de inyecciones fue de 20, con un rango de 8 a 40 inyecciones por paciente, con una PIO basal de 16.9 mm Hg de media (rango 14-21) y una PIO media tras las inyecciones repetidas de 29.8 mm Hg (rango 22-58) (224).

En este estudio, con un número relativamente bajo de inyecciones, no ha habido ningún caso de aumento de PIO sostenido y ningún paciente ha requerido tratamiento antihipertensivo.

### **5.7 Inyecciones de antiVEGF y glaucoma**

También se ha comprobado que la incidencia de estas elevaciones mantenidas de la presión es más frecuente entre los pacientes con glaucoma preexistente. Good et al (2010) analizaron retrospectivamente dos grupos de pacientes en tratamiento con ranibizumab y/o bevacizumab, unos con glaucoma preexistente y otros sin historia de glaucoma. De los 215 ojos estudiados, un 6% sufrió una elevación sostenida de la PIO que requirió tratamiento tópico antihipertensivo o con láser. De los ojos tratados únicamente con bevacizumab, el 9.9% (10/101) tuvo una PIO elevada de forma sostenida, mientras que, en el caso de ranibizumab, el porcentaje fue del 3.1% (3/96) ( $p = 0.049$ ). Los pacientes con antecedentes de glaucoma tuvieron mayores tasas de incremento sostenido de la PIO en comparación con los pacientes sin glaucoma preexistente (33% frente a 3.1%, respectivamente,  $p < 0.001$ ), incluso con un menor número medio de inyecciones (6; rango intercuartil 5-10) en el grupo de glaucoma comparación con el grupo sin glaucoma (9.5, rango intercuartil 6-13.7,  $p = 0.031$ ) (146).

En este estudio, excluimos a los pacientes con glaucoma o con sospecha de glaucoma, por lo que se pueden aportar nuevos datos.

## **5.8 Toxicidad directa de ranibizumab**

Una hipótesis para explicar el adelgazamiento de la CFNR, aunque menos plausible, sería la toxicidad directa del fármaco sobre la CFNR. Zayit-Soudry et al (2011) evaluaron la toxicidad en conejos de 9 inyecciones intravítreas tanto de bevacizumab como de ranibizumab con un intervalo entre procedimientos de 14 días. El seguimiento se realizó mediante tests electrofisiológicos y datos morfológicos, no hallando datos de toxicidad en la retina. No existen hasta el momento estudios en humanos que hayan evaluado esta hipótesis (225). En este estudio no hemos detectado hallazgos que nos lleven a pensar en una toxicidad directa del fármaco como causante de la disminución del espesor de la CFNR, pero no lo podemos descartar.

## **5.9 Cambios en la CFNR asociados a la edad y a otros factores**

### **¿Puede ser que los cambios en la CFNR obtenidos en el estudio sean debidos a una pérdida natural por el envejecimiento del paciente?**

Como ya se comentaba en la introducción, es un hecho conocido que existe un adelgazamiento progresivo fisiológico de la CFNR con la edad. Este adelgazamiento, en la práctica, es muy difícil de evaluar, ya que el estudio ideal sería el que siguiera a los mismos pacientes a lo largo de toda su vida y fuera cuantificando con un método fiable los cambios que se producen en su CFNR. Llevar a cabo un estudio así es prácticamente imposible, empezando por que los métodos de medida se actualizan constantemente y la mayoría de las veces, los datos no son intercambiables. A pesar de estas dificultades, varios autores han intentado llegar a datos fiables.

En 2006, Hougaard et al, realizaron un estudio transversal con OCT Stratus® en 178 ojos sanos de 178 pacientes con edades comprendidas entre los 20 y los 80 años de edad. Mediante un análisis univariante y multivariante, evaluaron la influencia de la edad, el sexo, el error refractivo, la longitud axial, el grado de catarata, la PIO y el tamaño del disco óptico en los cambios en la CFNR (212). Los resultados del análisis de regresión multivariante fueron que la CFNR decrece a un ritmo de 2.6-2.9 micras cada 10 años y aumenta 1.5-1.8 micras por dioptría positiva. El status refractivo, que se puede medir tanto por error refractivo como por

la longitud axial del ojo, en combinación con la edad definiría aproximadamente un 50% más de la variación de la CFNR que la edad sola y, en conjunto, explican el 14.7 – 17.6% del total de la variación de la CFNR. En buena lógica, el hecho que el error refractivo sea significativo parece deberse más a un error en la colocación del círculo de medida en el OCT, es decir, a un artefacto, que a diferencias anatómicas entre ojos con diferente error refractivo. En el presente estudio, no se ha tenido en cuenta la refracción de los pacientes, ya que al estudiar ganancias o pérdidas de CFNR, no es esperable que artefacte a los resultados.

En 2007, Parikh et al, realizaron un estudio prospectivo transversal con 187 sujetos normales con edades comprendidas entre los 5 y los 75 años de edad. Los resultados demostraron una tendencia de la CFNR a decrecer con la edad, especialmente a partir de los 50 años y de predominio en el cuadrante superior. La disminución media de la RNFL fue de 0.16 micras/año (IC al 95% de 0.1 a 0.24 micras) (213).

Budenz et al, en 2007, realizaron un estudio similar al de Hougaard, transversal, para determinar los efectos de la edad, el área del disco óptico, la etnia, el género y la longitud axial sobre la CFNR medidas con OCT Stratus®. Incluyeron 328 pacientes de 18 a 85 años y realizaron un análisis de regresión lineal. Las condiciones que se asociaron con tener una CFNR más delgada fueron ser de raza caucásica, tener una mayor edad, tener una mayor longitud axial y tener una menor área de disco óptico. Encontraron que la media de toda la población era de 100.1 micras (SD: 11.6), con una pérdida de 2 micras cada 10 años (IC al 95% de 1.2 a 2.8 micras) (214). Desgraciadamente, este artículo carece de análisis multivariante, por lo que no está analizado el peso proporcional de cada parámetro y podrían existir factores de confusión. No obstante, los datos correlacionan en buena medida con los estudios anteriores.

Harwerth publicó un interesante estudio en 2008 que intentaba correlacionar la pérdida de CFNR con la edad, pero procurando discriminar a qué componentes de la CFNR afectaba ese adelgazamiento. Para ello, diseñó un estudio en 55 pacientes de entre 18 y 80 años a los que realizó campimetrías para valorar la sensibilidad visual y, de forma indirecta, la pérdida de axones de las células ganglionares de la retina. Además, analizó la CFNR con OCT para valorar las variaciones en el grosor de la CFNR según la edad del paciente. El adelgazamiento de la CFNR resultó ser de un 0.27% del espesor al año y la pérdida células gangliones de un 0.5% por año, medido por perimetría. Estos datos indican que la densidad de axones en la

CFNR varía con el número de neuronas que se pierden con el envejecimiento, por lo que en la CFNR habría una población de axones que disminuyen con la edad y un componente no neural que compensaría parcialmente esa disminución de tejido noble con la edad (226).

En 2010, Bendschneider et al, publicaron otro estudio transversal realizado en 170 pacientes sanos para averiguar cuál era el grosor normal de la CFNR y su relación con la edad, el género y el tamaño del disco óptico. Para ello, utilizaron un SD-OCT. El grosor medio en la población de estudio fue de  $97.2 \pm 9.7$  micras. La pérdida con la edad resultó ser significativa, con una pérdida de 1.90 micras cada 10 años, dato que coincide aproximadamente con los estudios previos. A su vez, también hallaron una correlación negativa con la longitud axial ( $r = -0.391$ ) (el grosor disminuye a mayor longitud axial) y positiva con el error refractivo ( $r = 0.396$ ) (el grosor aumenta con cada dioptría positiva), también en concordancia con los datos de estudios previos (217).

Por último, recientemente, Leung ha publicado un estudio (2012) en el que realiza un análisis transversal y , por primera vez, uno longitudinal para intentar esclarecer cuál es la pérdida fisiológica de grosor de la CFNR y para ello utiliza un SD-OCT. En el estudio transversal, participaron 100 individuos normales, de los cuales, 35 elegidos al azar participaron en el estudio longitudinal, con un seguimiento medio de 30 meses (rango de 24 a 41 meses). En el análisis transversal, encontraron una correlación negativa significativa entre la edad y el grosor de la CFNR, con un promedio de pérdida de 0.33 micras/año en el valor medio de la CFNR. Este valor es algo mayor que el encontrado en los estudios anteriores. En el análisis longitudinal, las tasas medias de cambio de la CFNR promedio, superior e inferior fueron de: -0.52, -1.35 y -1.25 micras/año, respectivamente, después de ajustar por el grosor basal de la CFNR, el error esférico, el área de disco y la intensidad de la señal. Hay una clara discordancia entre los datos obtenidos con uno y otro estudio, pero es evidente que un diseño longitudinal es mucho más fiable que uno trasversal y advierte que los datos hallados en estudios previos pueden estar sesgados por la forma de obtenerlos (218).

En el presente estudio, iniciado en 2009, se ha encontrado un adelgazamiento significativo de la CFNR de 5.6 micras en los casos. Estos pacientes han sido seguidos durante un año, hecho que descarta que los resultados se deban a una pérdida fisiológica por la edad. Sin embargo, no se ha tenido en cuenta algunos parámetros que han resultado ser importantes en las mediciones de la CFNR, que son la refracción y la longitud axial, ambos relacionados entre sí.

El diseño del estudio nada tiene que ver con los de la publicaciones previas, ya que los datos se basan en los incrementos de los valores a lo largo del tiempo, razón por la cual es poco probable que haya sesgo en los resultados. Además, al existir un grupo control formado por los ojos contralaterales de los casos, parece menos probable aún que exista ese sesgo.

### **5.10 CFNR y anti VEGF**

En un reciente estudio, Horsley et al (227) analizaron de forma retrospectiva el efecto sobre la CFNR de las inyecciones repetidas de bevacizumab, ranibizumab y pegaptanib en pacientes con DMAE. Se analizaron un total de 41 ojos con un mínimo de 10 inyecciones intravítreas. Las mediciones se realizaron con un OCT de dominio temporal (Stratus® OCT, Carl Zeiss Meditec, Inc, Dublin, California, USA), no encontrando diferencias significativas tras un seguimiento medio de 27.0 +/- 9.7 meses. El diseño del estudio, la ausencia de grupo control y la herramienta utilizada para realizar las mediciones podrían justificar las diferencias con nuestros resultados. La utilización de SD-OCT permite una mayor resolución y una mejor reproducibilidad de las medidas frente a los TD-OCT al disponer de software específicos para realizar las mediciones en las mismas zonas a lo largo del seguimiento, lo que disminuye la variabilidad y maximiza la posibilidad de poder detectar pequeñas variaciones en el grosor de la CFNR (203).

### **5.11 Edema macular y su influencia en la CFNR**

Como se menciona anteriormente, durante el seguimiento, el grosor macular también se midió para evaluar si los cambios producidos en la CFNR podían ser debidos a un edema macular que alcanzara la región peripapilar. Se utilizó el SD-OCT por sus mejores cualidades de reproducibilidad. De los tres anillos concéntricos en los que se divide el mapa del grosor de la retina según el ETDRS (1, 3 y 6 mm) sólo los dos anillos más internos se vieron afectados por los cambios inducidos por el ranibizumab. Ninguno de los cuatro cuadrantes de la zona más externa mostró cambios al final del seguimiento con respecto al grosor inicial, siendo la *p* muy lejana de la significación en todos los casos. Además, en ningún caso se observaron correlaciones estadísticamente significativas entre los cambios detectados en el anillo exterior macular y los cambios en la CFNR.

Valorando en conjunto los datos, parece poco probable que el adelgazamiento observado en la CFNR en respuesta al tratamiento sea secundario a un cambio en la extensión del edema macular inducida por ranibizumab.

### **5.12 Importancia de la pérdida de CFNR**

La pérdida de fibras en el grupo de estudio al final de los doce meses de seguimiento supone un 5.2% con respecto al grosor basal. Esta diferencia, aunque es estadísticamente significativa, puede tener una relevancia clínica relativa en un paciente con un grosor de capa de fibras inicialmente normal. Por el contrario, en un paciente con una capa de fibras ya comprometida de inicio, los cambios inducidos por la administración intravítrea repetida de antiVEGF podrían empeorar la situación clínica del paciente. Así, en los pacientes con glaucoma preexistente que presenten ya una afectación significativa en la CFNR y que vayan a recibir inyecciones repetidas de fármacos antiVEGF, estaría justificado en función de los resultados del presente estudio, monitorizar más estrechamente las elevaciones de la PIO y documentar mediante OCT los posibles cambios que puedan aparecer a nivel de la CFNR.

### **5.10 Limitaciones del estudio**

**Método de medición.** La variable principal de análisis en este estudio es el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina. El daño progresivo en la CFNR por la presión se traduce en una pérdida de campo visual análoga a la que aparece en los pacientes con glaucoma. Para la valoración y seguimiento del campo visual tradicionalmente se utilizan los perímetros automatizados. La perimetría automatizada es una prueba subjetiva que requiere de la colaboración del paciente y que puede verse severamente condicionada por patologías oculares como la degeneración macular asociada a la edad, en la que la agudeza visual central disminuye drásticamente impidiendo la realización de la prueba o limitando la fiabilidad de la misma. Por esta razón, no ha sido posible evaluar la evolución campimétrica de los pacientes incluidos, la cual sería un indicador de la alteración funcional provocada por los cambios de la variable principal a estudio.

**Pacientes de estudio.** Los pacientes elegidos para este estudio se engloban dentro de la práctica habitual de una consulta especializada de Retina. Presentan la limitación de la falta de fijación con al menos unos de los dos ojos, una edad media de 79 años, en muchas ocasiones torpeza motora, esclerosis de cristalino de diferentes grados, etc. Estas características han hecho que la toma de medidas haya sido en ocasiones compleja y quizá sea la razón de las DE tan grandes que se han obtenido.

**Grupo control.** Para el grupo control se han incluido ojos contralaterales. Los ojos contralaterales tienen la ventaja de que el caso se compara con un ojo de las mismas características, pero sin la patología de estudio. A su vez, tienen la desventaja de que es difícil obtener un número equivalente de casos y de controles, en este caso principalmente debido a que algunos de esos ojos contralaterales ya habían sido tratados de DMAE. Por otro lado, existe la posibilidad teórica de que una pequeña parte del fármaco que se inyecta en el ojo caso pase a la circulación general y de ahí al interior del ojo control, ejerciendo algún efecto en él. Mención aparte merece el hecho de que al no ser un criterio de exclusión, algunos de los ojos controles tenían drusas duras e incluso atrofia macular. No se ha encontrado ningún estudio que establezca que estos pacientes tengan alteraciones en la CFNR, pero existe la posibilidad teórica. Al analizar los resultados en estos pequeños subgrupos, no se han encontrado datos sugestivos de un comportamiento diferente al del resto de los controles.

**Anatomía patológica.** El estudio carece de una análisis anatomopatológico de la muestra de estudio por razones obvias. Sería ideal poder medir qué parte de la disminución de la CFNR se debe a una pérdida de fibras axonales y qué parte corresponde a tejido conectivo y glía.

**Tamaño muestral.** En relación al tamaño muestral, se podría decir que éste es un estudio piloto, aunque los resultados han sido significativos. A posteriori, se calculó cuál sería el tamaño muestral necesario para obtener un test de ANOVA para medidas repetidas significativo mediante el Macro NSize de JM. Domènech & Granero. Para ello, se utilizaron los siguientes datos: DE común de casos y controles calculado a partir de los datos de este estudio de 12.05 micras, efecto mínimo esperado de 5 micras, error beta de 0.2 y error alfa del 5%. El resultado es que se necesitarían al menos 184 pacientes, de los cuales 92 fueran casos y 92 controles.

**PIO.** La medición de la PIO se ha realizado una hora después de la inyección y en prácticamente todos los casos había vuelto a la normalidad e, incluso en alguno, fue más baja. Es posible que durante esa hora se hayan producido picos muy altos de PIO que no hayan sido detectados y que hayan tenido influencia en el resultado del estudio.

## **CONCLUSIONES**



## 6 CONCLUSIONES

- 1) La administración repetida de ranibizumab intravítreo para el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad se asocia a una disminución significativa en el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina a los 12 meses.
- 2) No se han registrado picos hipertensivos mantenidos significativos una hora después de las inyecciones.
- 3) No se ha podido establecer el mecanismo por el cual se pierde grosor en la capa de fibras nerviosas de la retina.
- 4) El uso del tomógrafo de coherencia óptica de dominio espectral ha supuesto una mejora en la toma de medidas de la capa de fibras nerviosas de la retina, no siendo comparables los resultados con los del tomógrafo de coherencia óptica de dominio temporal.



## **BIBLIOGRAFÍA**



## 7 BIBLIOGRAFÍA

1. Alward WLM. Glaucoma: los requisitos en oftalmología. Editorial Mosby. 2000.
2. Sample PA, Madrid ME, Weinreb RN. Evidence for a variety of functional defects in glaucoma-suspect eyes. *J Glaucoma* 1994;3 Suppl 1:S5-18.
3. Honrubia FM. Estrategia del diagnóstico precoz del glaucoma de ángulo abierto. *Diagnóstico Precoz Del Glaucoma*. Zaragoza: Editorial Edides 1997:16-29.
4. Shields MB, Ritch R, Krupin T. Classifications of the glaucomas. *The glaucomas, clinical science*. St. Louis: Mosby 1996:717.
5. Cioffi GA. Three common assumptions about ocular blood flow and glaucoma. *Surv Ophthalmol* 2001, May;45 Suppl 3:S325-31; discussion S332-4.
6. Kwon YH, Fingert JH, Kuehn MH, Alward WLM. Primary open-angle glaucoma. *N Engl J Med* 2009, Mar 3;360(11):1113-24.
7. Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D. Primary open-angle glaucoma: Pathophysiology and treatment. *The Lancet* 2004, Oct;364(9442):1311-2.
8. Ray K, Mookherjee S. Molecular complexity of primary open angle glaucoma: Current concepts. *J Genet* 2009, Dec;88(4):451-67.
9. Muñoz Negrete FJ, Rebolleda G. [Automated perimetry and neuro-ophthalmology. Topographic correlation]. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2002, Aug;77(8):413-28.
10. Radius RL, de Bruin J. Anatomy of the retinal nerve fiber layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981, Nov;21(5):745-9.
11. Radius RL, Anderson DR. The course of axons through the retina and optic nerve head. *Arch Ophthalmol* 1979, Jun;97(6):1154.
12. Jonas JB, Gusek GC, Naumann GO. Optic disc, cup and neuroretinal rim size, configuration and correlations in normal eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988, Jul;29(7):1151-8.
13. Dielemans I, Vingerling JR, Wolfs RCW, Hofman A, Grobbee DE, De Jong PT. The prevalence of primary open-angle glaucoma in a population-based study in the Netherlands. *Ophthalmology* 1994, Dec;101(11):1851-5.
14. Bonomi L, Marchini G, Marraffa M, Bernardi P, De Franco I, Perfetti S, et al. Prevalence of glaucoma and intraocular pressure distribution in a defined population. The Egna-Neumarkt Study. *Ophthalmology* 1998, Feb;105(2):209-15.

15. Gestal J J . Minusvalías físicas, mentales y sensoriales. En piédrola G editor. Medicina preventiva y salud pública. Barcelona salvat;1991:978-1008. Gestal J J . Minusvalías Físicas, Mentales Y Sensoriales. En Piédrola G Editor. Medicina Preventiva Y Salud Pública. Barcelona Salvat;1991:978-1008 .
16. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, 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, Jun;120(6):701-13; discussion 829-30.
17. Alward WLM. Open angle glaucomas. In: Alward WLM, ed. Glaucoma: The requisites in ophthalmology. St. Louis: Mosby; 2000. p.128-40.
18. Hollows FC, Graham PA. Intra-ocular pressure, glaucoma, and glaucoma suspects in a defined population. Br J Ophthalmol 1966, Oct;50(10):570-86.
19. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA, Javitt J. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore eye survey. JAMA 1991, Jul 7;266(3):369-74.
20. Antón A, Andrada MT, Mujica V, Calle MA, Portela J, Mayo A. Prevalence of primary open-angle glaucoma in a Spanish population: The Segovia study. J Glaucoma 2004, Oct;13(5):371.
21. Shields MB, Ritch R, Krupin T. Classifications of the glaucomas. The glaucomas, clinical science. In: St. Louis: Mosby. 1996. p. 717.
22. Czudowska MA, Ramdas WD, Wolfs RCW, Hofman A, De Jong PTVM, Vingerling JR, Jansonius NM. Incidence of glaucomatous visual field loss: A ten-year follow-up from the Rotterdam study. Ophthalmology 2010, Sep;117(9):1705-12.
23. Friedman DS, Wolfs RCW, O'Colmain BJ, Klein BE, Taylor HR, West S, et al. Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the united states. Arch Ophthalmol 2004, Apr;122(4):532-8.
24. Sommer A, Tielsch JM, Katz J, Quigley HA, Gottsch JD, Javitt JC, et al. Racial differences in the cause-specific prevalence of blindness in east baltimore. N Engl J Med 1991, Nov 11;325(20):1412-7.
25. Bengtsson B. The prevalence of glaucoma. Br J Ophthalmol 1981, Jan;65(1):46-9.
26. Leibowitz HM, Krueger DE, Maunder LR, Milton RC, Kini MM, Kahn HA, et al. 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, May-Jun;24(Suppl):335-610.

27. Chauhan BC, Mikelberg FS, Balaszi AG, LeBlanc RP, Lesk MR, Trope GE, Canadian Glaucoma Study Group. Canadian glaucoma study: 2. Risk factors for the progression of open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2008, Aug;126(8):1030-6.
28. Leske MC, Heijl A, Hyman L, Bengtsson B, Dong L, Yang Z, EMGT Group. Predictors of long-term progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology* 2007, Nov;114(11):1965-72.
29. Mukesh BN, McCarty CA, Rait JL, Taylor HR. Five-year incidence of open-angle glaucoma: The visual impairment project. *Ophthalmology* 2002, Jun;109(6):1047-51.
30. Shiose Y, Kitazawa Y, Tsukahara S, Akamatsu T, Mizokami K, Futa R, et al. Epidemiology of glaucoma in japan--a nationwide glaucoma survey. *Jpn J Ophthalmol* 1991;35(2):133-55.
31. Sommer A. Intraocular pressure and glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1989, Feb 2;107(2):186-8.
32. Kanski JJ. *Oftalmología clínica*. 6ª ed. Barcelona: Elsevier españa; 2009. p. 364-6.
33. Schottenstein EM. Intraocular pressure and tonometry. In: Ritch R, shields MB & krupin T (ed). *The glaucomas, clinical science*. St. Louis: Mosby; 1996;887-899.
34. Martínez-Belló C, Chauhan BC, Nicoleta MT, McCormick TA, LeBlanc RP. Intraocular pressure and progression of glaucomatous visual field loss. *Am J Ophthalmol* 2000, Mar;129(3):302-8.
35. Ekström C. Risk factors for incident open-angle glaucoma: A population-based 20-year follow-up study. *Acta Ophthalmol* 2012, Jun;90(4):316-21.
36. Leske MC, Wu S-Y, Nemesure B, Hennis A. Incident open-angle glaucoma and ocular perfusion pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011. Oct;52(11):7943.
37. Miglior S, Zeyen T, Pfeiffer N, Cunha-Vaz J, Torri V, Adamsons I, European Glaucoma Prevention Study (EGPS) Group. Results of the european glaucoma prevention study. *Ophthalmology* 2005, Mar;112(3):366-75.
38. Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, Hyman L, Bengtsson B, Hussein M, Early Manifest Glaucoma Trial Group. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: Results from the early manifest glaucoma trial. *Arch Ophthalmol* 2002, Oct;120(10):1268-79.
39. The advanced glaucoma intervention study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. The AGIS investigators. *Am J Ophthalmol* 2000, Oct;130(4):429-40.

40. Bengtsson B, Leske MC, Hyman L, Heijl A, Early Manifest Glaucoma Trial Group. Fluctuation of intraocular pressure and glaucoma progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology* 2007, Feb;114(2):205-9.
41. Cedrone C, Mancino R, Cerulli A, Cesareo M, Nucci C. Epidemiology of primary glaucoma: Prevalence, incidence, and blinding effects. *Prog Brain Res* 2008;173:3-14.
42. Nemesure B, Honkanen R, Hennis A, Wu SY, Leske MC, Barbados Eye Studies Group. Incident open-angle glaucoma and intraocular pressure. *Ophthalmology* 2007, Oct;114(10):1810-5.
43. Marcus MW, de Vries MM, Junoy Montolio FG, Jansonius NM. Myopia as a risk factor for open-angle glaucoma: A systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology* 2011, Oct;118(10):1989-1994.e2.
44. Grørdum K, Heijl A, Bengtsson B. Risk of glaucoma in ocular hypertension with and without pseudoexfoliation. *Ophthalmology* 2005, Mar;112(3):386-90.
45. Topouzis F, Harris A, Wilson MR, Koskosas A, Founti P, Yu F, et al. Increased likelihood of glaucoma at the same screening intraocular pressure in subjects with pseudoexfoliation: The thessaloniki eye study. *Am J Ophthalmol* 2009, Oct;148(4):606-613.e1.
46. Ellis JD, Evans JM, Ruta DA, Baines PS, Leese G, MacDonald TM, Morris AD. Glaucoma incidence in an unselected cohort of diabetic patients: Is diabetes mellitus a risk factor for glaucoma? DARTS/MEMO collaboration. Diabetes audit and research in tayside study. Medicines monitoring unit. *Br J Ophthalmol* 2000, Nov;84(11):1218-24.
47. Katz J, Sommer A. Risk factors for primary open angle glaucoma. *Am J Prev Med* 1988, Mar-Apr;4(2):110-4.
48. Pasquale LR, Kang JH, Manson JE, Willett WC, Rosner BA, Hankinson SE. Prospective study of type 2 diabetes mellitus and risk of primary open-angle glaucoma in women. *Ophthalmology* 2006, Jul;113(7):1081-6.
49. Leske MC, Podgor MJ. Intraocular pressure, cardiovascular risk variables, and visual field defects. *Am J Epidemiol* 1983, Aug;118(2):280-7.
50. Bonomi L, Marchini G, Marraffa M, Bernardi P, Morbio R, Varotto A. Vascular risk factors for primary open angle glaucoma: The egna-neumarkt study. *Ophthalmology* 2000, Jul;107(7):1287-93.
51. Hayreh SS. The role of age and cardiovascular disease in glaucomatous optic neuropathy. *Surv Ophthalmol* 1999, Jun;43 Suppl 1:S27-42.
52. Flammer J, Haefliger IO, Orgül S, Resink T. Vascular dysregulation: A principal risk factor for glaucomatous damage? *J Glaucoma* 1999, Jun;8(3):212-9.

53. Becker B, Kolker AE, Roth FD. Glaucoma family study. *Am J Ophthalmol* 1960, Oct;50:557-67.
54. Tielsch JM, Katz J, Sommer A, Quigley HA, Javitt JC. Family history and risk of primary open angle glaucoma. The baltimore eye survey. *Arch Ophthalmol* 1994, Jan;112(1):69-73.
55. Wiggs JL. Genetic etiologies of glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2007, Jan;125(1):30-7.
56. Zegers RHC, Reinders EF, de Smet MD. Primary open-angle glaucoma: The importance of family history and role of intraocular pressure. *Med J Aust* 2008, Mar 3;188(5):312-3.
57. Wolfs RC, Klaver CC, Ramrattan RS, van Duijn CM, Hofman A, de Jong PT. Genetic risk of primary open-angle glaucoma. Population-based familial aggregation study. *Arch Ophthalmol* 1998, Dec;116(12):1640-5.
58. Long WF. A case of elevated intraocular pressure associated with systemic steroid therapy. *Am J Optom Physiol Opt* 1977, Apr;54(4):248-52.
59. Clark AF, Wordinger RJ. The role of steroids in outflow resistance. *Exp Eye Res* 2009, Apr;88(4):752-9.
60. Da Silva JAP, Jacobs JWG, Kirwan JR, Boers M, Saag KG, Inês LBS, et al. Safety of low dose glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: Published evidence and prospective trial data. *Ann Rheum Dis* 2006, Mar;65(3):285-93.
61. Tripathi RC, Parapuram SK, Tripathi BJ, Zhong Y, Chalam KV. Corticosteroids and glaucoma risk. *Drugs Aging* 1999, Dec;15(6):439-50.
62. François J. Corticosteroid glaucoma. *Ophthalmologica* 1984;188(2):76-81.
63. Akingbehin AO. Corticosteroid-induced ocular hypertension. I. Prevalence in closed-angle glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1982, Aug;66(8):536-40.
64. Kersey JP, Broadway DC. Corticosteroid-induced glaucoma: A review of the literature. *Eye (Lond)* 2006, Apr;20(4):407-16.
65. Mowatt G, Burr JM, Cook JA, Siddiqui MAR, Ramsay C, Fraser C, et al. Screening tests for detecting open-angle glaucoma: Systematic review and meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008, Dec;49(12):5373-85.
66. Bahrami H. Causal inference in primary open angle glaucoma: Specific discussion on intraocular pressure. *Ophthalmic Epidemiol* 2006, Aug;13(4):283-9.
67. González de la Rosa MA. [Update on glaucoma diagnosis and follow-up]. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2003, Jun;78(6):299-314.
68. Brusini P. Monitoring glaucoma progression. *Prog Brain Res* 2008;173:59-73.
69. Herndon LW. Measuring intraocular pressure-adjustments for corneal thickness and new technologies. *Curr Opin Ophthalmol* 2006, Apr;17(2):115-9.

70. European Glaucoma Society. Terminología y pautas para el glaucoma. Dogma; 1998.
71. Johnson CA, Sample PA, Zangwill LM, Vasile CG, Cioffi GA, Liebmann JR, Weinreb RN. Structure and function evaluation (SAFE): II. Comparison of optic disk and visual field characteristics. *Am J Ophthalmol* 2003, Feb;135(2):148-54.
72. Lord SR, Smith ST, Menant JC. Vision and falls in older people: Risk factors and intervention strategies. *Clin Geriatr Med* 2010, Nov;26(4):569-81.
73. Hyman L. Epidemiology of eye disease in the elderly. *Eye (Lond)* 1987, May;1 ( Pt 2):330-41.
74. Klaver CC, Wolfs RC, Vingerling JR, Hofman A, de Jong PT. Age-specific prevalence and causes of blindness and visual impairment in an older population: The rotterdam study. *Arch Ophthalmol* 1998, May;116(5):653-8.
75. Bressler NM. Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness. *JAMA* 2004, Apr 4;291(15):1900-1.
76. Yang Z, Stratton C, Francis PJ, Kleinman ME, Tan PL, Gibbs D, et al. Toll-like receptor 3 and geographic atrophy in age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2008, Oct 10;359(14):1456-63.
77. Ruiz-Moreno JM. Tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) exudativa. Guías de práctica clínica de la SERV. 1º ed. Barcelona: SERV; 2009.
78. Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2008, Jun 6;358(24):2606-17.
79. Ferris FL, Davis MD, Clemons TE, Lee L-Y, Chew EY, Lindblad AS, et al. A simplified severity scale for age-related macular degeneration: AREDS report no. 18. *Arch Ophthalmol* 2005, Nov;123(11):1570-4.
80. Gass JDM, Agarwal A, Lavina AM, Tawansy KA. Focal inner retinal hemorrhages in patients with drusen: An early sign of occult choroidal neovascularization and chorioretinal anastomosis. *Retina* 2003, Dec;23(6):741-51.
81. Risk factors for choroidal neovascularization in the second eye of patients with juxtafoveal or subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. Macular photocoagulation study group. *Arch Ophthalmol* 1997, Jun;115(6):741-7.
82. Brown DM, Michels M, Kaiser PK, Heier JS, Sy JP, Ianchulev T, ANCHOR Study Group. Ranibizumab versus verteporfin photodynamic therapy for neovascular age-related macular degeneration: Two-year results of the ANCHOR study. *Ophthalmology* 2009, Jan;116(1):57-65.e5.

83. Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC, Klein BE, et al. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology* 2001, Apr;108(4):697-704.
84. Friedman DS, O'Colmain BJ, Muñoz B, Tomany SC, McCarty C, de Jong PTVM, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch Ophthalmol* 2004, Apr;122(4):564-72.
85. Rein DB, Wittenborn JS, Zhang X, Honeycutt AA, Lesesne SB, Saaddine J, Vision Health Cost-Effectiveness Study Group. Forecasting age-related macular degeneration through the year 2050: The potential impact of new treatments. *Arch Ophthalmol* 2009, Apr;127(4):533-40.
86. Johnson LV, Anderson DH. Age-related macular degeneration and the extracellular matrix. *N Engl J Med* 2004, Jul 7;351(4):320-2.
87. Seddon JM, George S, Rosner B, Rifai N. Progression of age-related macular degeneration: Prospective assessment of c-reactive protein, interleukin 6, and other cardiovascular biomarkers. *Arch Ophthalmol* 2005, Jun;123(6):774-82.
88. Kalayoglu MV, Bula D, Arroyo J, Gragoudas ES, D'Amico D, Miller JW. Identification of chlamydia pneumoniae within human choroidal neovascular membranes secondary to age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005, Nov;243(11):1080-90.
89. Vine AK, Stader J, Branham K, Musch DC, Swaroop A. Biomarkers of cardiovascular disease as risk factors for age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2005, Dec;112(12):2076-80.
90. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996, Aug 8;86(3):353-64.
91. Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai J-Y, Sackler RS, Haynes C, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 2005, Apr 4;308(5720):385-9.
92. Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, et al. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 2005, Apr 4;308(5720):419-21.
93. Edwards AO, Ritter R, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 2005, Apr 4;308(5720):421-4.

94. Schaumberg DA, Hankinson SE, Guo Q, Rimm E, Hunter DJ. A prospective study of 2 major age-related macular degeneration susceptibility alleles and interactions with modifiable risk factors. *Arch Ophthalmol* 2007, Jan;125(1):55-62.
95. Despret DDG, van Duijn CM, Oostra BA, Uitterlinden AG, Hofman A, Wright AF, et al. Complement component C3 and risk of age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2009, Mar;116(3):474-480.e2.
96. Klein R, Knudtson MD, Klein BEK, Wong TY, Cotch MF, Liu K, et al. Inflammation, complement factor h, and age-related macular degeneration: The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Ophthalmology* 2008, Oct;115(10):1742-9.
97. Boekhoorn SS, Vingerling JR, Witteman JCM, Hofman A, de Jong PTVM. C-reactive protein level and risk of aging macula disorder: The Rotterdam Study. *Arch Ophthalmol* 2007, Oct;125(10):1396-401.
98. Schaumberg DA, Christen WG, Buring JE, Glynn RJ, Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity c-reactive protein, other markers of inflammation, and the incidence of macular degeneration in women. *Arch Ophthalmol* 2007, Mar;125(3):300-5.
99. Weih LM, VanNewkirk MR, McCarty CA, Taylor HR. Age-specific causes of bilateral visual impairment. *Arch Ophthalmol* 2000, Feb;118(2):264-9.
100. Tan JSL, Mitchell P, Kifley A, Flood V, Smith W, Wang JJ. Smoking and the long-term incidence of age-related macular degeneration: The Blue Mountains eye study. *Arch Ophthalmol* 2007, Aug;125(8):1089-95.
101. Seddon JM, George S, Rosner B. Cigarette smoking, fish consumption, omega-3 fatty acid intake, and associations with age-related macular degeneration: The US twin study of age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2006, Jul;124(7):995-1001.
102. Klein R, Klein BE, Moss SE. Relation of smoking to the incidence of age-related maculopathy. The beaver dam eye study. *Am J Epidemiol* 1998, Jan 1;147(2):103-10.
103. Christen WG, Glynn RJ, Manson JE, Ajani UA, Buring JE. A prospective study of cigarette smoking and risk of age-related macular degeneration in men. *JAMA* 1996, Oct 10;276(14):1147-51.
104. Klein BE, Klein R, Lee KE, Moore EL, Danforth L. Risk of incident age-related eye diseases in people with an affected sibling : The Beaver Dam Eye Study. *Am J Epidemiol* 2001, Aug 8;154(3):207-11.
105. Seddon JM, Cote J, Page WF, Aggen SH, Neale MC. The US twin study of age-related macular degeneration: Relative roles of genetic and environmental influences. *Arch Ophthalmol* 2005, Mar;123(3):321-7.

106. Hammond CJ, Webster AR, Snieder H, Bird AC, Gilbert CE, Spector TD. Genetic influence on early age-related maculopathy: A twin study. *Ophthalmology* 2002, Apr;109(4):730-6.
107. Tan JSL, Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Cardiovascular risk factors and the long-term incidence of age-related macular degeneration: The Blue Mountains eye study. *Ophthalmology* 2007, Jun;114(6):1143-50.
108. Friedman E. The role of the atherosclerotic process in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2000, Nov;130(5):658-63.
109. Tan JSL, Wang JJ, Liew G, Rochtchina E, Mitchell P. Age-related macular degeneration and mortality from cardiovascular disease or stroke. *Br J Ophthalmol* 2008, Apr;92(4):509-12.
110. Mares JA, Volland RP, Sondel SA, Millen AE, Larowe T, Moeller SM, et al. Healthy lifestyles related to subsequent prevalence of age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2011, Apr;129(4):470-80.
111. Tan JSL, Wang JJ, Flood V, Rochtchina E, Smith W, Mitchell P. Dietary antioxidants and the long-term incidence of age-related macular degeneration: The Blue Mountains eye study. *Ophthalmology* 2008, Feb;115(2):334-41.
112. SanGiovanni JP, Chew EY, Clemons TE, Ferris FL, Gensler G, Lindblad AS, et al. The relationship of dietary carotenoid and vitamin A, E, and C intake with age-related macular degeneration in a case-control study: AREDS report no. 22. *Arch Ophthalmol* 2007, Sep;125(9):1225-32.
113. SanGiovanni JP, Chew EY, Agrón E, Clemons TE, Ferris FL, Gensler G, et al. The relationship of dietary omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid intake with incident age-related macular degeneration: AREDS report no. 23. *Arch Ophthalmol* 2008, Sep;126(9):1274-9.
114. Quillen DA. Common causes of vision loss in elderly patients. *Am Fam Physician* 1999, Jul;60(1):99-108.
115. Evans JR. Antioxidant vitamin and mineral supplements for slowing the progression of age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev* 2006(2):CD000254.
116. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Arch Ophthalmol* 2001, Oct;119(10):1417-36.

117. Virgili G, Bini A. Laser photocoagulation for neovascular age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev* 2007(3):CD004763.
118. Argon laser photocoagulation for neovascular maculopathy. Five-year results from randomized clinical trials. Macular photocoagulation study group. *Arch Ophthalmol* 1991, Aug;109(8):1109-14.
119. Potter MJ, Szabo SM. Recurrence of choroidal neovascularisation after photodynamic therapy in patients with age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2007, Jun;91(6):753-6.
120. Arroyo JG, Michaud N, Jakobiec FA. Choroidal neovascular membranes treated with photodynamic therapy. *Arch Ophthalmol* 2003, Jun;121(6):898-903.
121. Blinder KJ, Bradley S, Bressler NM, Bressler SB, Donati G, Hao Y, et al. Effect of lesion size, visual acuity, and lesion composition on visual acuity change with and without verteporfin therapy for choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration: TAP and VIP report no. 1. *Am J Ophthalmol* 2003, Sep;136(3):407-18.
122. Blumenkranz MS, Bressler NM, Bressler SB, Donati G, Fish GE, Haynes LA, et al. Verteporfin therapy for subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: Three-year results of an open-label extension of 2 randomized clinical trials--tap report no. 5. *Arch Ophthalmol* 2002, Oct;120(10):1307-14.
123. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: One-year results of 2 randomized clinical trials--tap report. Treatment of age-related macular degeneration with photodynamic therapy (TAP) study group. *Arch Ophthalmol* 1999, Oct;117(10):1329-45.
124. Kvanta A, Algvere PV, Berglin L, Seregard S. Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996, Aug;37(9):1929-34.
125. Lopez PF, Sippy BD, Lambert HM, Thach AB, Hinton DR. Transdifferentiated retinal pigment epithelial cells are immunoreactive for vascular endothelial growth factor in surgically excised age-related macular degeneration-related choroidal neovascular membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996, Apr;37(5):855-68.
126. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994, Dec 12;331(22):1480-7.

127. Vedula SS, Krzystolik MG. Antiangiogenic therapy with anti-vascular endothelial growth factor modalities for neovascular age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev* 2008(2):CD005139.
128. Available from: [Http://Www.Ema.Europa.Eu/docs/es\\_ES/document\\_library/EPAR\\_-\\_product\\_information/human/000620/WC500026214.Pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_product_information/human/000620/WC500026214.pdf).
129. Available from:  
[Http://Www.Seom.Org/seomcms/images/stories/recursos/sociosyprofs/documentacion/vademecum/2006/roche/avastin.Pdf](http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/sociosyprofs/documentacion/vademecum/2006/roche/avastin.pdf).
130. Wu L, Martínez-Castellanos MA, Quiroz-Mercado H, Arevalo JF, Berrocal MH, Farah ME, et al. Twelve-month safety of intravitreal injections of bevacizumab (avastin): Results of the pan-american collaborative retina study group (PACORES). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008, Jan;246(1):81-7.
131. van Wijngaarden P, Coster DJ, Williams KA. Inhibitors of ocular neovascularization: Promises and potential problems. *JAMA* 2005, Mar 3;293(12):1509-13.
132. Available from: [Http://Www.Lucentis.Com](http://www.lucensis.com).
133. Available from: [Http://Www.Fda.Gov/medwatch/safety/2007/safety07.Htm#lucensis](http://www.fda.gov/medwatch/safety/2007/safety07.htm#lucensis).
134. Kaiser PK, Blodi BA, Shapiro H, Acharya NR, MARINA Study Group. Angiographic and optical coherence tomographic results of the MARINA study of ranibizumab in neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2007, Oct;114(10):1868-75.
135. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006, Oct 10;355(14):1419-31.
136. Kaiser PK, Brown DM, Zhang K, Hudson HL, Holz FG, Shapiro H, et al. Ranibizumab for predominantly classic neovascular age-related macular degeneration: Subgroup analysis of first-year ANCHOR results. *Am J Ophthalmol* 2007, Dec;144(6):850-7.
137. Chang TS, Bressler NM, Fine JT, Dolan CM, Ward J, Klesert TR, MARINA Study Group. Improved vision-related function after ranibizumab treatment of neovascular age-related macular degeneration: Results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol* 2007, Nov;125(11):1460-9.
138. Giansanti F, Eandi CM, Virgili G. Submacular surgery for choroidal neovascularisation secondary to age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev* 2009(2):CD006931.
139. Eandi CM, Giansanti F, Virgili G. Macular translocation for neovascular age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev* 2008(4):CD006928.

140. MacLaren RE, Bird AC, Sathia PJ, Aylward GW. Long-term results of submacular surgery combined with macular translocation of the retinal pigment epithelium in neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2005, Dec;112(12):2081-7.
141. Bressler NM, Bressler SB, Childs AL, Haller JA, Hawkins BS, Lewis H, et al. Surgery for hemorrhagic choroidal neovascular lesions of age-related macular degeneration: Ophthalmic findings: SST report no. 13. *Ophthalmology* 2004, Nov;111(11):1993-2006.
142. Evans JR, Sivagnanavel V, Chong V. Radiotherapy for neovascular age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;5:CD004004.
143. Kim JE, Mantravadi AV, Hur EY, Covert DJ. Short-term intraocular pressure changes immediately after intravitreal injections of anti-vascular endothelial growth factor agents. *Am J Ophthalmol* 2008, Dec;146(6):930-4.e1.
144. Hollands H, Wong J, Bruen R, Campbell RJ, Sharma S, Gale J. Short-term intraocular pressure changes after intravitreal injection of bevacizumab. *Can J Ophthalmol* 2007, Dec;42(6):807-11.
145. Lanzl IM, Maier M, Feucht N, Lohmann CP, Kotliar KE. Intraocular pressure effects of pegaptanib (macugen) injections in patients with and without glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2008, Jan;145(1):185; author reply 186.
146. Good TJ, Kimura AE, Mandava N, Kahook MY. Sustained elevation of intraocular pressure after intravitreal injections of anti-vegf agents. *Br J Ophthalmol*. 2011, Aug;95(8):1111-4.
147. Young, Barbara. Órganos especiales de los sentidos. In: Wheater's *Histología funcional*. Madrid: Harcourt; 2000. p. 385-7.
148. Young B. Órganos especiales de los sentidos. In: Wheater's *Histología funcional*. Madrid: Harcourt; 2000. p. 388.
149. Jonas JB, Gusek GC, Naumann GO. Optic disc morphometry in chronic primary open-angle glaucoma. I. Morphometric intrapapillary characteristics. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1988, Nov;226(6):522-30.
150. Reus NJ, Lemij HG, Garway-Heath DF, Airaksinen PJ, Anton A, Bron AM, et al. Clinical assessment of stereoscopic optic disc photographs for glaucoma: The european optic disc assessment trial. *Ophthalmology* 2010, Apr;117(4):717-23.
151. Pederson JE, Anderson DR. The mode of progressive disc cupping in ocular hypertension and glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1980, Mar;98(3):490-5.
152. Quigley HA. Early detection of glaucomatous damage. II. Changes in the appearance of the optic disk. *Surv Ophthalmol* 1985, Sept-Oct;30(2):111, 117-26.

153. Tuulonen A, Airaksinen PJ. Initial glaucomatous optic disk and retinal nerve fiber layer abnormalities and their progression. *Am J Ophthalmol* 1991, Apr 4;111(4):485-90.
154. Hoyt WF, Frisén L, Newman NM. Fundoscopy of nerve fiber layer defects in glaucoma. *Invest Ophthalmol* 1973, Nov;12(11):814-29.
155. Airaksinen PJ, Tuulonen A, Alanko HI. Rate and pattern of neuroretinal rim area decrease in ocular hypertension and glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1992, Feb;110(2):206-10.
156. Jonas JB, Dichtl A. Evaluation of the retinal nerve fiber layer. *Surv Ophthalmol* 1996, Mar-Apr;40(5):369-78.
157. Kono Y, Sugiyama K, Ishida K, Yamamoto T, Kitazawa Y. Characteristics of visual field progression in patients with normal-tension glaucoma with optic disk hemorrhages. *Am J Ophthalmol* 2003, Apr;135(4):499-503.
158. Healey PR, Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Optic disc hemorrhages in a population with and without signs of glaucoma. *Ophthalmology* 1998, Feb;105(2):216-23.
159. Jonas JB, Naumann GO. Parapapillary chorioretinal atrophy in normal and glaucoma eyes. II. Correlations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989, May;30(5):919-26.
160. Jonas JB, Fernández MC, Naumann GO. Glaucomatous parapapillary atrophy. Occurrence and correlations. *Arch Ophthalmol* 1992, Feb;110(2):214-22.
161. Iester M, Mikelberg FS, Drance SM. The effect of optic disc size on diagnostic precision with the heidelberg retina tomograph. *Ophthalmology* 1997, Mar;104(3):545-8.
162. Gloster J. Quantitative relationship between cupping of the optic disc and visual field loss in chronic simple glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1978, Oct;62(10):665-9.
163. Essock EA, Sinai MJ, Bowd C, Zangwill LM, Weinreb RN. Fourier analysis of optical coherence tomography and scanning laser polarimetry retinal nerve fiber layer measurements in the diagnosis of glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2003, Sep;121(9):1238-45.
164. Deleón-Ortega JE, Arthur SN, McGwin G, Xie A, Monheit BE, Girkin CA. Discrimination between glaucomatous and nonglaucomatous eyes using quantitative imaging devices and subjective optic nerve head assessment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006, Aug;47(8):3374-80.
165. Reus NJ, Lemij HG. Diagnostic accuracy of the gdx VCC for glaucoma. *Ophthalmology* 2004, Oct;111(10):1860-5.
166. Reus NJ, de Graaf M, Lemij HG. Accuracy of gdx VCC, HRT I, and clinical assessment of stereoscopic optic nerve head photographs for diagnosing glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2007, Mar;91(3):313-8.

167. Pueyo V, Polo V, Larrosa JM, Ferreras A, Pablo LE, Honrubia FM. Diagnostic ability of the heidelberg retina tomograph, optical coherence tomograph, and scanning laser polarimeter in open-angle glaucoma. *J Glaucoma* 2007, Mar;16(2):173-7.
168. DeLeón Ortega JE, Sakata LM, Kakati B, McGwin G, Monheit BE, Arthur SN, Girkin CA. Effect of glaucomatous damage on repeatability of confocal scanning laser ophthalmoscope, scanning laser polarimetry, and optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007, Mar;48(3):1156-63.
169. Hoffmann EM, Bowd C, Klein N, Stemberger K, Grus FH, Pfeiffer N. Glaucoma detection using the gdx nerve fiber analyzer and the retinal thickness analyzer (RTA). *Eur J Ophthalmol* 2006, Mar-Apr;16(2):251-8.
170. Brusini P, Salvetat ML, Parisi L, Zeppieri M, Tosoni C. Discrimination between normal and early glaucomatous eyes with scanning laser polarimeter with fixed and variable corneal compensator settings. *Eur J Ophthalmol* 2005, Jul-Aug;15(4):468-76.
171. Zangwill LM, Bowd C, Berry CC, Williams J, Blumenthal EZ, Sánchez-Galeana CA, et al. Discriminating between normal and glaucomatous eyes using the heidelberg retina tomograph, gdx nerve fiber analyzer, and optical coherence tomograph. *Arch Ophthalmol* 2001, Jul;119(7):985-93.
172. Burk RO, Vihanninjoki K, Bartke T, Tuulonen A, Airaksinen PJ, Völcker HE, König JM. Development of the standard reference plane for the heidelberg retina tomograph. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2000, May;238(5):375-84.
173. Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, Weinreb RN. Comparison of the gdx VCC scanning laser polarimeter, HRT II confocal scanning laser ophthalmoscope, and stratus OCT optical coherence tomograph for the detection of glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2004, Jun;122(6):827-37.
174. Budenz DL, Michael A, Chang RT, McSoley J, Katz J. Sensitivity and specificity of the stratusoct for perimetric glaucoma. *Ophthalmology* 2005, Jan;112(1):3-9.
175. Leung CKS, Chan W-M, Yung W-H, Ng ACK, Woo J, Tsang M-K, Tse RKK. Comparison of macular and peripapillary measurements for the detection of glaucoma: An optical coherence tomography study. *Ophthalmology* 2005, Mar;112(3):391-400.
176. Kanamori A, Nakamura M, Escano MFT, Seya R, Maeda H, Negi A. Evaluation of the glaucomatous damage on retinal nerve fiber layer thickness measured by optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2003, Apr;135(4):513-20.
177. Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, Vessani RM, Susanna R, Weinreb RN. Evaluation of retinal nerve fiber layer, optic nerve head, and macular thickness measurements for

- glaucoma detection using optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2005, Jan;139(1):44-55.
178. Wollstein G, Ishikawa H, Wang J, Beaton SA, Schuman JS. Comparison of three optical coherence tomography scanning areas for detection of glaucomatous damage. *Am J Ophthalmol* 2005, Jan;139(1):39-43.
179. Manassakorn A, Nouri-Mahdavi K, Caprioli J. Comparison of retinal nerve fiber layer thickness and optic disk algorithms with optical coherence tomography to detect glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2006, Jan;141(1):105-15.
180. Naithani P, Sihota R, Sony P, Dada T, Gupta V, Kondal D, Pandey RM. Evaluation of optical coherence tomography and Heidelberg retinal tomography parameters in detecting early and moderate glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007, Jul;48(7):3138-45.
181. Lu AT-H, Wang M, Varma R, Schuman JS, Greenfield DS, Smith SD, et al. Combining nerve fiber layer parameters to optimize glaucoma diagnosis with optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2008, Aug;115(8):1352-7, 1357.e1-2.
182. Li S, Wang X, Li S, Wu G, Wang N. Evaluation of optic nerve head and retinal nerve fiber layer in early and advance glaucoma using frequency-domain optical coherence tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010, Mar;248(3):429-34.
183. Muñoz-Negrete FJ. Aplicaciones del estudio con OCT de la CFNR en el glaucoma. In: *Tomografía de Coherencia Óptica*. Madrid: Sociedad Española de Oftalmología; 2011. p. 616.
184. Huang M-L, Chen H-Y. Development and comparison of automated classifiers for glaucoma diagnosis using stratus optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005, Nov;46(11):4121-9.
185. Budenz DL, Chang RT, Huang X, Knighton RW, Tielsch JM. Reproducibility of retinal nerve fiber thickness measurements using the stratus OCT in normal and glaucomatous eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005, Jul;46(7):2440-3.
186. Arthur SN, Smith SD, Wright MM, Grajewski AL, Wang Q, Terry JM, Lee MS. Reproducibility and agreement in evaluating retinal nerve fibre layer thickness between stratus and spectralis OCT. *Eye (Lond)* 2011, Feb;25(2):192-200.
187. Budenz DL, Fredette M-J, Feuer WJ, Anderson DR. Reproducibility of peripapillary retinal nerve fiber thickness measurements with stratus OCT in glaucomatous eyes. *Ophthalmology* 2008, Apr;115(4):661-666.
188. Leung CK-S, Cheung CY-L, Weinreb RN, Qiu Q, Liu S, Li H, et al. Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical coherence tomography: A variability and diagnostic performance study. *Ophthalmology* 2009, Jul;116(7):1257-63, 1263.

189. Sung KR, Kim DY, Park SB, Kook MS. Comparison of retinal nerve fiber layer thickness measured by cirrus HD and stratus optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2009, Jul;116(7):1264-70, 1270.
190. Knight OJ, Chang RT, Feuer WJ, Budenz DL. Comparison of retinal nerve fiber layer measurements using time domain and spectral domain optical coherent tomography. *Ophthalmology* 2009, Jul;116(7):1271-7.
191. Mylonas G, Ahlers C, Malamos P, Golbaz I, Deak G, Schuetze C, et al. Comparison of retinal thickness measurements and segmentation performance of four different spectral and time domain OCT devices in neovascular age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2009, Nov;93(11):1453-60.
192. Muñoz-Negrete FJ. Aplicaciones del estudio con OCT de la CFNR en el glaucoma. In: *Tomografía de Coherencia Óptica*. Madrid: Sociedad Española de Oftalmología; 2011. p. 619.
193. Rao HL, Zangwill LM, Weinreb RN, Sample PA, Alencar LM, Medeiros FA. Comparison of different spectral domain optical coherence tomography scanning areas for glaucoma diagnosis. *Ophthalmology* 2010, Sep;117(9):1692-9, 1699.
194. Leung CKS, Lam S, Weinreb RN, Liu S, Ye C, Liu L, et al. Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical coherence tomography: Analysis of the retinal nerve fiber layer map for glaucoma detection. *Ophthalmology* 2010, Sep;117(9):1684-91.
195. Mwanza J-C, Chang RT, Budenz DL, Durbin MK, Gendy MG, Shi W, Feuer WJ. Reproducibility of peripapillary retinal nerve fiber layer thickness and optic nerve head parameters measured with cirrus HD-OCT in glaucomatous eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010, Nov;51(11):5724-30.
196. Leite MT, Rao HL, Zangwill LM, Weinreb RN, Medeiros FA. Comparison of the diagnostic accuracies of the spectralis, cirrus, and rtvue optical coherence tomography devices in glaucoma. *Ophthalmology* 2011, Jul;118(7):1334-9.
197. Rao HL, Leite MT, Weinreb RN, Zangwill LM, Alencar LM, Sample PA, Medeiros FA. Effect of disease severity and optic disc size on diagnostic accuracy of rtvue spectral domain optical coherence tomograph in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011, Mar;52(3):1290-6.
198. Mwanza J-C, Durbin MK, Budenz DL, Cirrus OCT Normative Database Study Group. Interocular symmetry in peripapillary retinal nerve fiber layer thickness measured with the cirrus HD-OCT in healthy eyes. *Am J Ophthalmol* 2011, Mar;151(3):514-21.e1.

199. Bengtsson B, Andersson S, Heijl A. Performance of time-domain and spectral-domain optical coherence tomography for glaucoma screening. *Acta Ophthalmol* 2012, Jun;90(4):310-5.
200. Jeoung JW, Park KH. Comparison of cirrus OCT and stratus OCT on the ability to detect localized retinal nerve fiber layer defects in preperimetric glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010, Feb;51(2):938-45.
201. Wu H, de Boer JF, Chen TC. Reproducibility of retinal nerve fiber layer thickness measurements using spectral domain optical coherence tomography. *J Glaucoma* 2010, Oct;20(8):470-6.
202. Langenegger SJ, Funk J, Töteberg-Harms M. Reproducibility of retinal nerve fiber layer thickness measurements using the eye tracker and the retest function of spectralis SD-OCT in glaucomatous and healthy control eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011, May;52(6):3338-44.
203. Serbecic N, Beutelspacher SC, Aboul-Enein FC, Kircher K, Reitner A, Schmidt-Erfurth U. Reproducibility of high-resolution optical coherence tomography measurements of the nerve fibre layer with the new heidelberg spectralis optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol* 2011, Jun;95(6):804-10.
204. Muñoz-Negrete JF. Artefactos de OCT en el estudio de la papila y de la capa de fibras nerviosas. In: *Tomografía de Coherencia Óptica*. Madrid: Sociedad Española de Oftalmología; 2011. p. 39-6.
205. Wu Z, Huang J, Dustin L, Sadda SR. Signal strength is an important determinant of accuracy of nerve fiber layer thickness measurement by optical coherence tomography. *J Glaucoma* 2009, Mar;18(3):213-6.
206. Savini G, Carbonelli M, Parisi V, Barboni P. Effect of pupil dilation on retinal nerve fibre layer thickness measurements and their repeatability with cirrus HD-OCT. *Eye (Lond)* 2010, Sep;24(9):1503-8.
207. Mwanza JC, Bhorade AM, Sekhon N, McSoley JJ, Yoo SH, Feuer WJ, Budenz DL. Effect of cataract and its removal on signal strength and peripapillary retinal nerve fiber layer optical coherence tomography measurements. *J Glaucoma* 2011, Jan;20(1):37-43.
208. Moreno-Montañés J, Antón A, Olmo N, Bonet E, Alvarez A, Barrio-Barrio J, et al. Misalignments in the retinal nerve fiber layer evaluation using cirrus high-definition optical coherence tomography. *J Glaucoma* 2011, Dec;20(9):559-65.
209. Manjunath V, Shah H, Fujimoto JG, Duker JS. Analysis of peripapillary atrophy using spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2011, Mar;118(3):531-6.

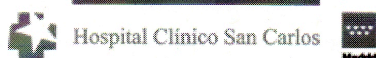
210. Sánchez-Dalmau B. Neuropatías ópticas nutricionales y tóxicas. In: Neuropatías ópticas: diagnóstico y tratamiento. LXXVIII Ponencia Sociedad Española de Oftalmología. Madrid: Mac Line; 2002. p. 265-77.
211. Johnson DE, El-Defrawy SR, Almeida DRP, Campbell RJ. Comparison of retinal nerve fibre layer measurements from time domain and spectral domain optical coherence tomography systems. *Can J Ophthalmol* 2009, Oct;44(5):562-6.
212. Hougaard JL, Ostensfeld C, Heijl A, Bengtsson B. Modelling the normal retinal nerve fibre layer thickness as measured by stratus optical coherence tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006, Dec;244(12):1607-14.
213. Parikh RS, Parikh SR, Sekhar GC, Prabakaran S, Babu JG, Thomas R. Normal age-related decay of retinal nerve fiber layer thickness. *Ophthalmology* 2007, May;114(5):921-6.
214. Budenz DL, Anderson DR, Varma R, Schuman J, Cantor L, Savell J, et al. Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by stratus OCT. *Ophthalmology* 2007, Jun;114(6):1046-52.
215. Harwerth RS, Wheat JL, Rangaswamy NV. Age-related losses of retinal ganglion cells and axons. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008, Oct;49(10):4437-43.
216. Grewal DS, Sehi M, Paauw JD, Greenfield DS. Detection of progressive retinal nerve fiber layer thickness loss with optical coherence tomography using 4 criteria for functional progression. *J Glaucoma* 2012, Apr;21(4):214-20.
217. Bendschneider D, Tornow RP, Horn FK, Laemmer R, Roessler CW, Juenemann AG, et al. Retinal nerve fiber layer thickness in normals measured by spectral domain OCT. *J Glaucoma* 2010, Sep;19(7):475-82.
218. Leung CKS, Yu M, Weinreb RN, Ye C, Liu S, Lai G, Lam DSC. Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical coherence tomography: A prospective analysis of age-related loss. *Ophthalmology* 2012, Apr;119(4):731-7.
219. Tsai J-C, Lin P-W, Teng M-C, Lai I-C. Longitudinal changes in retinal nerve fiber layer thickness after acute primary angle closure measured with optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007, Apr;48(4):1659-64.
220. Falkenstein IA, Cheng L, Freeman WR. Changes of intraocular pressure after intravitreal injection of bevacizumab (avastin). *Retina* 2007, Oct;27(8):1044-7.
221. Sharei V, Höhn F, Köhler T, Hattenbach L-O, Mirshahi A. Course of intraocular pressure after intravitreal injection of 0.05 ml ranibizumab (Lucentis). *Eur J Ophthalmol* 2010, Jan-Feb;20(1):174-9.

222. Frenkel MPC, Haji SA, Frenkel REP. Effect of prophylactic intraocular pressure-lowering medication on intraocular pressure spikes after intravitreal injections. *Arch Ophthalmol* 2010, Dec;128(12):1523-7.
223. Bakri SJ, McCannel CA, Edwards AO, Moshfeghi DM. Persistent ocular hypertension following intravitreal ranibizumab. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008, Jul;246(7):955-8.
224. Tseng JJ, Vance SK, Della Torre KE, Mendonca LS, Cooney MJ, Klancnik JM, et al. Sustained increased intraocular pressure related to intravitreal antivascular endothelial growth factor therapy for neovascular age-related macular degeneration. *J Glaucoma* 2012, Apr-May;21(4):241-7.
225. Zayit-Soudry S, Zemel E, Barak A, Perlman I, Loewenstein A. Safety of intravitreal bevacizumab in the developing rabbit retina. *Retina* 2011, Oct;31(9):1885-95.
226. Harwerth RS, Wheat JL. Modeling the effects of aging on retinal ganglion cell density and nerve fiber layer thickness. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008, Feb;246(2):305-14.
227. Horsley MB, Mandava N, Maycotte MA, Kahook MY. Retinal nerve fiber layer thickness in patients receiving chronic anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Am J Ophthalmol* 2010, Oct;150(4):558-561.



## **ANEXOS**





Hospital Clínico San Carlos

**Informe Dictamen Protocolo Favorable**

C.P. HCSC-RANICFNR-09 - N.E. --- C.I. O-09/155

23 de abril de 2009

**CEIC Area 7 - Hospital Clínico San Carlos**

Dra. Mar García Arenillas  
Secretaria del CEIC Area 7 - Hospital Clínico San Carlos

**CERTIFICA**

1º. Que ha evaluado la propuesta del promotor referida al estudio:

**Título: "Estudio de la capa de fibras nerviosas de la retina en pacientes con degeneración macular asociada a la edad, tratados con ranibizumab intravítreo"**

**Código Promotor:** HCSC-RANICFNR-09

**Código Interno:** O-09/155

**Promotor/Investigador Principal:** Dr. José María Martínez de la Casa

**Versión Protocolo:** Abril de 2009

**Versión Hoja Información al Paciente:** GENERAL / Abril de 2009

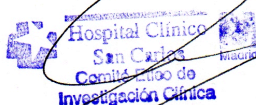
2º. Considera que:

- Se respetan los principios éticos básicos y es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.

3º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

Lo que firmo en Madrid, a 23 de abril de 2009

Fdo:



Dra. Mar García Arenillas  
Secretaria del CEIC Area 7 - Hospital Clínico San Carlos

Hospital Clínico San Carlos

Coordinación Ensayos Clínicos, 1º N , C/ Doctor Martín Lagos, s/n. Madrid 28040  
Madrid España

Tel. 91 330 38 19 Fax. 91 330 32 99 Correo electrónico ceic.hcsc@salud.madrid.org

Página 0 de 1



## CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

## VISITA DE SELECCIÓN.

Identificación del paciente: N° de paciente \_\_\_\_\_ N° de historia clínica \_\_\_\_\_

Caso o Control o Ojo: derecho o Izquierdo o

Fecha de nacimiento \_\_/\_\_/\_\_ ( dd/mm/aa) Sexo: M o F o

Tipo de membrana neovascular: Subfoveal o Yuxtafoveal o Extrafoveal o

Fecha 1ª inyección: \_\_/\_\_/\_\_ AV basal: \_\_\_\_\_

Incremento de PIO: Sí o No o Control de PIO al día siguiente: Sí o No o

Necesidad de tratamiento: Sí o No o

Stratus:

Average thickness basal \_\_\_\_\_ Thickness T \_\_\_\_\_ Thickness S \_\_\_\_\_

Thickness N \_\_\_\_\_ Thickness I \_\_\_\_\_

Spectralis:

Average thickness basal \_\_\_\_\_ Thickness T \_\_\_\_\_ Thickness S \_\_\_\_\_

Thickness N \_\_\_\_\_ Thickness I \_\_\_\_\_

## **ANTECEDENTES PERSONALES.**

Indicar la historia clínica conocida.

- **ANTECEDENTES OFTALMOLOGICOS:**

1. Enfermedades oculares (indicar cuales):

- **ANTECEDENTES GENERALES.**

1. Enfermedades (indicar cuales):

---

**FIRMA CONSENTIMIENTO INFORMADO: SI**

**VISITA 2: 1 mes postinyección.**

Identificación del paciente: N° de paciente \_\_\_\_\_ N° de historia clínica \_\_\_\_\_

Caso o Control o Ojo: derecho o Izquierdo o

Fecha 2ª inyección: \_\_/\_\_/\_\_

Incremento de PIO: Sí o No o Control de PIO al día siguiente: Sí o No o  
Necesidad de tratamiento: Sí o No o

Acontecimientos adversos o

***Si ocurre algún acontecimiento adverso, rellene el formulario de  
acontecimientos adversos.***

Firma del médico

Fecha de la firma \_\_\_\_\_

**VISITA 3: 2 meses postinyección.**

Identificación del paciente: N° de paciente \_\_\_\_\_ N° de historia clínica \_\_\_\_\_

Caso o Control o Ojo: derecho o Izquierdo o

Fecha 3ª inyección: \_\_/\_\_/\_\_

Incremento de PIO: Sí o No o Control de PIO al día siguiente: Sí o No o  
Necesidad de tratamiento: Sí o No o

Acontecimientos adversos o

*Si ocurre algún acontecimiento adverso, rellene el formulario de  
acontecimientos adversos.*

Firma del médico

Fecha de la firma \_\_\_\_\_

**VISITA 4: 3 meses postinyección.**

Identificación del paciente: N° de paciente \_\_\_\_\_ N° de historia clínica \_\_\_\_\_

Caso o Control o Ojo: derecho o Izquierdo o

Fecha: \_\_/\_\_/\_\_

AV: \_\_\_\_\_

Stratus:

Average thickness basal \_\_\_\_\_ Thickness T \_\_\_\_\_ Thickness S \_\_\_\_\_

Thickness N \_\_\_\_\_ Thickness I \_\_\_\_\_

Spectralis:

Average thickness basal \_\_\_\_\_ Thickness T \_\_\_\_\_ Thickness S \_\_\_\_\_

Thickness N \_\_\_\_\_ Thickness I \_\_\_\_\_

Acontecimientos adversos o

***Si ocurre algún acontecimiento adverso, rellene el formulario de  
acontecimientos adversos.***

Firma del médico

Fecha de la firma \_\_\_\_\_

**VISITA 5: 6 meses postinyección.**

Identificación del paciente: N° de paciente \_\_\_\_\_ N° de historia clínica \_\_\_\_\_

Caso o Control o Ojo: derecho o Izquierdo o

Fecha: \_\_/\_\_/\_\_

AV: \_\_\_\_\_

Stratus:

Average thickness basal \_\_\_\_\_ Thickness T \_\_\_\_\_ Thickness S \_\_\_\_\_

Thickness N \_\_\_\_\_ Thickness I \_\_\_\_\_

Spectralis:

Average thickness basal \_\_\_\_\_ Thickness T \_\_\_\_\_ Thickness S \_\_\_\_\_

Thickness N \_\_\_\_\_ Thickness I \_\_\_\_\_

Acontecimientos adversos o

***Si ocurre algún acontecimiento adverso, rellene el formulario de  
acontecimientos adversos.***

Firma del médico

Fecha de la firma \_\_\_\_\_

**VISITA 6: 12 meses postinyección.**

Identificación del paciente: N° de paciente \_\_\_\_\_ N° de historia clínica \_\_\_\_\_

Caso o Control o Ojo: derecho o Izquierdo o

Fecha: \_\_/\_\_/\_\_

AV: \_\_\_\_\_

Stratus:

Average thickness basal \_\_\_\_\_ Thickness T \_\_\_\_\_ Thickness S \_\_\_\_\_

Thickness N \_\_\_\_\_ Thickness I \_\_\_\_\_

Spectralis:

Average thickness basal \_\_\_\_\_ Thickness T \_\_\_\_\_ Thickness S \_\_\_\_\_

Thickness N \_\_\_\_\_ Thickness I \_\_\_\_\_

Acontecimientos adversos o

***Si ocurre algún acontecimiento adverso, rellene el formulario de  
acontecimientos adversos.***

Firma del médico

Fecha de la firma \_\_\_\_\_

## VISITAS Extraordinarias

Identificación del paciente: N° de paciente \_\_\_\_\_ N° de historia clínica \_\_\_\_\_

Caso o Control o Ojo: derecho o Izquierdo o

Fecha de inyección extraordinaria: \_\_/\_\_/\_\_

Incremento de PIO: Sí o No o Control de PIO al día siguiente: Sí o No o  
Necesidad de tratamiento: Sí o No o

Acontecimientos adversos o

***Si ocurre algún acontecimiento adverso, rellene el formulario de  
acontecimientos adversos.***

Firma del médico

Fecha de la firma \_\_\_\_\_

## INFORMACIÓN AL PACIENTE

### **Título del estudio:**

*“Estudio de la Capa de Fibras Nerviosas de la Retina en pacientes con Degeneración Macular Asociada a la Edad tratados con Ranibizumab intravítreo”*

*Este formulario de consentimiento puede contener palabras que no entienda. Por favor, pregunte a su doctor o al personal del estudio cualquier palabra o información que no entienda claramente.*

### **INTRODUCCIÓN.**

Se le pide participar en un estudio de investigación. Antes de decidir si quiere participar, lea atentamente este formulario de consentimiento y pregunte todo lo que desee. La decisión de participar en el estudio es voluntaria y en cualquier momento podrá retirarse del mismo. Si decide no participar o si abandona el estudio, esto no repercutirá sobre la relación con su médico ni representará ningún perjuicio para su tratamiento. Se le informará de cualquier novedad que pudiera afectar a su deseo de participar en el estudio. Si su médico cree que es mejor para usted, podrá retirarlo del estudio con o sin su consentimiento.

### **ANTECEDENTES Y OBJETIVO.**

Se le ha detectado que tiene Degeneración Macular Asociada a la Edad. Es una causa muy frecuente de disminución de agudeza visual en pacientes con su edad y el tratamiento se realiza con inyecciones intravítreas de Ranibizumab (Lucentis®). Con este estudio, pretendemos determinar si hay cambios en el grosor de la capa de fibras nerviosas de su retina con una técnica de imagen denominada Tomografía Óptica de Coherencia.

### **DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE ESTUDIO.**

Si tiene interés en participar en el estudio, durante la primera visita se recogerá información sobre su historia clínica / oftalmológica, medicación que utiliza, e información personal, para asegurar que cumple unos criterios específicos.

Si cumple los requisitos del estudio, las pruebas se realizarán en un mínimo de ocho visitas en un periodo de dos años, haciéndolas coincidir en la medida de lo posible con las revisiones que requiere su patología. En la primera visita, se le realizarán dos fotografías de cada uno de sus ojos, en concreto de su nervio óptico. Estas dos fotografías se le repetirán a lo largo de las siete visitas restantes. No se trata de una prueba invasiva ya que se trata básicamente de un sistema óptico que toma imágenes de su ojo, sin ponerse en contacto con él. No se han descrito complicaciones ni efecto secundario alguno tras la realización de esta prueba. El instrumento de medida (Tomógrafo Óptico de Coherencia) se emplea de manera habitual en la práctica clínica para el estudio de pacientes con patología del nervio óptico y de la mácula como el glaucoma o la Degeneración Macular Asociada a la Edad.

Además, cada vez que usted reciba una inyección intraocular de Lucentis®, se le hará una toma de presión intraocular pre y postintervención. La toma presión intraocular es un procedimiento habitual que ya se le ha realizado varias veces en nuestras consultas. En el caso de que su presión intraocular hubiera aumentado significativamente, le solicitaríamos una revisión al día siguiente para un nuevo control. Si la presión intraocular continuara aumentada, sería necesario instaurar un tratamiento farmacológico y hacer un seguimiento de ésta hasta su normalización.

#### **EFFECTOS SECUNDARIOS/ RIESGOS.**

No dude en preguntar al médico sobre cualquier duda que presente sobre las exploraciones que se le van a realizar.

No existen problemas descritos en la realización de estas pruebas.

Puede requerir alguna visita extraordinaria para controlar la presión intraocular postinyección.

#### **RIESGOS IMPREVISTOS**

Además de estos riesgos, podrían existir otros imprevisibles. En caso de cualquier problema de salud debe informar al médico inmediatamente, tanto si sospecha que puede estar relacionado con el estudio como si no cree que lo esté.

## **CONFIDENCIALIDAD**

Su información del estudio se registrará en formularios. Los responsables del estudio, Comité Ético y autoridades sanitarias pueden revisar su documentación clínica para verificar los procedimientos de estudio y/o los datos hasta los límites permitidos por las leyes y regulaciones vigentes sin violar su confidencialidad (Ley 15/99). Los resultados podrán publicarse pero su nombre no aparecerá en ningún informe o publicación.

## **PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA**

La participación en el estudio es voluntaria. Si decide no participar o se retira en cualquier momento, no perderá ninguno de los beneficios que de otra manera tendría.

## **TERMINACIÓN PRECOZ**

Como en cualquier estudio, existe la posibilidad de que el estudio finalice de forma precoz o que su participación finalice antes de la visita final sin su consentimiento.

## **NUEVOS HALLAZGOS**

Si aparecen nuevos hallazgos en el estudio que pudieran afectar su deseo de participar, o afectar a su salud tanto durante como después de su participación en este estudio, el médico del estudio se lo notificará.

Recibirá una copia de este formulario firmado y fechado.



**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

***Título del estudio:***

*“Estudio de la Capa de Fibras Nerviosas en pacientes con Degeneración Macular Asociada a la Edad tratados con Ranibizumab intravítreo”*

***Yo:***

*(Poner nombre y apellidos)*

*Declaro que he sido amplia y satisfactoriamente informado de forma oral, he leído este documento, he comprendido y estoy conforme con las explicaciones del procedimiento, que dicha información ha sido realizada. He podido hacer preguntas sobre el estudio.*

***He hablado con:***

*(Nombre del investigador)*

*Comprendo que mi participación es voluntaria. Comprendo que puedo retirarme del estudio:*

1° Cuando quiera

2° Sin tener que dar explicaciones

3° Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

*Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio*

**Firma del participante**

**Fecha**

Firma del investigador

Fecha



## Glaucoma

## Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Changes in Patients with Age-Related Macular Degeneration Treated with Intravitreal Ranibizumab

Jose M. Martinez-de-la-Casa, Aurora Ruiz-Calvo, Federico Saenz-Frances, Juan Reche-Frutos, Cristina Calvo-Gonzalez, Juan Donate-Lopez, and Julián García-Fejoo

**PURPOSE.** To assess the effects of intravitreal ranibizumab therapy on intraocular pressure (IOP) and retinal nerve fiber (RNFL) thickness.

**METHODS.** Forty-nine eyes of 49 patients with neovascular age-related macular degeneration (AMD) treated with intravitreal ranibizumab injections and 27 fellow eyes not requiring treatment were followed for 1 year. RNFL thickness, as measured by Fourier domain optical coherence tomography, and IOP were determined pre- and postinjection.

**RESULTS.** After 12 months, the mean number of injections received was  $4.8 \pm 1.6$ . The incidence of IOP elevations ( $>5$  mm Hg over baseline) observed at the time of injection was 0.4%. Baseline RNFL thickness was  $105.7 \pm 12.2$   $\mu\text{m}$  in the treatment group compared with  $101.8 \pm 11.6$   $\mu\text{m}$  in the control group ( $P = 0.176$ ). At the end of follow-up, significant RNFL thinning was noted in the treatment group ( $100.2 \pm 11.0$   $\mu\text{m}$ ,  $P < 0.001$ ), whereas no differences were found in the control group ( $100.5 \pm 10.8$   $\mu\text{m}$ ,  $P = 0.477$ ).

**CONCLUSIONS.** Intravitreal ranibizumab injections used to treat AMD caused a significant change in RNFL thickness after 12 months of follow-up. (*Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53:6214–6218) DOI:10.1167/iovs.12.9875

Glaucoma and age-related macular degeneration (AMD) are the two leading causes of irreversible blindness in developed countries.<sup>1,2</sup> In glaucoma, the retinal nerve fiber layer (RNFL) becomes gradually thinner and this leads to visual field loss, which in advanced stages can produce blindness.<sup>3</sup> In neovascular or exudative AMD, the wet form of AMD, abnormal blood vessel growth leads to blood and protein leakage below the macula causing irreversible damage to the photoreceptors and rapid central vision loss if left untreated.<sup>2,3</sup>

From the Servicio de Oftalmología, Hospital Clínico San Carlos; Departamento de Oftalmología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid; and Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos (IdISSC), Madrid, España.

Supported in part by Instituto de Salud Carlos III, “Red temática de Investigación Cooperativa, Proyecto RD07/0062: Patología ocular del envejecimiento, calidad visual y calidad de vida” and Grupo de Investigación de la Universidad Complutense de Madrid 920415-GR58/08.

Submitted for publication March 18, 2012; revised July 20 and August 9, 2012; accepted August 13, 2012.

Disclosure: J.M. Martínez-de-la-Casa, None; A. Ruiz-Calvo, None; F. Saenz-Frances, None; J. Reche-Frutos, None; C. Calvo-Gonzalez, None; J. Donate-Lopez, None; J. García-Fejoo, None

Corresponding author: Jose M. Martínez-de-la-Casa, Hospital Clínico San Carlos, 28040 Madrid, Spain; martinezcasa@ya.com.

The recent introduction of drugs that inhibit vascular endothelial growth factor (anti-VEGF) like ranibizumab (Lucentis), bevacizumab (Avastin), or pegaptanib (Macugen) have revolutionized the treatment of neovascular AMD. When directly injected into the vitreous humor, these drugs prevent the advance of neovascular AMD in an elevated number of patients.<sup>4–6</sup> However, exposure to an antiangiogenic drug, usually given as monthly or 6-weekly injections, often induces intraocular pressure (IOP) elevations, which are usually self-limiting but sometimes may require treatment.<sup>7–10</sup> So far, the literature lacks studies that have assessed the effect of repeated ranibizumab injections on the RNFL.<sup>11,12</sup>

The present prospective controlled study was designed to determine RNFL modifications induced by intravitreal ranibizumab treatment of neovascular AMD by Fourier domain optical coherence tomography (Spectralis SD-OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany), as well as any IOP effects of this drug.

### METHODS

We designed a prospective longitudinal cohort study of 1 year's duration to assess RNFL thickness in patients with AMD treated with intravitreal ranibizumab (injectable solution of 10 mg/mL, 0.5 mg, or 0.05 mL).

Consecutive patients with neovascular AMD who were to undergo first-time treatment with intravitreal ranibizumab were enrolled. The diagnosis of neovascular AMD was made on the basis of an abnormal appearance of choroid neovessels or of a choroid vascular membrane that could manifest as pigment epithelium or neuroepithelium, both serous or hemorrhagic, with exudation toward the retinal tissue. The treatment regimen followed the guidelines of the European Medication Agency (EMA). The study design fulfilled the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by our institution's review board. Written informed consent was obtained from each patient. The dosing regimen of ranibizumab was monthly 0.05-mL injections for 3 months following diagnosis and a further injection if there was exudative lesion reactivation on the retina. As controls, fellow eyes that did not fulfill the exclusion criteria and showed no AMD requiring treatment were selected.

Patients were excluded if they had poorly controlled AMD, were unable to cooperate, had received prior treatment for AMD, or had optic nerve disease, including glaucoma, elevated IOP, factors associated with secondary glaucoma, any active eye disease (eg, uveitis, infection, or dry eye syndrome), an eye condition or disease that might contraindicate the programmed tests, or patients whose disease or health state in the opinion of the investigator could significantly increase the risks of treatment, interfere with the study results, or considerably impair their participation in the study.

The following variables were recorded for each eye: type of neovascular membrane (classic, predominantly classic, minimally

classic, occult, retinal angiomatous proliferation, or polypoidal choroidal vasculopathy); age; sex; number of injections received at 1, 3, 6, and 12 months; and best-corrected visual acuity (BCVA) at baseline and 1, 3, 6, and 12 months after treatment onset.

Over the course of follow-up, RNFL thickness and macular thickness were measured by spectral domain OCT (Spectralis SD-OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). A pupil diameter of at least 4 mm was required for scanning. RNFL thickness measurements (diameter 3.5 mm, 768 Ascans) were obtained at baseline and at 3, 6, and 12 months of follow-up. An online tracking system was used to compensate for eye movement. RNFL thickness (from the inner margin of the internal limiting membrane to the outer margin of the RNFL layer) was automatically segmented using the Spectralis software. Quality criteria included sharp scan beam and definition of vessels, scan beam centered on optic disc, even illumination, automatic real-time (ART) score of 16, and signal-to-noise ratio of 15 dB or higher. Macular thickness measurements were obtained at baseline and at the 12-month visit by acquiring 25 frames in an area of  $30 \times 30$  degrees at  $1536 \times 1536$  pixels. We selected the retinal thickness map analysis to display numeric averages of the measurements for each of the nine subfields as defined by the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) (Fig.). The inner, intermediate, and outer rings of diameters 1, 3, and 6 mm, respectively, were considered for the analyses. The average of all points within the inner 1-mm radius circle was defined as central foveal thickness (CFT). The intermediate ring is divided into four zones designated as inner superior (IS), inner nasal (IN), inner inferior (II), and inner temporal (IT); and the outer ring designated into outer superior (OS), outer nasal (ON), outer inferior (OI), and outer temporal (OT). The numerical values recorded for each of the nine zones were used in the analyses. In both analyses, the autorescan function was activated to minimize variation in allocating the acquisition protocols to the follow-up sessions.

IOP was measured in each patient before each injection and 1 hour after the injection procedure. Any pressure elevation above 5 mm Hg was recorded. If IOP was higher than 30 mm Hg, topical IOP-lowering medication treatment was prescribed and the patient reassessed after 24 hours.

All statistical tests were performed using the SPSS package version 18.0 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL). The Kolmogorov-Smirnov test was used to check for a normal distribution of quantitative data. Quantitative variables were expressed as their corresponding means and SDs. Medians and interquartile ranges were used to describe variables showing a non-normal distribution. Within-group changes from baseline were analyzed using paired *t*-tests. Within-group measurements during follow-up were analyzed using an ANOVA test for repeated measures. Correlation between macular thickness and RNFL thickness was assessed using the Pearson correlation coefficient. The level of significance was set at *P* less than 0.05. The effect of multiple comparisons was corrected by the Bonferroni test.

## RESULTS

Forty-nine patients who fulfilled the inclusion and exclusion criteria were included in the study; 49 eyes were deemed valid as cases and 27 fellow eyes met the requirements as controls.

Mean age was  $78.5 \pm 6.9$  years; 33 (67.3%) of the neovascular membranes were classified as occult, whereas the remaining 16 (32.7%) were assigned to the other categories (Table 1). The overall number of injections given over the 12 months of follow-up was 236 (range 3–8), with a mean of  $4.8 \pm 1.6$  injections per eye. The incidence of pressure spikes (IOP elevation greater than 5 mm Hg) following the injection procedure was 0.4%. No patient required IOP-lowering treatment for spikes greater than 10 mm Hg. BCVAs during follow-up are provided in Table 1.

Baseline RNFL thickness means recorded over the 12 months were  $105.7 \pm 12.2$   $\mu$ m for the cases and  $101.8 \pm 11.6$   $\mu$ m for the controls (*P* = 0.176), and means at 3, 6, and 12 months were  $101.4 \pm 10.4$ ,  $101.1 \pm 10.7$ , and  $100.1 \pm 11.0$   $\mu$ m for the cases and  $100.4 \pm 11.7$ ,  $99.3 \pm 11.1$ , and  $100.5 \pm 10.8$   $\mu$ m for the controls, respectively. Compared with baseline, thickness reductions were  $5.6 \pm 9.1$   $\mu$ m in the case group (*P* < 0.001) and  $1.3 \pm 9.6$   $\mu$ m in the control group (*P* = 0.477). Differences in these measurements during follow-up between the two groups were not significant (*P* = 0.065).

Table 2 provides the mean RNFL thicknesses recorded by quadrant (superior, nasal, inferior, and temporal). At the end of follow-up, significant differences compared with baseline were observed in superior, inferior, and temporal quadrants in the case group, whereas no differences were found in the control group in any quadrant.

To assess the effects of changes in macular thickness induced by ranibizumab on RNFL thickness, macular thickness was determined during follow-up. Table 3 shows the thickness of each macular zone at the start and end of follow-up. Significant differences during the study were detected in the central (CFT) and two of the four zones of the inner ring (nasal and inferior). In contrast, the thicknesses recorded for the four outer ring zones failed to vary at the end of follow-up from the baseline visit. Correlations were examined between thickness changes (thickness at 12 months – baseline thickness) produced in the nasal region of the outer macular ring and those produced in the superior, inferior, and temporal quadrants of the RNFL. No significant correlations were detected for any of the quadrants (superior *r* = -0.026, *P* = 0.884; inferior *r* = 0.170, *P* = 0.334; temporal *r* = -0.312, *P* = 0.077).

Neither did we observe significant correlations between thickness changes produced during follow-up in the superior zone of the outer macular ring and those produced in the superior RNFL quadrant (*r* = -0.200, *P* = 0.264), nor between the inferior zone of the outer macular ring and the inferior RNFL quadrant (*r* = 0.156, *P* = 0.385).

## DISCUSSION

The use of intravitreal injections to treat diseases of the retina, especially neovascular AMD, is becoming common practice. The results of our study indicate that several monthly 0.05-mL doses of ranibizumab lead to significant RNFL thinning.

To the best of our knowledge, no prior controlled randomized study has addressed the possible effects of repeated intravitreal injections of anti-VEGF agents on the RNFL. In theory, RNFL modifications could be induced by the intraocular volume increase produced by the injection or through a direct toxic effect of the drug on the RNFL.

Several authors have assessed the relationship between anti-VEGF agents and the intraocular pressure spikes observed in response to their administration.<sup>8,9,13</sup> The general consensus is that IOP spikes are limited to within the first few minutes of the injection procedure, prophylactic IOP-lowering treatment is not efficient to prevent their appearance,<sup>14</sup> and that in practically all cases, pressures return to normal values without the need for additional treatment. Hollands et al.<sup>9</sup> examined the short-term effects of intravitreal bevacizumab on IOP and detected a significant IOP increase in the first minutes posttreatment, passing from a baseline IOP of 14.0 (95% confidence interval [CI] 13.4–14.7) mm Hg to 36.1 (95% CI 33.5–38.6) mm Hg 2 minutes after the injection. By 30 minutes postinjection, IOP had returned to its baseline value. Only in 3 eyes (2.9%) of the 104 examined, did pressure remain over 25 mm Hg for more than 30 minutes. In two cases, pressure normalized 2 hours later without medication and in the remaining eye, pressure-lowering

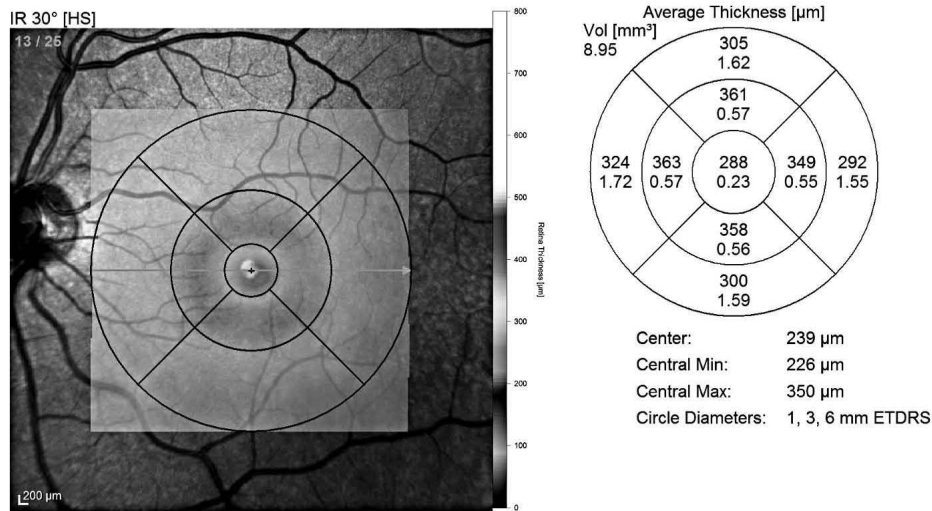


FIGURE. Retinal thickness (RT) analysis protocol showing the mean thickness in each of the 9 ETDRS subfields.

treatment was required for a week until baseline IOP was recovered. Falkenstein et al.<sup>13</sup> reported similar results with mean increases of 21 mm Hg observed 3 minutes after injection. All cases showed pressures under 30 mm Hg at 15 minutes postinjection without the need for treatment. Using the same anti-VEGF drug and dosing regimen as that used here, Sharei et al.<sup>15</sup> described mean IOP increases of 25 mm Hg immediately after the injection procedure in 45 eyes: 71.1% of treated eyes showed IOPs above 40 mm Hg and 42.2% above 50 mm Hg. A return to normal IOP was observed without the need for treatment and the difference at 10 minutes was only +4.6 ± 7.0 mm Hg from baseline IOP.

In our cohort, only a single case showed a significant IOP spike; however, the fact that IOP was determined 1 hour after injection rather than after the first few minutes may have

prevented the observation of greater IOP peaks. Such peaks may have even been the cause of RNFL thinning during follow-up when treated eyes had received several injections.

A recent study has revealed that patients treated with multiple anti-VEGF injections may, over time, show sustained IOP elevation with no as-yet known origin requiring IOP-lowering treatment.<sup>16</sup> It has also been determined that the incidence of such increased IOP is more frequent among patients with preexisting glaucoma.<sup>17</sup>

A second hypothesis, although less plausible, to explain the RNFL thinning observed here would be a direct toxic effect of the drug on this nerve fiber layer. Thus, Zayit-Soudry et al.<sup>11</sup> assessed in rabbits the toxicity of nine intravitreal injections of bevacizumab or ranibizumab given on a 2-weekly basis. Follow-up included electrophysiological tests and acquiring morphological data but no toxic effects on the retina were detected. To date, no study in humans has addressed this hypothesis.

The main objective of our study was to quantify possible RNFL damage induced by IOP spikes or the action of the drug itself, given that no prior study has analyzed this possible adverse effect of intravitreal anti-VEGF therapy in a prospective and controlled manner. Our findings indicate that whether because of the pressure elevations produced immediately following the injection procedure or because of the drug's toxicity, significant RNFL thinning occurred in the treated eyes (5.6 μm), whereas no significant changes were detected in the control group. The lack of significance of the ANOVA test for repeated measures could be a consequence of nonsignificant differences between the pairs of measures compared but a statistically significant difference did emerge in the treatment group between baseline and 12 months. In a recent study, Horsley et al.<sup>12</sup> retrospectively examined the effect on the RNFL of a series of injections of bevacizumab, ranibizumab, or pegaptanib in patients with AMD. Of 41 eyes receiving a minimum of 10 injections, no significant differences were detected by temporal domain OCT (Stratus OCT; Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA) after a mean follow-up of 27.0 ± 9.7

TABLE 1. Subject Demographics and Eye Characteristics

	Cases (n = 49)	Controls (n = 27)	
Mean age, y	79.2 ± 7.0	77.2 ± 6.5	P = 0.233
Sex, M/F	20/29	13/14	
CNV lesion subtype, n (%)			
Occult with no classic	33 (67.3%)		
Minimally classic	3 (6.1%)		
Predominantly classic	11 (22.4%)		
Other	2 (4.2%)		
BCVA (letters)			
Baseline	55.1 ± 20.4	62.9 ± 28.9	
3 mo	61.3 ± 18.3	64.8 ± 27.1	
6 mo	61.3 ± 18.8	65.2 ± 28.7	
12 mo	58.6 ± 21.3	64.9 ± 28.4	
Average RNFL at baseline	105.7 ± 12.2	101.8 ± 11.6	P = 0.176

Mean ± SD (mm Hg). CNV, choroidal neovascularization.

TABLE 2. RNFL Thickness during Follow-Up

	Cases (n = 49)	Controls (n = 27)
Average RNFL thickness		
Baseline	105.7 ± 12.2	101.8 ± 11.6
3 mo	101.4 ± 10.4	100.4 ± 11.7
6 mo	101.1 ± 10.7	99.3 ± 11.1
12 mo	100.2 ± 11.0	100.5 ± 10.8
Change from baseline (P)	<0.001	0.477
Superior quadrant		
Baseline	126.0 ± 23.4	118.0 ± 17.7
3 mo	118.9 ± 17.1	117.0 ± 16.7
6 mo	117.9 ± 18.8	116.5 ± 16.2
12 mo	118.7 ± 20.0	119.4 ± 17.7
Change from baseline (P)	0.030	0.695
Nasal quadrant		
Baseline	82.7 ± 19.9	79.1 ± 12.6
3 mo	79.9 ± 16.3	81.5 ± 18.8
6 mo	80.2 ± 15.8	76.6 ± 13.8
12 mo	78.8 ± 14.3	77.2 ± 12.8
Change from baseline (P)	0.064	0.333
Inferior quadrant		
Baseline	130.3 ± 16.6	124.1 ± 22.7
3 mo	128.5 ± 15.9	125.7 ± 20.3
6 mo	126.9 ± 15.1	123.7 ± 21.6
12 mo	126.3 ± 14.6	127.3 ± 29.3
Change from baseline (P)	0.005	0.562
Temporal quadrant		
Baseline	87.1 ± 22.5	85.2 ± 17.7
3 mo	76.1 ± 11.9	78.7 ± 14.4
6 mo	76.5 ± 14.5	79.7 ± 16.0
12 mo	76.1 ± 14.5	81.6 ± 19.3
Change from baseline (P)	<0.001	0.201
Mean ± SD (microns).		

months. The study design, lack of a control group, and the measuring instrument used could explain the different results to ours. Compared with temporal domain OCT, spatial domain OCT offers better resolution and reproducibility of measures because its software is designed to take measurements in a given zone during the course of follow-up. This minimizes variation and improves the power to detect small-thickness changes in the RNFL.<sup>18</sup>

During follow-up, macular thickness was also measured to assess whether the changes produced in the RNFL could be caused by macular edema possibly reaching the peripapillary region. Of the three concentric rings into which the retinal thickness map is divided according to the ETDRS (1, 3, and 6 mm) only the two innermost rings were affected by the changes induced by ranibizumab. None of the 4 quadrants of the outermost zone showed changes at the end of follow-up from baseline. In addition, in no case were correlations between changes detected in the outer macular ring and changes in the RNFL statistically significant. According to these data, it seems unlikely that the RNFL thinning observed in response to treatment was secondary to a change in the extent of macular edema induced by ranibizumab.

The loss of nerve fibers in the study group at the end of the 12 months of follow-up amounts to 5.2% with respect to baseline thickness. Although statistically significant, this difference could be only of relative clinical significance in a patient with an initially normal nerve fiber layer thickness. However, in a patient with an already compromised RNFL, the

TABLE 3. Macular Thickness during Follow-Up

	Baseline	12 mo	P
Central foveal thickness	353.4 ± 113.4	301.9 ± 58.5	0.011
Inner ring			
Superior	347.6 ± 72.5	337.7 ± 54.7	0.320
Nasal	359.5 ± 84.1	334.6 ± 53.9	0.036
Inferior	351.6 ± 64.7	330.5 ± 43.0	0.039
Temporal	353.0 ± 63.9	334.4 ± 52.7	0.080
Outer ring			
Superior	306.9 ± 38.1	303.8 ± 45.0	0.563
Nasal	309.5 ± 32.6	308.3 ± 48.9	0.833
Inferior	292.4 ± 32.8	285.7 ± 27.7	0.340
Temporal	290.6 ± 40.7	279.1 ± 28.0	0.194
Mean ± SD (microns).			

changes induced by intravitreal anti-VEGF therapy could worsen the patient's clinical situation.

Thus, in patients with glaucoma and considerable prior RNFL thinning scheduled to receive anti-VEGF treatment, it would be prudent to more closely monitor IOP elevations and to record any RNFL modifications by OCT.

## References

- Rudnicka AR, Mi-Isa S, Owen CG, et al. Variations in primary open-angle glaucoma prevalence by age, gender, and race: a Bayesian meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:4254-4261.
- Klaver CC, Wolfs RC, Vingerling JR, et al. Age-specific prevalence and causes of blindness and visual impairment in an older population: the Rotterdam Study. *Arch Ophthalmol.* 1998;116:653-658.
- 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.
- Chang TS, Bressler NM, Fine JT, et al; MARINA Study Group. Improved vision-related function after ranibizumab treatment of neovascular age-related macular degeneration: results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol.* 2007;125:1460-1469.
- Bressler NM, Chang TS, Fine JT, et al; Anti-VEGF Antibody for the Treatment of Predominantly Classic Choroidal Neovascularization in Age-Related Macular Degeneration (ANCHOR) Research Group. Improved vision-related function after ranibizumab vs photodynamic therapy: a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol.* 2009;127:13-21.
- Bashshur ZF, Haddad ZA, Schakal A, et al. Intravitreal bevacizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a one-year prospective study. *Am J Ophthalmol.* 2008;145:249-256.
- Wu L, Martínez-Castellanos MA, Quiroz-Mercado H, et al; Pan American Collaborative Retina Group (PACORES). Twelve-month safety of intravitreal injections of bevacizumab (Avastin): results of the Pan-American Collaborative Retina Study Group (PACORES). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008;46:81-87.
- Kim JE, Mantravadi AV, Hur EY, Covert DJ. Short-term intraocular pressure changes immediately after intravitreal injections of anti-vascular endothelial growth factor agents. *Am J Ophthalmol.* 2008;146:930-934.
- Hollands H, Wong J, Bruen R, et al. Short-term intraocular pressure changes after intravitreal injection of bevacizumab. *Can J Ophthalmol.* 2007;42:807-811.

10. Lanzl IM, Maier M, Feucht N, et al. Intraocular pressure effects of pegaptanib (Macugen) injections in patients with and without glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2007;143:1034-1035.
11. Zayit-Soudry S, Zemel E, Loewenstein A, Perlman I. Safety evaluation of repeated intravitreal injections of bevacizumab and ranibizumab in rabbit eyes. *Retina*. 2010;30:671-681.
12. Horsley MB, Mandava N, Maycotte MA, Kahook MY. Retinal nerve fiber layer thickness in patients receiving chronic anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Am J Ophthalmol*. 2010;150:558-561.
13. Falkenstein IA, Cheng L, Freeman WR. Changes of intraocular pressure after intravitreal injection of bevacizumab (Avastin). *Retina*. 2007;27:1044-1047.
14. Frenkel MP, Haji SA, Frenkel RE. Effect of prophylactic intraocular pressure-lowering medication on intraocular pressure spikes after intravitreal injections. *Arch Ophthalmol*. 2010;128:1523-1527.
15. Sharei V, Höhn F, Köhler T, et al. Course of intraocular pressure after intravitreal injection of 0.05 mL ranibizumab (Lucentis). *Eur J Ophthalmol*. 2010;20:174-179.
16. Tseng JJ, Vance SK, Della Torre KE, et al. Sustained increased intraocular pressure related to intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapy for neovascular age-related macular degeneration. *J Glaucoma*. 2012;21:241-247.
17. Good TJ, Kimura AE, Mandava N, Kahook MY. Sustained elevation of intraocular pressure after intravitreal injections of anti-VEGF agents. *Br J Ophthalmol*. 2011;95:1111-1114.
18. Serbecic N, Beutelspacher SC, Aboul-Enin FC, et al. Reproducibility of high-resolution optical coherence tomography measurements of the nerve fibre layer with the new Heidelberg Spectralis optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol*. 2011;95:804-810.



