

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología



**TESIS DOCTORAL**

**Base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina medido con OCT-Spectralis**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**María Nieves Moreno**

**Directores**

**José María Martínez de la Casa**  
**Julián García Feijóo**  
**Ingenorg Stalmans**

**Madrid, 2018**



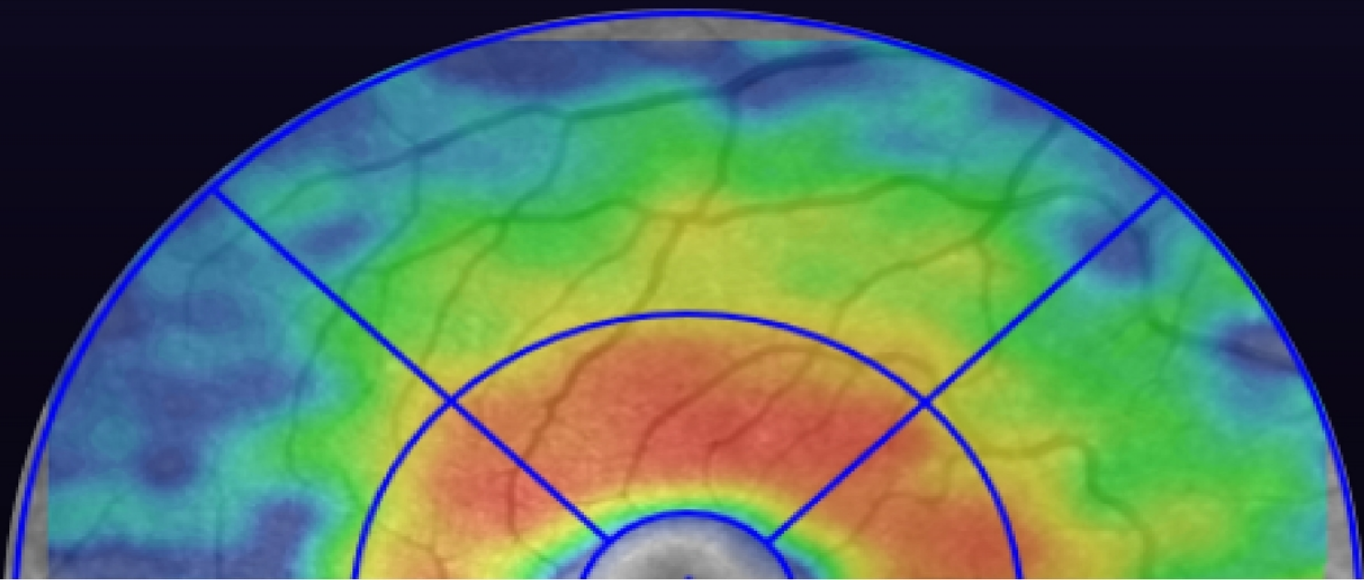
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
Facultad de Medicina  
Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión  
Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología

---

# BASE DE DATOS NORMATIVA DEL GROSOR DE LAS CAPAS INTERNAS DE LA RETINA MEDIDO CON OCT-SPECTRALIS

---

MARÍA NIEVES MORENO  
DIRECTORES:  
JOSÉ M. MARTINEZ DE LA CASA  
JULIÁN GARCÍA FEIJÓ  
INGEBORG STALMANS  
MADRID, 2017





# UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Medicina  
Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión  
Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología



## Base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina medido con OCT-Spectralis.

**María Nieves Moreno**

**Directores:** José María Martínez de la Casa  
Julián García Feijóo  
Ingeborg Stalmans

Madrid, 2017.



**Base de datos normativa del grosor de las capas  
internas de la retina medido con OCT-Spectralis.**

**María Nieves Moreno**

Tesis Doctoral

Universidad Complutense de Madrid

Directores V<sup>o</sup>B<sup>o</sup>

José María Martínez de la Casa

Profesor Titular Oftalmología, Universidad Complutense de Madrid

Julián García Feijoó

Catedrático Oftalmología, Universidad Complutense de Madrid

Ingeborg Stalmans

Professor in Ophthalmology, UZ Leuven, Belgium





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

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

E **Ingeborg Stalmans**, Professor in Ophthalmology, UZ Leuven, Belgium, como directora,

**CERTIFICAN:**

Que la presente memoria de Tesis doctoral titulada “*Base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina medido con OCT-Spectralis.*” ha sido realizada bajo nuestra dirección por Dña. María Nieves Moreno desde el año 2015 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 doctoral reúne todos los requisitos necesarios para su defensa y aprobación. Y, para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en Madrid, a de dos mil diecisiete

José María Martínez de la Casa  
Profesor Titular Oftalmología, Universidad Complutense de Madrid

Julián García Feijoó  
Catedrático Oftalmología, Universidad Complutense de Madrid

Ingeborg Stalmans  
Professor in Ophthalmology, UZ Leuven, Belgium





"We must think critically, and not just about the ideas of others.  
Be hard on your beliefs. Be intellectually rigorous.  
Identify your biases, your prejudices, your privilege."

Tim Minchin





# **AGRADECIMIENTOS**





## AGRADECIMIENTOS

Quiero dar las gracias a mi familia, a mis padres y a mi hermana, por su apoyo constante durante toda mi formación y por su paciencia en los momentos difíciles. Todo esto habría sido imposible sin ellos.

A José María Martínez de la Casa, tutor y director, por confiar en mí desde el primer día, por guiarme durante todo el camino y por todo lo que ha trabajado para traerme hasta el final de esta tesis.

A Julián García Feijóo, director de esta tesis, al que estaré siempre agradecida por darme la oportunidad de tener una excelente formación y ayudarme a desarrollar este proyecto.

A Ingeborg Stalmans, directora, por acogerme en su hospital y darme la oportunidad de desarrollar este proyecto dentro de su servicio.

A mis adjuntos, por la paciencia y el tiempo dedicado en enseñarme esta bonita profesión.

A mis residentes mayores por saber siempre más cosas que yo, y estar dispuestos a contármelas, las veces que haga falta, con la profundidad que haga falta. A mis residentes pequeños, por darme perspectiva y por enseñarme a ir siempre más allá. A mis coRs, porque han sido los mejores compañeros y amigos que podría desear.

A Cristina Fernández, miembro del Departamento de Medicina Preventiva del Hospital Clínico San Carlos, por su inestimable ayuda en el análisis estadístico de este trabajo.

A todo el personal del Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos por crear un ambiente familiar, por su paciencia y por su buen humor.

Y como no, a Ángel, por crecer siempre a mi lado.





# ÍNDICE



# ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>11</b>
<b>ÍNDICE.....</b>	<b>15</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>19</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>45</b>
<b>ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS.....</b>	<b>71</b>
<b>PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES EN CONGRESOS.....</b>	<b>77</b>
<b>LISTADO DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>81</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>85</b>
1. GLAUCOMA.....	85
1.1 Definición de Glaucoma.....	85
1.2 Clasificación de Glaucoma.....	88
1.3 Epidemiología del glaucoma.....	90
1.4 Factores de riesgo del glaucoma de ángulo abierto.....	90
1.5 Fisiopatología del glaucoma.....	95
1.6 Diagnóstico precoz de glaucoma.....	97
2. ANATOMÍA DE LA MÁCULA.....	98
2.1 Definición de mácula.....	98
2.2 Histología de la retina.....	102
2.3 Vascularización de la mácula.....	103
3. TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA (OCT).....	104
3.1 Bases teóricas del funcionamiento del OCT.....	104
3.2 OCT Spectralis (Heidelberg Engineering).....	106
3.3 Otros OCT.....	109
3.4 Correlación entre la OCT y la anatomía de la retina.....	111
4. BASES DE DATOS DE NORMALIDAD PARA PRUEBAS DE IMAGEN EN GLAUCOMA.....	114
5. DAÑO GLAUCOMATOSO EN LA MÁCULA.....	119
5.1 La RNFL y el complejo GCL-IPL en sujetos sanos.....	119
5.2 La RNFL y GCL en pacientes con glaucoma.....	121
5.3 Defectos centrales en el campo visual en el glaucoma incipiente..	122
<b>JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS.....</b>	<b>125</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>131</b>
<b>SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>135</b>
1. ESTUDIO I: Base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina en el área macular medido con OCT de dominio espectral.....	138
1.1 Tipo de estudio y diseño del mismo.....	138
1.2 Selección de los sujetos.....	138
1.3. Calendario de visitas.....	141
1.4. Aspectos éticos.....	142
2. ESTUDIO II: Rentabilidad diagnóstica del grosor macular de las capas internas de la retina medido con SD-OCT Spectralis para diferenciar entre ojos normales y ojos con glaucoma.....	142
2.1 Objetivos y diseño del estudio.....	142

2.2 Selección de los sujetos.....	144
2.3. Aspectos éticos.....	145
3. CONSENTIMIENTOS INFORMADOS.....	147
4. HISTORIA CLÍNICA Y EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA.....	148
4.1 Historia clínica.....	148
4.2 Exploración oftalmológica.....	148
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	151
5.1 Estudio I.....	151
5.2 Estudio II.....	152
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>155</b>
1. ESTUDIO I.....	157
2. ESTUDIO II.....	173
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>195</b>
1. ESTUDIO I.....	199
1.1 Características de la población del estudio.....	199
1.2 Relación del grosor de las capas internas de la retina con la edad. .	200
1.3 Relación del grosor de las capas internas de la retina con el sexo y la raza.....	202
1.4 Relación del grosor de las capas internas de la retina con la longitud axial.....	203
1.5 Limitaciones del estudio.....	205
2. ESTUDIO II.....	206
2.1 Características de la población de estudio.....	206
2.2 Diferencias en el grosor de las capas internas de la retina entre controles y glaucoma.....	207
2.3 Capacidad diagnóstica de las capas internas de la retina.....	209
2.4 Diferencias entre la capacidad diagnóstica de las capas internas de la retina y la RNFL.....	218
2.5 Limitaciones del estudio.....	220
3. REPERCISIÓN DE LOS RESULTADOS .....	222
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>229</b>
<b>CONCLUSIONS.....</b>	<b>233</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>237</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>253</b>
<b>ANEXO II.....</b>	<b>259</b>
<b>ANEXO III.....</b>	<b>265</b>
<b>ANEXO IV.....</b>	<b>269</b>
<b>ANEXO V.....</b>	<b>271</b>
<b>ANEXO VI.....</b>	<b>273</b>
<b>ANEXO VII.....</b>	<b>283</b>
<b>ANEXO VIII.....</b>	<b>285</b>



# RESUMEN





## RESUMEN

### 1. INTRODUCCIÓN

El glaucoma es una de las causas más frecuentes de ceguera irreversible en los países desarrollados. Su patogenia se caracteriza por una pérdida progresiva de células ganglionares de la retina, que se traduce en una pérdida progresiva de campo visual y que en fases avanzadas puede conducir a la ceguera[1]. Dado el carácter irreversible de la enfermedad es muy importante detectar los cambios glaucomatosos de manera fiable tan pronto como sea posible.

La llegada de los Tomógrafos de Coherencia Óptica (OCT) ha supuesto un gran cambio en el manejo y diagnóstico de las patologías retinianas y del glaucoma. El OCT es un método de imagen transpupilar y no invasivo, con el que se obtienen imágenes transversales del tejido retiniano que han demostrado tener buena correlación con la histología retiniana[2], [3]. Con los nuevos OCT de dominio espectral es posible adquirir imágenes más rápido y de mejor calidad, si los comparamos con los OCT de dominio tiempo.[4] La última versión del Software del Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering) permite segmentar de manera automática las capas de la retina de manera individual (Fig.1), y este análisis ha demostrado recientemente tener una excelente repetibilidad y reproducibilidad en sujetos sanos[5].

Para optimizar los resultados de las pruebas diagnósticas, estos se comparan generalmente con bases de datos normativas que se realizan con sujetos que no

presentan la enfermedad[6]. Actualmente no existe ninguna base de datos normativa para del grosor de las capas de la retina en el área macular para el Spectralis-OCT.

El daño glaucomatoso en la mácula es común, puede ocurrir en estadios iniciales de la enfermedad y puede ser infradiagnosticado con las estrategias de campimetría usadas en la práctica clínica habitual como la estrategia 24-2. En esta estrategia de campimetría solo 4 de los puntos diagnósticos evaluados caen en el área macular, siendo está el área de mayor densidad de células ganglionares[7]. Estudios previos han demostrado que el grosor del complejo células ganglionares-plexiforme interna es mejor parámetro para detectar glaucoma que la RNFL peripapilar en pacientes con afectación central del campo visual[8].

## **2. OBJETIVOS**

El objetivo principal de la presente Tesis Doctoral es desarrollar una base de datos de normalidad de las capas internas de la retina en el área macular utilizando el OCT-Spectralis, en una población sana y caucásica.

## **3. SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS**

### **3.1 ESTUDIO I**

Se trata de un estudio observacional y transversal en el que se analizaron 300 ojos, de 300 voluntarios sanos de origen caucásico. El estudio fue aprobado por el Comité de

Ética del Hospital Clínico San Carlos (Madrid, España) y se realizó siguiendo las directrices de la declaración de Helsinki.

### 3.1.1 Sujetos

En el presente estudio se incluyeron 300 voluntarios sanos de origen caucásico que no presentaban ninguna sintomatología oftalmológica, todos los participantes eran mayores de 18 años. Los voluntarios firmaron un consentimiento informado tras recibir una explicación detallada acerca de las pruebas realizadas en el estudio y su propósito. Se realizó una exploración oftalmológica completa, incluyendo una revisión de la historia clínica y antecedentes personales, agudeza visual, biomicroscopía, presión intraocular, funduscopia, refracción y una medida de la longitud axial mediante un biómetro óptico. Para el análisis final, solo se seleccionó un ojo por paciente de manera aleatoria. La selección de pacientes se realizó siguiendo las recomendaciones de Realini et al.

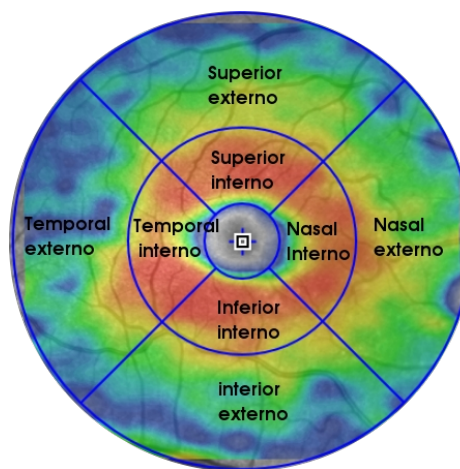
### 3.1.2 Tomografía de Coherencia Óptica

A todos los participantes del estudio se les realizó una OCT macular sin dilatación de la pupila mediante Spectralis OCT (Heidelberg Engineering). El escáner se llevó a cabo utilizando un cubo de 20x20 grados con 49 cortes transversales separados 120  $\mu\text{m}$ . El sistema de fijación automático mantuvo la fijación en la retina. Solo las imágenes bien centradas y con una intensidad de señal mayor a 20 dB fueron incluidas en el análisis.

Para la obtención de los grosores de las capas internas de la retina se utilizó el software

de segmentación del Spectralis OCT (versión 6.0c). Se incluyeron: grosor retiniano (RT), RNFL, CGL e IPL. Todas las imágenes de OCT fueron obtenidas por el mismo investigador experimentado y no se realizaron ajustes en la segmentación automática de las imágenes.

**Imagen 1.** Sectores maculares del OCT-Spectralis



### 3.1.3 Análisis Estadístico

Solo se seleccionó un ojo por paciente de manera aleatoria. Los resultados del análisis descriptivo se presentan como: media, rango, desviación estándar, percentil 1, 5 y 95. La correlación entre las diferentes medidas se realizó utilizando los coeficientes de correlación de Pearson. Se realizó un análisis multivariante para analizar los efectos de la edad, sexo y longitud axial. Una  $p < 0,05$  se consideró estadísticamente significativa. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el programa SPSS versión 15 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## 3.2 ESTUDIO II

### 3.2.1 Sujetos

Se llevó a cabo un estudio multicéntrico, observacional y transversal en el que se analizaron un total de 148 ojos de pacientes con glaucoma incipiente-moderado y controles. Todos los pacientes incluidos en este estudio firmaron un consentimiento informado tras escuchar una explicación detallada acerca de las pruebas realizadas y del propósito del mismo. Se siguieron los principios de la Declaration of Helsinki and was approved by the comité de ética del Hospital Clínico San Carlos (HCSC) de Madrid.

A todos los pacientes se les realizó una exploración oftalmológica completa, incluyendo una revisión de la historia clínica, biomicroscopía, medida de la presión intraocular y fondo de ojo. Para cada paciente y cada control solo se seleccionó un ojo de manera aleatoria, cuando los dos ojos cumplían los criterios de inclusión.

El grupo control estaba constituido por un total de 74 pacientes sanos procedentes de los Hospitales UZ Leuven y Miguel Servet. Cada ojo sano incluido en el estudio tenía una agudeza visual mayor de 0,5, una esfera entre +/- 5 dioptrías y un cilindro entre +/- 5 dioptrías. Aquellos pacientes que habían sido intervenidos de cirugía intraocular recientemente (menos de un año), con patología macular e antecedentes de presión intraocular mayor de 21 mmHg, glaucoma, patología neurológica o retiniana fueron excluidos del estudio.

En el Grupo de glaucoma se incluyeron un total de 74 pacientes diagnosticados de glaucoma primario de ángulo abierto en los hospitales UZ Leuven y Miguel Servet. El diagnóstico de glaucoma se llevó a cabo por un glaucomatologo experto siguiendo los siguientes criterios de inclusión: presencia de neuropatía óptica glaucomatosa, IOP>21 mmHg y defecto campimétrico glaucomatoso con una MD de entre -3dB y -9dB utilizando Octopus Perimetry (Haag-Streit). Se excluyeron del estudio pacientes con glaucoma secundario.

### 3.2.2 Tomografía de coherencia óptica

Para la obtención de los grosores de las capas internas de la retina se utilizó el software de segmentación del Spectralis OCT (versión 6.0c). Se incluyeron: grosor retiniano, RNFL, CGL e IPL. Todas las imágenes de OCT fueron obtenidas por el mismo investigador experimentado y no se realizaron ajustes en la segmentación automática de las imágenes.

A 48 pacientes del estudio se les realizó, además del OCT macular, un OCT de capa de fibras nerviosas peripapilar utilizando el análisis convencional del OCT-Spectralis. Se recogieron para el análisis posterior los valores de grosor para los sectores temporal inferior, temporal superior, temporal, nasal inferior, nasal superior, nasal y global. Así mismo, se anotó la clasificación de todos los sectores, comparada con la base de datos de normalidad del OCT-Spectralis para la RNFL peripapilar, como normal, borderline y fuera de límites normales.

### 3.2.3 Análisis estadístico

La estadística descriptiva se muestra como media +/- desviación estándar. Los espesores medios de la RNFL macular, CGL, IPL y RNFL peripapilar se compararon entre sujetos controles y pacientes con glaucoma incipiente-moderado utilizando la prueba T de Student para datos independientes.

La capacidad diagnóstica de cada variable para diferenciar entre ojo sanos y ojos con glaucoma se determinó calculando la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa y la Odds Ratio diagnóstica. El punto de corte utilizado fue el obtenido como percentil 5 en la base de datos normalidad para cada grupo de edad.

Con el mismo fin se calcularon las áreas bajo las curvas ROC (AUROC), estas se utilizaron con dos propósitos específicos: evaluar la capacidad diagnóstica de cada variable y comparar la capacidad discriminativa entre los diferentes parámetros maculares y peripapilares. Por último se estudiaron las diferencias entre las AUROC de los parámetros maculares y las AUROC de los parámetros peripapilares utilizando el método de DeLong et al.. Todas las pruebas estadísticas se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS versión 15 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). La significación estadística se estableció con una p menor de 0,05.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 ESTUDIO I

Trescientos voluntarios sanos de origen caucásico fueron examinados. En tres casos las imágenes obtenidas presentaron artefactos en la segmentación macular y fueron excluidas. Doscientos noventa y siete sujetos fueron incluidos finalmente en el estudio (179 mujeres y 118 varones). La media de edad fue de 56,07 +/- 18,72 años (rango 40,50 - 72). La media de la longitud axial fue de 23,44 +/- 1,14 mm (rango 22,61 – 24,16). La media de la queratometría fue de 43,89 +/- 3,04 (rango 42,93 – 44,06). Después de la aleatorización se incluyeron 150 ojos derechos y 147 ojos izquierdos. En la tabla 1 se muestran las características de los sujetos para cada grupo de edad.

**Tabla 1.** Características de los sujetos según su grupo de edad

Grupo Edad	n	Sexo (varón, %)	Longitud axial	Queratometría
			Media (SD)	Media (SD)
18 - 33	56	23 (41%)	23,93 (1,11)	42,75 (1,49)
34 - 50	56	19 (33%)	23,72 (1,22)	44,76 (1,46)
51 - 68	94	38 (40%)	23,28 (1,13)	44,08 (1,58)
69 - 87	91	38 (42%)	23,14 (1,03)	44,45 (1,54)

El volumen medio de la retina fue de 8,58 +/- 0,36 mm<sup>3</sup> (rango 8,36 – 8,81), de la RNFL fue de 0,96 +/- 0,12 mm<sup>3</sup> (rango 0,89-1,01), de la CGL fue de 1,03 +/- 0,12 mm<sup>3</sup> (rango 0,95 – 1,11) y de la IPL fue de 0,88 +/- 0,7 mm<sup>3</sup> (rango 0,84 – 0,93). El volumen fue significativamente mayor (p<0,05) en los hombres que en las mujeres.

El análisis de correlación lineal mostró una correlación positiva ( $r= 0,267$ ) entre el volumen de la RNFL y la longitud axial ( $p < 0,001$ ). La correlación positiva entre el grosor de la RNFL y la longitud axial fue estadísticamente significativa en todos los sectores excepto en los temporales. El mayor efecto de la longitud axial sobre el grosor de la RNFL se obtuvo en el sector nasal externo ( $p < 0.001$ ,  $r^2= 0.12$ ), la ecuación para la línea de regresión lineal fue  $y = 2.552 \times LA - 8.019$ .

El análisis de correlación lineal mostró una correlación negativa entre la edad y el volumen de la retina ( $r= -0,351$ ), entre la edad y el volumen de la GCL ( $r= -0,117$ ) y entre la edad y el volumen de la IPL ( $r= -0,321$ ) ( $p < 0,001$ ,  $p=0,043$  y  $p < 0,001$  respectivamente). En la tabla 2 se presenta los resultados de la correlación lineal entre la edad y el grosor en los diferentes sectores maculares. La edad presentó su máximo efecto sobre el sector temporal externo de la RNFL ( $p < 0.001$ ,  $r^2= 0,163$ ), la ecuación para la línea de regresión lineal fue  $y = 0.038 \times Edad + 17,684$ .

**Tabla 2.** Análisis de correlación lineal entre la edad y el grosor de las capas internas de la retina

	RETINA		RNFL		GCL		IPL	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Central	-0.026	0.661	0.035	0.545	-0.231	<b>&lt;0,001</b>	-0.084	<b>&lt;0,001</b>
Nasal interno	-0.329	<b>&lt;0,001</b>	-0.111	0.057	-0.221	<b>&lt;0,001</b>	-0.397	<b>&lt;0,001</b>
Nasal externo	-0.399	<b>&lt;0,001</b>	-0.152	<b>0.009</b>	-0.043	<b>-0.043</b>	-0.272	<b>&lt;0,001</b>
Superior interno	-0.332	<b>&lt;0,001</b>	-0.035	0.548	-0.121	<b>0.038</b>	-0.367	<b>&lt;0,001</b>
Superior externo	-0.235	<b>0,001</b>	0.058	0.319	-0.058	0.322	-0.262	<b>&lt;0,001</b>
Temporal interno	-0.243	<b>&lt;0,001</b>	0.256	<b>&lt;0,001</b>	-0.242	<b>&lt;0,001</b>	-0.279	<b>&lt;0,001</b>
Temporal externo	-0.217	<b>&lt;0,001</b>	0.403	<b>&lt;0,001</b>	-0.143	<b>0.014</b>	-0.144	<b>0.013</b>
Inferior interno	-0.327	<b>&lt;0,001</b>	-0.125	<b>0.032</b>	-0.139	<b>0.017</b>	-0.382	<b>&lt;0,001</b>
Inferior externo	-0.306	<b>&lt;0,001</b>	-0.051	0.381	-0.037	0.524	-0.216	<b>&lt;0,001</b>

El análisis de regresión multivariable ajustado por edad mostró que el grosor de la retina era significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en los hombres que en las mujeres en todos los sectores excepto en el temporal periférico. El grosor de la GCL fue significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en los hombres en todos los sectores excepto en el sector central. Sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los sectores central, superior externo y temporal interno entre ambos sexos en la RNFL. Solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el sector central, nasal interno, temporal interno y externo en la IPL.

## 4.2 ESTUDIO II

Se analizaron un total de 148 pacientes (74 pacientes con glaucoma incipiente-moderado y 74 controles) de los cuales 100 fueron reclutados en el Hospital UZ Leuven (Bélgica) y 48 pacientes fueron reclutados en el Hospital Miguel Servet (Zaragoza, España). Se incluyeron un total de 67 varones y 81 mujeres. Para el análisis de los datos solo se selecciono un ojo por paciente, se incluyeron 78 ojos derechos y 70 ojos izquierdos.

La media de edad de los pacientes con glaucoma fue de 62,53 +/- 8,80 años y la media de edad de los controles fue de 61,95 +/- 9,58 años, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p=0,7$ ).

El área bajo la curva ROC (AUROC), la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivo y negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa y la odds ratio diagnóstica se representan en la tabla 3. Para calcular la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivo y negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa y la odds ratio diagnóstica se utilizó como punto de corte el percentil 5 obtenido en la base de datos normativa para cada grupo de edad.

**Tabla 3.** Capacidad diagnóstica del los parámetros maculares y peripapilares con la nueva base de datos normativa.

	<b>Parámetro</b>	<b>AUC</b>	<b>Sensibilidad , %</b>	<b>Especificidad , %</b>	<b>LR+</b>	<b>LR-</b>	<b>OR</b>
<b>RNFL mácula n=148</b>	Volumen	0,862	63,5	93,2	9,4	0,39	24,02
	Central	0,638	23	94,6	4,25	0,81	5,22
	Nasal interno	0,598	28,4	89,2	2,63	0,8	3,27
	Nasal externo	0,795	44,6	91,9	5,5	0,6	9,12
	Superior interno	0,695	40,5	94,6	7,5	0,63	11,93
	Superior externo	0,796	43,2	93,2	6,4	0,61	10,51
	Temporal interno	0,408	24,3	74,3	0,95	1,02	0,93
	Temporal externo	0,685	44,6	81,1	2,36	0,68	3,45
	Inferior interno	0,759	41,9	87,8	3,44	0,66	5,21
	Inferior externo	0,880	68,9	89,2	6,38	0,35	18,29
<b>CGL n=148</b>	Volumen	0,889	50	98,6	37	0,51	73
	Central	0,657	24,3	93,2	3,6	0,81	4,44
	Nasal interno	0,761	28,4	94,6	5,25	0,76	6,93
	Nasal externo	0,775	23	98,6	17	0,78	21,77
	Superior interno	0,779	32,4	97,3	12	0,69	17,28
	Superior externo	0,817	37,8	98,6	28	0,63	44,43
	Temporal interno	0,869	67,6	93,2	10	0,35	28,75
	Temporal externo	0,903	71,6	87,5	5,73	0,32	17,67
	Inferior interno	0,830	41,9	95,9	10,33	0,61	17,06
	Inferior externo	0,843	47,3	98,6	35	0,53	65,51
<b>IPL n=148</b>	Volumen	0,844	51,4	94,6	9,5	0,51	18,47
	Central	0,623	14,9	94,6	2,75	0,9	3,06
	Nasal interno	0,761	40,5	97,3	15	0,61	24,55

	Nasal externo	0,734	33,8	95,9	8,33	0,69	12,07
	Superior interno	0,757	39,2	91,9	4,83	0,66	7,3
	Superior externo	0,790	55,4	90,5	5,86	0,49	11,89
	Temporal interno	0,848	52,7	97,3	19,5	0,49	40,11
	Temporal externo	0,856	25,7	97,3	9,5	0,76	12,44
	Inferior interno	0,801	54,1	95,9	13,33	0,48	27,84
	Inferior externo	0,816	54,1	90,5	5,71	0,51	11,26
<b>RNFL peripapilar n=48</b>	Global	0,845	70,8	95,7	17	0,3	55,86
	Temporal	0,731	66,7	95,8	16	0,35	46
	Temporal superior	0,853	62,5	95,8	15	0,39	38,33
	Temporal inferior	0,856	70,8	87,5	5,67	0,33	17
	Nasal	0,806	41,7	95,8	10	0,61	16,43
	Nasal superior	0,755	50	91,7	6	0,55	11
	Nasal inferior	0,810	33,3	100	0	0,67	0

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar las AUROC de los dos mejores parámetros de cada una de las capas internas de la retina con el AUROC del grosor de la RNFL global. Los resultados de este análisis se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4.** Comparación entre AUROC de los mejores parámetros discriminativos.

Comparación entre		Diferencia entre AUC	p
RNFL peripapilar Global	RNFL macular superior externo	0,0842	0,258
	Volumen RNFL	0,0399	0,580
	CGL Temporal externo	0,0747	0,287
	Volumen CGL	0,0304	0,656
	IPL temporal interno	0,0920	0,266
	IPL temporal externo	0,0208	0,777

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1 ESTUDIO I

Las bases de datos de normalidad para pruebas estructurales en el glaucoma nos permiten establecer los valores de referencia con los que comparar a los pacientes con glaucoma o sospechosos de glaucoma. Los sujetos sanos que se incluyen en las bases de normalidad deben ser elegidos cuidadosamente, para la selección de los pacientes se recomienda seguir las normas establecidas por Realini et al[6]. La población elegida debe ser representativa de la población en la que se usará la prueba con fines diagnósticos; el número de sujetos debe ser lo suficientemente grande para caracterizar a la población de referencia; deben tenerse en cuenta que algunas variables como la edad, la longitud axial y la raza pueden afectar a los parámetros y por último, el test debe tener buena reproducibilidad intraobservador e inteobservador.

En este estudio, la media del sector central fue de 278,2 +/- 21,12  $\mu$ m, valores similares a los reportados previamente en la literatura en pacientes caucásicos con el OCT

Spectralis,  $270,2 \pm 22,5 \mu\text{m}$ [9]. La correlación negativa entre la edad y el grosor macular es congruente con lo reportado en previos estudios como los de Kanai et al. [10], Manassalorn et al.[11] y Appukuttan et al.[12]; estos estudios mostraron una correlación negativa con la edad en todos los sectores del ETDRS excepto en el sector central. Esto contrasta con otros estudios en los que no encontraron diferencias estadísticamente significativas con la edad, como el de Grover et al.[9] pudiendo deberse a que el número de sujetos era significativamente menor ( $n=50$ ) que en nuestro estudio.

Los resultados de este estudio sugieren que existe una disminución de grosor de la CGL e IPL con la edad. Esta disminución es mayor en los sectores internos que en los externos. Estos resultados son similares a los obtenidos en estudios previos de OCT[12], [13]. Se encontró una correlación positiva entre la edad y el grosor de la RNFL en los sectores temporales. Estudios previos han obtenido resultados similares a estos; Demirkaya et. al. obtuvieron una  $r = 0,216$  ( $p = 0,019$ ) para los sectores internos de la RNFL[13]. Teniendo en cuenta que los sectores temporales son los más delgados en la distribución normal del grosor de la RNFL, los autores sugieren que el aumento del grosor de la RNFL con la edad obtenido en este estudio puede ser debido al aumento del grosor de la membrana limitante interna que se produce con el envejecimiento[14].

Los resultados de nuestro estudio mostraron que el grosor retiniano era significativamente mayor en los hombres que en las mujeres. Estos datos son congruentes con estudios previos como los de Appukuttan et. al.[12] y el de Massin et. al.[15] en los que se encontró que la media del grosor retiniano era significativamente

mayor en los hombres que en las mujeres.

Los valores de grosor retiniano fueron menores en la fóvea y mas altos en el área parafoveal (sectores internos) lo cual es consistente con la anatomía retiniana normal y con los datos reportados previamente en la literatura[12], [16].

En nuestro estudio sólo se incluyeron pacientes caucásicos por lo que la raza no se tuvo en cuenta para el análisis. Estudios previos han demostrado que existen diferencias estadísticamente significativas cuando se compara pacientes caucásicos con pacientes de raza negra[9], [17]. Estas diferencias podrían deberse a que el aumento de pigmento en la porción apical de las células del epitelio pigmentario de la retina podría atenuar la incidencia de la radiación óptica dando lugar a valores más bajos de grosor retiniano en pacientes de raza negra[18].

En los resultados de nuestro estudio se encontró una correlación positiva entre el volumen de la RNFL la longitud axial. Este dato ya había sido reportado previamente en la literatura, en el estudio de Akashi et al.[19] se encontró que la media del grosor de la RNFL en el área macular era más gruesa en los ojos miopes que en los no miopes usando el OCT Cirrus.

El daño glaucomatoso en la mácula es común, puede ocurrir en estadios iniciales de la enfermedad y puede ser infradiagnosticado con las estrategias de campimetría usadas en la práctica clínica habitual como la estrategia 24-2[7]. Estudios previos han demostrado que el grosor del complejo células ganglionares-plexiforme interna es mejor parámetro

para detectar glaucoma que la RNFL peripapilar en pacientes con afectación central del campo visual[8]. Al comparar la RNFL en el área peripapilar con la RNFL en el área macular así como la GCL y la IPL estas últimas tienen una variabilidad interindividual mucho menor[20].

Las medidas del grosor de las capas internas de la retina podrían ser útiles no solo para el diagnóstico precoz del glaucoma sino también como herramienta para medir el efecto neuroprotector de los diferentes agentes terapéuticos[21]. Puesto que el campo visual central es el que mejor se conserva en el glaucoma avanzado, el grosor de la CGL en el área macular podría ser un parámetro para medir la severidad del glaucoma terminal cuando la RNFL peripapilar ya no resulta útil por el efecto suelo[22].

El grosor de las capas internas de la retina es un parámetro mejor para detectar el daño glaucomatoso en la mácula[8], mientras que la RNFL peripapilar es mejor detectando el daño que se produce fuera de la mácula por lo que es necesario continuar desarrollando nuevos métodos de imagen para combinarlos[7].

Este estudio trata de establecer los valores de normalidad en el área macular del grosor de las capas internas de de la retina, pero hacen falta nuevos estudios en sujetos sanos y en pacientes con glaucoma para establecer capacidad diagnóstica de estos valores medidos mediante Spectralis OCT.

Algunas de las limitaciones de nuestro estudio son que solo se incluyeron pacientes caucásicos por lo que nuestros resultados no podrían generalizarse a otras razas. En

nuestra muestra existe una mayor proporción de mujeres que de hombres y una mayor proporción de sujetos mayores de 51 años lo cual puede haber afectado al resultado final. Al tratarse de un estudio transversal, no se siguió a los pacientes durante los meses posteriores a su inclusión al estudio por lo que es posible que alguno de los pacientes haya desarrollado glaucoma o hipertensión ocular en los meses siguientes.

## 5.2 ESTUDIO II

En los resultados de nuestro estudio se encontró una disminución del grosor con diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de los sectores de cada una de las capas internas de la retina en el área macular (mRNFL, GCL e IPL) en los pacientes con glaucoma con respecto a los pacientes control.

En la mRNFL el sector temporal interno el grupo de pacientes con glaucoma obtuvo valores más altos que el grupo control, siendo la diferencia entre ambos grupos de 0,59  $\mu\text{m}$  que, a pesar de ser estadísticamente significativa ( $p=0,03$ ), no es clínicamente relevante. La mayor reducción del grosor se encontró en el sector inferior externo con una diferencia de medias de 13,99  $\mu\text{m}$ . Estudios previos como el de Hood et. al. también obtuvieron la mayor reducción del grosor en la capa de fibras nerviosas de la retina las regiones arcuatas, siendo mayor el adelgazamiento en la zona inferior externa. [7].

En la GCL la menor reducción se encontró en el sector central. La mayor reducción del grosor se encontró en el sector temporal interno con una diferencia de medias entre

controles y pacientes con glaucoma de 12,69  $\mu\text{m}$ , en el sector temporal externo con una diferencia de medias de 9,84  $\mu\text{m}$ , y en el sector inferior interno con una diferencia de medias de 10,91  $\mu\text{m}$ . En la IPL la menor reducción de grosor se encontró también en el sector central. La mayor reducción de grosor se encontró en el sector temporal interno, con una diferencia de medias entre controles y pacientes con glaucoma de 7,58  $\mu\text{m}$ .

Estos resultados son congruentes con los reportados previamente en la literatura, el estudio de Hood et al[7], encontró un mayor adelgazamiento del complejo CGL-IPL en los sectores temporales del área macular. Tan et al[23], analizaron el grosor del complejo de células ganglionares en pacientes con glaucoma preperimétrico y controles, e igual que en los resultados de nuestro estudio, los sectores que sufrieron una mayor reducción del grosor fueron los sectores temporales. De la misma manera un estudio reciente demuestra que tanto la GCL como la IPL medidas de manera individual con OCT-Spectralis disminuyen al comparar sujetos sanos y sujetos con glaucoma[24].

En el caso de la cpRNFL, al igual que ocurrió en las capas internas de la retina se encontró una reducción estadísticamente significativa en el grosor de todos los parámetros estudiados al comparar el grupo control con el grupo de pacientes con glaucoma. La mayor reducción del grosor se encontró en el sector temporal inferior con una diferencia de medias entre controles y pacientes con glaucoma de 47,5  $\mu\text{m}$ .

En cuanto a la capacidad diagnóstica del grosor de las capas internas de la retina, en la mRNFL el parámetro que presentó mejor AUROC fue el sector inferior externo (AUROC=0,880). El sector nasal interno y el sector temporal interno obtuvieron el peor

resultado con un AUC cercano a 0,5 por lo que podemos considerar que ese sector apenas tiene capacidad para discriminar entre pacientes sanos y pacientes con glaucoma. Un estudio previo que comparó los pacientes sospechosos de glaucoma y controles encontró que el mejor AUC para la mRNFL era el sector temporal interno (AUC=0,742) y el sector temporal externo (AUC=0,660) [25], estos resultados coinciden con los resultados de nuestro estudio y están en consonancia con los estudios histológicos que indican que la muerte del cuerpo de las células ganglionares se produce tras la degeneración de los axones[1].

En la GCL el parámetro que presentó mejor AUROC fue el sector temporal externo (AUROC=0,930) y todos los sectores excepto el sector central presentaron un AUROC por encima de 0,7. En la IPL el parámetro con una mayor AUROC fue el sector temporal externo (AUROC=0,856) y al igual que ocurría en la GCL todos los sectores excepto el sector central presentaron un AUROC mayor de 0,7. Estos resultados son muy similares a los obtenidos en el estudio de Chien JL. Et al.[24], en el que al igual que en nuestro resultados se obtuvieron las mejores AUC en el sector temporal externo tanto de la GCL como de la IPL (0,942 y 0,890 respectivamente). El AUROC obtenido por Chien et al., es ligeramente superior al obtenido en nuestros resultados. Esta pequeña diferencia podría deberse a que los pacientes con glaucoma del estudio de Chien et al., presentan un defecto medio en el campo visual mayor que nuestros pacientes con glaucoma (MD= -7,40 +/- 6,91Db vs -5,01 +/- 2,06 dB). Esta diferencia es importante ya que la capacidad diagnóstica de un test es mejor cuanto mayor sea la severidad de los pacientes con glaucoma incluidos en el estudio.

Estos resultados también son congruentes con los reportados recientemente por Lee KM et. al[26] , en este estudio midiendo conjuntamente la IPL y la GCL con OCT-Spectralis se encontraron las mayores AUC en los sectores temporal externo e inferior externo.

Los mejores valores de sensibilidad y especificidad, calculados a partir de la clasificación de los pacientes en la base de datos de normalidad, se obtuvieron para el volumen en el caso de la RNFL (S=63,5%; E=93,2%), para el sector temporal interno en el caso de la GCL (S=67,5%; E=93,2%), en la IPL los mejores valores se obtuvieron para el sector inferior interno (S=54,1%; E=95,9%). Estos resultados son similares a los obtenidos en en análisis de la RNFL peripapilar en el que el mejor parámetro es el sector global con una sensibilidad de 70,8% y una especificidad de 95,7%.

La sensibilidad y la especificidad obtenidas a partir de la nueva base de datos para el análisis de los diferentes sectores maculares de nuestro estudio es similar a la reportada por los estudios previos. En la revisión de la biblioteca Cochrane en la que se analizaron la sensibilidad y especificidad de 35 estudios realizados con el OCT 3D-Topcon, el OCT RTVue y el OCT HD-Cirrus [27]. Esta revisión sistemática de la literatura concluye que la sensibilidad y la especificidad de los parámetros del CCG y GCL-IPL se encuentran en el mismo rango que las observadas para el análisis de la cpRNFL

En los resultados de nuestro estudio, a excepción de los sectores nasales de la IPL, los sectores externos presentan una mejor capacidad diagnóstica que los sectores internos en el área macular. Esto es debido que la mayor susceptibilidad al daño glaucomatoso se encuentra en las fibras arcuatas inferiores seguidas de las fibras arcuatas superiores,

fibras que recorren el área externa de los sectores del ETDRS. Mientras que el haz papilomacular, que contiene las fibras de los sectores centrales del ETDRS se respeta hasta estadios de glaucoma avanzado. La mayor vulnerabilidad de las fibras arcuatas inferiores se debe a que estas se introducen en el nervio óptico a través del cuadrante inferior de la papila, que es el primero en afectarse en la neuropatía óptica glaucomatosa. Mientras que las fibras arcuatas superiores se introducen al nervio óptico por la zona temporal, que es la que se mantiene respetada hasta estadios avanzados de glaucoma[7].

En nuestros resultados no se encontraron diferencias estadísticamente significativa entre las AUROC de los mejores parámetros macular y el AUROC global de cpRNFL. Estos resultados siguen la misma línea propuesta por la biblioteca Cochrane[27], que sugiere que no existen diferencias en la capacidad diagnóstica del grosor de las capas internas de la retina y los parámetros de la cabeza del nervio óptico o la capa de fibras nerviosas peripapilares. Sin embargo, es importante destacar que la revisión de Cochrane no incluye ningún trabajo realizado con OCT-Spectralis. Existe un estudio previo de Martínez de la Casa et. al[25] que encontró diferencias estadísticamente significativas al comparar las AUC de la RNFL macular en el sector temporal externo y el mejor parámetro de la RNFL peripapilar, el sector temporal (Diferencia entre las AUC=0,147,  $p=0,042$ ). Una revisión más reciente[28] que compara la capacidad diagnóstica de los parámetros maculares del OCT RTVue, el 3D Topocon y Cirrus con el análisis peripapilar obtenida en 34 estudios ( $n=2164$ ), concluye que utilizando esos OCT la medida de la RNFL peripapilar es, hoy en día, mejor que las medidas del área macular para detectar glaucoma, aunque las diferencias encontradas son pequeñas.

Con los resultados de nuestro estudio podemos afirmar que no existen diferencias estadísticamente significativas en la capacidad diagnóstica de la cpRNFL y el grosor de las capas internas de la retina medidas de manera individual.

En cuanto a las limitaciones de nuestro estudio, la clasificación de los pacientes como casos y controles puede sobrestimar la capacidad diagnóstica de los test utilizados. Se tuvo en cuenta el grupo de edad de los sujetos a la hora de establecer el punto de corte, si bien es cierto que, no se tuvo en cuenta el sexo pero puesto que existen estudios que demuestran diferencias significativas entre hombres y mujeres en la mayoría de los cuadrantes[12], [15], [29], esto podría haber llevado a una clasificación incorrecta de los sujetos como normales, borderline o fuera de límites normales. Solo se incluyeron pacientes caucásicos por lo que los resultados podrían no ser los mismos en pacientes de otras razas[9], [17], [18]. Al tratarse de un estudio transversal, no se siguió a los pacientes ni a los controles durante un periodo de tiempo, por lo que alguno de los controles podría haber desarrollado glaucoma en los meses posteriores a su inclusión en el estudio. Por último el tamaño muestral de la comparación de la capacidad diagnóstica entre el grosor de las capas internas de la retina y el grosor de la capa de fibras peripapilar no es muy grande (n=48) lo que puede haber ocasionado que no se hayan detectado diferencias si estas son pequeñas.

## **6. CONCLUSIONES**

1. En el estudio I se establece una nueva base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina medido de manera individual con el OCT-Spectralis en una población sana y caucásica.
2. En el estudio II se establece la capacidad diagnóstica de la base de datos normalidad en pacientes con glaucoma incipiente-moderado.
3. No existen diferencias estadísticamente significativas entre la capacidad diagnóstica de los mejores parámetros maculares de las capas internas de la retina y la capa de fibras nerviosas en el área peripapilar.



# ABSTRACT



## ABSTRACT

### 1. INTRODUCTION

Glaucoma is one of the most frequent causes of irreversible blindness in developed countries. Its pathogenesis is characterized by a progressive loss of retinal ganglion cells which translates into a progressive loss of the visual field, and in advanced stages can lead to blindness [1]. Given the irreversible character of the illness, detecting the glaucomatous changes in a reliable way as soon as possible is very important.

The arrival of the Optical Coherence Tomography (OCT) has made a big change on the management and diagnosis of retinal pathologies and glaucoma. The OCT is a non-invasive transpupilar imaging method that performs cross-sectional images of the retinal tissue with a proved good correlation with the retinal histology [2]. With the spectral domain OCTs is possible to acquire images quicker and higher in quality than with time domain OCTs. The latest version of the Spectralis SD-OCT software (Heidelberg Engineering) allows the automatic segmentation of the retinal layers individually, and this analysis has been proven recently to have an excellent repeatability and reproducibility in healthy subjects [5].

There are other devices used to diagnose and follow up glaucoma patients such us confocal laser scanners (HRT). Comparisons made within OCT an HRT in the recent Cochrane review[27] showed the following results: for HRT measures, the Vertical Cup/Disc (C/D) ratio (sensitivity: 0.72, 0.60 to 0.68; specificity: 0.94, 0.92 to 0.95) was

no different from other parameters. With OCT, the accuracy of average RNFL retinal thickness was similar to the inferior sector (sensitivity: 0.72, 0.65 to 0.77; specificity: 0.93, 0.92 to 0.95) and, to the vertical C/D ratio.

To optimize the diagnostic tests results, they are generally compared with normative databases performed with subjects not presenting the disease [6]. Currently, a normative database for inner retinal layers thickness in the macular area for Spectralis SD-OCT does not exist, to the authors knowledge.

The glaucomatous damage in the macula is common. It can occur during the early stages of the disease and it may be under-diagnosed in routine clinical practice using campimetry strategies as the 24-2 strategy. Just 4 of the diagnostic spots evaluated in this campimetry strategy are in the macular area, being this area the one with the greatest density of ganglion cells[7]. Previous studies have shown that the thickness of the ganglion cells-inner plexiform complex is a better parameter for detecting glaucoma than the peripapillary RNFL in patients with central visual field loss[8].

## **2. OBJETIVES**

The purpose of this PhD project was to develop the normality database of the inner retinal layers thickness in healthy Caucasian populations using Spectralis-OCT.

### **3. SUBJECTS AND METHODS**

#### **3.1 STUDY I**

This study was an observational, cross-sectional analysis of 300 eyes of 300 normal subjects of Spanish origin. The study was approved by the Institutional Review Board of the Hospital Clínico San Carlos (Madrid, Spain) and it followed the guidelines from the Helsinki declaration.

##### **3.1.1 Participants:**

This study included 300 healthy Caucasian volunteers who did not have any eye symptoms, all participants were > 18 years old. All subjects signed an informed consent after hearing a detailed explanation about the tests that were going to be conducted on the study and its purpose. A full ophthalmic examination was performed, including an evaluation of the medical record, biomicroscopy, measurement of the intraocular pressure (IOP), eye fundus test, refraction and axial length. For each patient, one eye was randomly selected for the final analysis. Patient selection was made following the recommendations of Realini et al. [6]

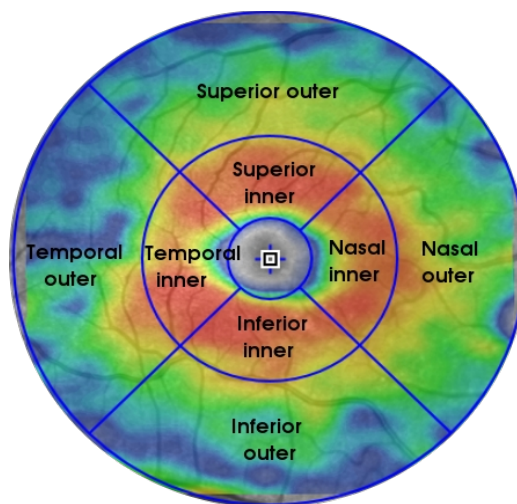
##### **3.1.2 Optical Coherence Tomography**

SD-OCT macular examination was performed the same day without pupil dilation in a dark room using Spectralis OCT (Heidelberg Engineering). This scan was performed on a 20x20 degree cube with 49 Raster lines separated by 120 $\mu$ , each containing 1046

pixels. The automatic eye tracking technology maintains fixation on the retina. Only well centered images with a signal strength of >20db were used for analysis.

The new Spectralis segmentation software (version 6.0c) was used to obtain individual retinal layer thickness measurement including: retinal thickness (RT), retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell layer (GCL) and inner plexiform layer (IPL). All scans were performed by the same experienced operator and no manual adjustments to retinal layer segmentation were made.

**Image 1.** Macular areas defined by OCT-Spectralis



### 3.1.3 Statistical Analysis

One eye of each subject was selected randomly. Descriptive statistics were reported as mean, range and standard deviation, as well as the 1st, 5th and 95th percentiles. Normality of the data was assessed with Kolmogorov-Smirnov (K-S) test. Normal macular thickness values were compared among the quadrants using the paired t-test. All p values were adjusted by the Bonferroni factor. Correlation between different measurements was done using the Pearson correlation coefficients. Multivariate regression analysis were used to analyze the effects of age, gender and axial length,  $p < 0,05$  was considered significant. All statistical analysis were performed using the SPSS package version 15 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

## 3.2 STUDY II

### 3.2.1 Subjects

A multi-center, observational and cross-sectional study was performed, where a total of 48 eyes of patients with incipient to moderate glaucoma and controls were analyzed. All the patients included in this study signed an informed consent after listening to a detailed explanation about the tests performed and the purpose of them. The Declaration of Helsinki principles were followed and were approved by the institutional review board of the Hospital Clínico San Carlos (HCSC) from Madrid, Spain.

All the patients were performed a full ophthalmic examination, including an evaluation

of the medical record, biomicroscopy, measurement of the intraocular pressure (IOP), eye fundus test, refraction and axial length. For each patient and control, one eye was randomly selected for the final analysis, when both eyes met the inclusion criteria.

The group was composed by a total of 74 healthy patients from UZ Leuven and Miguel Servet Hospitals. Every healthy eye included in the study had a visual acuity equal or greater than 20/40, a sphere between +/-5 diopters and a cylinder between +/-3 diopters. Patients with recent eye surgery (<1 year) were excluded, as well as the patients with macular abnormalities or personal medical history of IOP >21 mmHg, glaucoma, neurological or retinal diseases.

In the glaucoma group a total of 74 patients diagnosed with primary open-angle glaucoma in the UZ Leuven y Miguel Servet Hospitals were included. The glaucoma diagnosis was performed by a glaucoma expert, following the next inclusion criteria: glaucomatous optic neuropathy, IOP>21 mmHg and glaucomatous campimetry defect with a MD between -3dB and -9dB using Octopus Perimetry (Haag-Streit). Patients with secondary glaucoma were excluded from the study.

### 3.2.2 Optical Coherence Tomography

The macular examination was performed in all participants using the same protocol as Study I.

The cpRNFL thickness measurements were performed in 48 participants (24 glaucoma

patients and 24 controls) by using circular scans with a scanning angle of 12 degrees which, assumes a standard corneal curvature of 7.7mm thus projecting a circle of 3.5mm in diameter on the retina. The Spectralis model device software divides this circle into 6 regions that include: temporal, superotemporal, superonasal, nasal, inferonasal, inferotemporal, and global thickness provided as a number in the center.

### 3.2.3 Statistical analysis

The descriptive statistic is shown as average +/- standard deviation. The average macular RNFL thickness, CGL, IPL and peripapillary RNFL were compared between control subjects and incipient to moderate glaucoma patients using Student's t-test for independent samples.

The diagnostic ability of each variable to differentiate between healthy eyes and glaucoma eyes was determined calculating the sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, positive and negative likelihood ratio and diagnostic Odds Ratio. The used cut-off point was the one obtained as the 5th percentile in the normality database for each age group.

For the same purpose, the areas under the ROC curves (AUROC) were calculated, these were used with two specific purposes: evaluating the diagnostic ability for each variable and comparing the discrimination capacity between the macular and peripapillary parameters. Finally, the differences between the macular parameters AUROC and the

peripapillary parameters AUROC were studied using the DeLong et al. method. All the statistical tests were performed using the statistical package SPSS 15 edition (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). The statistical significance was established with a p under 0.05.

## 4. RESULTS

### 4.1 STUDY I

Three hundred Caucasian subjects were examined. Three cases had artifacts in macular segmentation and had to be excluded. Two hundred ninety-seven subjects were included in this study (179 women and 118 men). The mean age was 56.07 +/- 18.72 years old (range: 40.50 – 72). The mean axial length was 23.44 +/- 1.14 mm (range: 22.61 – 24.16) The mean keratometry was 43.89 +/- 3.04 (range: 42.93 – 44.06). After the randomization, 150 right eyes and 147 left eyes were included. On Table 1 the characteristics of the subjects for each age group are shown.

**Table 1.** Characteristics of the subjects by age group

Age group	No. Subjects	Sex (males, %)	Axial Length	Keratometry
			Mean (SD)	Mean (SD)
18 - 33	56	23 (41%)	23.93 (1.11)	42.75 (1.49)
34 - 50	56	19 (33%)	23.72 (1.22)	44.76 (1.46)
51 - 68	94	38 (40%)	23.28 (1.13)	44.08 (1.58)
69 - 87	91	38 (42%)	23.14 (1.03)	44.45 (1.54)

The mean retinal volume was 8.58 +/- 0.36 mm<sup>3</sup> (range: 8.36 – 8.81), the mean RNFL volume was 0.96 +/- 0.12 mm<sup>3</sup> (0.89 – 1.01 range), the mean ganglion cell layer volume

was  $1.03 \pm 0.12 \text{ mm}^3$  (range: 0.95 – 1.11) and the mean inner plexiform volume was  $0.88 \pm 0.7 \text{ mm}^3$  (range: 0.84 – 0.93). The retina, GCL and IPL volume were significantly higher in male subjects in comparison to female subjects ( $p < 0.001$ ,  $p = 0.002$  and  $p = 0.025$  respectively).

The linear correlation analysis showed a positive correlation ( $r = 0.267$ ) between the RNFL volume and the axial length ( $p < 0.001$ ). The axial length had a significant effect on the RNFL thickness in every sector except for outer and inner temporal sectors. It had the greatest effect on the nasal outer sector ( $p < 0.001$ ,  $r^2 = 0.12$ ), the equation for the regression line was  $y = 2.552 \times \text{AL} - 8.019$ .

The linear correlation analysis showed a negative correlation between age and retinal volume ( $r = -0.351$ ), between age and ganglion cells layers volume ( $r = -0.117$ ), and age and inner plexiform layer volume ( $r = -0.321$ ) ( $p < 0.001$ ,  $p = 0.043$  and  $p < 0.001$  respectively). In table 2 the results of the linear correlation analysis between macular thickness and age are shown. Age had the greatest effect on the RNFL temporal outer sector ( $p < 0.001$ ,  $r^2 = 0.163$ ), the equation for the regression line was  $y = 0.038 \times \text{Age} + 17,684$ .

**Table 2.** Linear correlation analysis between macular thickness and age

	RETINA		RNFL		GCL		IPL	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Central	-0.026	0.661	0.035	0.545	-0.231	<b>&lt;0,001</b>	-0.084	<b>&lt;0,001</b>
Nasal inner	-0.329	<b>&lt;0,001</b>	-0.111	0.057	-0.221	<b>&lt;0,001</b>	-0.397	<b>&lt;0,001</b>
Nasal outer	-0.399	<b>&lt;0,001</b>	-0.152	<b>0.009</b>	-0.043	<b>-0.043</b>	-0.272	<b>&lt;0,001</b>
Superior inner	-0.332	<b>&lt;0,001</b>	-0.035	0.548	-0.121	<b>0.038</b>	-0.367	<b>&lt;0,001</b>
Superior outer	-0.235	<b>0,001</b>	0.058	0.319	-0.058	0.322	-0.262	<b>&lt;0,001</b>
Temporal inner	-0.243	<b>&lt;0,001</b>	0.256	<b>&lt;0,001</b>	-0.242	<b>&lt;0,001</b>	-0.279	<b>&lt;0,001</b>
Temporal outer	-0.217	<b>&lt;0,001</b>	0.403	<b>&lt;0,001</b>	-0.143	<b>0.014</b>	-0.144	<b>0.013</b>
Inferior inner	-0.327	<b>&lt;0,001</b>	-0.125	<b>0.032</b>	-0.139	<b>0.017</b>	-0.382	<b>&lt;0,001</b>
Inferior outer	-0.306	<b>&lt;0,001</b>	-0.051	0.381	-0.037	0.524	-0.216	<b>&lt;0,001</b>

The multivariate regression analysis adjusted by age showed that the retinal thickness was significantly higher ( $p<0.05$ ) in men than in women, in every sector except for the temporary outer temporal sector. The GCL thickness was significantly higher ( $p<0.05$ ) in men in every sector except for the central sector. Statistically significant differences were found between both sexes only in the central, superior outer and temporal inner in the RNFL. Statistically significant differences were found only in the central, nasal inner, temporal outer and temporal inner sectors in the IPL.

## 4.2 STUDY II

The study participants (67 men, 81 women, all Caucasian) were recruited from the UZ Leuven Hospital (n=100) and Hospital Miguel Servet, Zaragoza (n=48). In these subjects, data for analysis were obtained for 78 right eyes and 70 left eyes. Glaucoma patients and control subjects were of similar mean age, 62.53 +/- 8.80 years and 61.95 +/- 9.58 years respectively (p=0.7).

Mean thickness data for mRNFL, GCL, IPL (n=148) and cpRNFL (n=48) are provided in Table 1. When retinal layer thicknesses were compared between patients and controls, the major differences detected expressed as mean thickness reductions in glaucoma patients versus controls were: mRNFL, inner temporal quadrant 0.59  $\mu\text{m}$  and outer inferior quadrant 13.99  $\mu\text{m}$ ; GCL, inner temporal quadrant 12.69  $\mu\text{m}$ , outer temporal quadrant 9.84  $\mu\text{m}$ , and inner inferior quadrant 10.91  $\mu\text{m}$ ; IPL, inner temporal quadrant 7.58  $\mu\text{m}$ . For cpRNFL, the greatest mean thickness reduction of 47.5  $\mu\text{m}$  was observed in the inferior temporal quadrant.

The AUROC, sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, positive and negative likelihood ratios and the diagnostic odds ratios calculated for each variable are shown in Table 3. To calculate all these indicators except AUROC, we used the 5th percentile obtained in the normative database.

According to the cutoffs defined, the variables showing the best sensitivity (S) and specificity (Sp) to distinguish between glaucomatous and normal eyes were mRNFL

volume (S=63.5%; Sp=93.2%), inner temporal GCL thickness (S=67.5%; Sp=93.2%), inner inferior IPL thickness (S=54.1%; Sp=95.9%), and overall cpRNFL thickness (S=70.8%; Sp=95.7%).

According to the AUROC recorded for each layer examined, the outer inferior mRNFL zone (AUROC=0.880) showed the best diagnostic capacity, while worse results were obtained for the inner nasal and inner temporal mRNFL quadrants with AUROC close to 0.5. For the GCL, the best AUROC was obtained for the outer temporal quadrant (0.930) and all remaining zones except the central one showed AUROC over 0.7. For the IPL, the best AUROC was that recorded for the outer temporal quadrant (0.856) though again every subfield but the central one returned an AUROC greater than 0.7.

**Table 3.** Diagnostic ability of inner macular layer and peripapillar analysis with the new normative database.

	Parameter	AUC	Sensitivity, %	Specificity, %	LR+	LR-	OR
<b>Macular RNFL n=148</b>	Volume	0.862	63.5	93.2	9.4	0.39	24.02
	Central	0.638	23	94.6	4.25	0.81	5.22
	Inner nasal	0.598	28.4	89.2	2.63	0.8	3.27
	Outer nasal	0.795	44.6	91.9	5.5	0.6	9.12
	Inner superior	0.695	40.5	94.6	7.5	0.63	11.93
	Outer superior	0.796	43.2	93.2	6.4	0.61	10.51
	Inner temporal	0.408	24.3	74.3	0.95	1.02	0.93
	Outer temporal	0.685	44.6	81.1	2.36	0.68	3.45
	Inner inferior	0.759	41.9	87.8	3.44	0.66	5.21
	Outer inferior	0.880	68.9	89.2	6.38	0.35	18.29
<b>CGL n=148</b>	Volume	0.889	50	98.6	37	0.51	73
	Central	0.657	24.3	93.2	3.6	0.81	4.44
	Inner nasal	0.761	28.4	94.6	5.25	0.76	6.93
	Outer nasal	0.775	23	98.6	17	0.78	21.77
	Inner superior	0.779	32.4	97.3	12	0.69	17.28
	Outer superior	0.817	37.8	98.6	28	0.63	44.43
	Inner temporal	0.869	67.6	93.2	10	0.35	28.75
	Outer temporal	0.903	71.6	87.5	5.73	0.32	17.67
	Inner inferior	0.830	41.9	95.9	10.33	0.61	17.06
	Outer inferior	0.843	47.3	98.6	35	0.53	65.51
<b>IPL n=148</b>	Volume	0.844	51.4	94.6	9.5	0.51	18.47
	Central	0.623	14.9	94.6	2.75	0.9	3.06
	Inner nasal	0.761	40.5	97.3	15	0.61	24.55
	Outer nasal	0.734	33.8	95.9	8.33	0.69	12.07
	Inner superior	0.757	39.2	91.9	4.83	0.66	7.3
	Outer superior	0.790	55.4	90.5	5.86	0.49	11.89
	Inner temporal	0.848	52.7	97.3	19.5	0.49	40.11

<b>Peripapillary RNFL n=48</b>	Outer temporal	0.856	25.7	97.3	9.5	0.76	12.44
	Inner inferior	0.801	54.1	95.9	13.33	0.48	27.84
	Outer inferior	0.816	54.1	90.5	5.71	0.51	11.26
	Global	0.845	70.8	95.7	17	0.3	55.86
	Temporal	0.731	66.7	95.8	16	0.35	46
	Superior temporal	0.853	62.5	95.8	15	0.39	38.33
	Temporal inferior	0.856	70.8	87.5	5.67	0.33	17
	Nasal	0.806	41.7	95.8	10	0.61	16.43
Superior nasal	0.755	50	91.7	6	0.55	11	
Nasal Inferior	0.810	33.3	100	0	0.67	0	

No significant differences were found between the two best AUROC observed for the macular retinal inner layers and the AUROC recorded for mean overall cpRNFL thickness. The results of this analysis are shown in Table 4.

**Table 4.** Comparison between the AUROC of the best discriminatory parameters.

<b>Comparison between</b>		<b>Difference between the AUC</b>	<b>p</b>
Global peripapillary RNFL	Outer superior macular RNFL	0.0842	0.258
	RNFL Volume	0.0399	0.580
	Outer temporal CGL	0.0747	0.287
	CGL Volume	0.0304	0.656
	Inner temporal IPL	0.0920	0.266
	Outer temporal IPL	0.0208	0.777

## 5. DISCUSSION

### 5.1 STUDY I

Normative databases for structural tests in glaucoma allow us to establish the reference values used to compare the patients with glaucoma or suspected glaucoma. Healthy subjects included on the normality databases should be carefully chosen. For the selection of patients, following the Realini et al. standards is recommended[6]. The population chosen should be representative of the population the test is going to be used for diagnostic purposes; the number of subjects should be sufficiently wide to characterize the reference population; variables such as age, axial length and race should be taking into account since they can affect the parameters; and, finally, the test must have intra reproducibility and between observers.

On this study, the mean of the central sector was  $278.2 \pm 21.12 \mu\text{m}$ , these values are similar to the ones previously reported on the literature in Caucasian patients with the OCT Spectralis.,  $270.2 \pm 22.5 \mu\text{m}$ [17]. The negative correlation between age and macular thickness is consistent with the information previously reported in the Kanai et al.[10], Manassalorn et al.[11] and Appukuttan et al.[12] studies, which showed a negative correlation with age in all the ETDRS sectors except for the central. This contrasts with other studies, where statistically significant differences with age were not found, as the Grover et al.[9] which could be caused by the significantly lower number of subjects ( $n=50$ ) in comparison to our study.

The present study showed a significant decrease in GCL thickness an IPL thickness with

increasing age. This decrease is greater in the inner sectors than in the outer sectors. This results are similar to those reported in other OCT studies.

The results of our study showed that the retinal thickness was significantly higher in men than in women. These data are consistent with the previous studies, such as the Appukuttan et al. [12] and the Massin et al. [15] study, where they found that the mean retinal thickness was significantly higher in men in comparison to women.

The retinal thickness values were lower in the fovea and higher in the parafoveal area (inner circle), which is consistent with the normal retinal anatomy and with the data previously reported on the literature [12], [16].

In our study only Caucasian patients were included, so race was not taken into account for the analysis. Previous studies have showed that statistically significant differences when comparing Caucasian patients to black patients [9], [17]. These differences could be caused by the increase of pigment on the apical portion of the retinal pigment epithelium cells in black patients, which could mitigate the optical radiation incidence triggering lower retinal thickness values in comparison to white patients [18].

On the results of our study a positive correlation between RNFL volume and axial length was found. This information has already been reported on the literature, the Akashi et al. [19] study found that the RNFL mean thickness on the macular area was thicker in myopic eyes than in non myopic using OCT Cirrus.

During the last few years, OCT has been proven to be a non-invasive imaging technique useful for the diagnosis and follow-up of multiple macular pathologies [30]. The quantification of the macular thickness using OCT has been proven to be a repeatable measure that allows macular pathologies monitoring [31]. The latest update of Spectralis SD-OCT Heidelberg eye explorer mapping software (6.0c version) allows the automatic segmentation of the retinal layers individually. The high reproducibility intra and between observers of the new software has been recently proven [5].

Glaucoma is a neurodegenerative disease characterized by a progressive loss of ganglion cells [32]. The increase of apoptosis and the axonal loss of ganglion cells are the earliest manifestations of glaucoma and are directly related with the severity of the disease [21], [33]. Although the macular area only represents 2% of the retina, the macula contains more than 50% of all the retinal ganglion cells and this is expected to be the best location to evaluate the changes of the ganglion cells [34], [35].

The glaucomatous damage of the macula is common, it can occur during the early stages of the disease and it could be infradiagnosed with the campimetry strategies used in the usual clinical practice, such as the strategy 24-2 test [7]. Previous studies have proven that the thickness of the ganglion cells-inner plexiform complex are better as a parameter to detect glaucoma than the peripapillary RNFL in patients with central affection of the visual field [8]. When comparing the RNFL of the peripapillary area with the RNFL of the macular area, as well as the GCL and the IPL, these last ones have a much lower inter-individual variability [20].

The measurements of thickness of the inner retinal layers could be useful not only to the early diagnosis of glaucoma but also as an instrument to measure the neuroprotective effect of the different therapeutic agents [21]. Since the central visual field is better conserved in advanced glaucoma, the CGL thickness in the macular area could be a parameter to measure the severity of the terminal glaucoma when the peripapillary RNFL is no longer useful because of the floor effect [22].

The thickness of the inner retinal layers is better as a parameter to detect the glaucomatous damage in the macula [8], while the peripapillary RNFL is better to detect the damage produced outside the macula, so continuing to develop new imaging methods to combine is necessary [7].

Our study pretends to establish normality values in the macular area of the inner retinal layers thickness, but new studies in healthy subjects and in glaucoma patients to establish the diagnostic capacity of these values measured using OCT Spectralis.

Some of the limitations of our study are that only Caucasian patients were included, so our results will not be able to replicate to other races. In our sample there is a greater proportion of women than men, and a higher proportion of subjects older than 51 years old which could have affected the end result. Since it is a transversal study, patients were not followed during the subsequent months to their inclusion to the study, consequently, it is possible that some of the patients have developed glaucoma or ocular hypertension during the following months.

## 5.2 STUDY II

Recent efforts have been made to develop new imaging techniques that will help detect glaucoma in its early stages. One of these techniques, spectral domain OCT, has served to identify new structural parameters to measure RNFL thickness in the peripapillary area, as well as retinal thickness and retinal inner layer thicknesses in the region of the macula[36].

In our study, significantly reduced thicknesses were observed in glaucoma patients compared to healthy controls in most inner retinal layer zones of the macular area (mRNFL, GCL and IPL).

In the inner temporal zone, rather than thinning, our mRNFL thickness measurements indicated a thickness increase of 0.59  $\mu\text{m}$  for patients versus controls though, despite being statistically significant ( $p=0.03$ ), this difference is not clinically relevant. The most pronounced mRNFL thickness reduction detected was that noted for the outer inferior quadrant (mean reduction 13.99  $\mu\text{m}$ ). Other authors such as Hood et al.[7] have also reported greatest retinal nerve fiber layer thickness reductions in glaucomatous eyes in the arcuate regions, with greatest thinning produced in the outer inferior zone.

Consistent with the present findings, in the study by Hood et al.[7] greater thinning of the CGL-IPL complex was detected in the temporal quadrants of the macula. Also in line with our measurements, Tan et al.[23] noted greatest ganglion cell complex thickness reductions in preperimetric glaucoma patients versus controls in the temporal

quadrants. Similarly, a recent study has shown GCL and IPL thinning when these layers were measured individually by Spectralis OCT in patients with glaucoma compared to healthy individuals.[24]

When comparing the glaucoma diagnostic capacity of the retinal inner layers, the mRNFL measurement that showed the best AUROC was the outer inferior quadrant. Inner nasal and inner temporal mRNFL thicknesses offered the worse diagnostic power indicated by AUROC close to 0.5. Consequently, we can state that this inner region is barely able to discriminate between healthy subjects and glaucoma patients. In a similar study comparing glaucoma suspect patients and controls, best AUROC for mRNFL thickness were obtained for the quadrants inner temporal (AUROC=0.742) and outer temporal (AUROC=0.660).[25] These findings are in agreement with the present results and are also in line with histological observations of the death of the ganglion cell body when the axon degenerates.[1]

Among our GCL thickness measurements, those that showed the best AUROC were the measurements taken in the outer temporal and remaining subfields except the central zone that showed AUROC over 0.7. For IPL thickness, the highest AUROC was obtained for the outer temporal and, again, areas under the curve for every zone but the central were greater than 0.7. These results are similar to those obtained in the study by Chien et al.,[24] in which best AUROC were obtained in the outer temporal quadrant, both for GCL and IPL thickness (0.942 and 0.890 respectively). The best AUROC obtained by Chien et al. is slightly higher than the one obtained in our study. This small difference could be attributed to the glaucoma patients in the Chien et al. study showing

a greater mean visual field defect than our glaucoma patients (MD= -7.40 +/- 6.91Db vs -5.01 +/- 2.06 dB). This difference is important since it could indicate that the diagnostic power of the test improves with glaucoma severity, as occurs with most diagnostic tests.

The GCL and IPL thinning found here in patients with glaucoma is consistent with the thickness reductions recently reported by Lee et al.,[26] who observed greater AUROC for Spectralis-OCT IPL plus GCL thickness in the outer temporal and outer inferior quadrants.

The sensitivity and specificity of the cutoffs defined by the new database of retinal layer thicknesses by macular zone are similar to those reported by others. In the Cochrane library review, the sensitivities and specificities of several GCC and GCL-IPL parameters reported in 35 studies measured with the instruments Topcon 3D OCT, RTVue OCT and Cirrus HD OCT were in the same range as observed for cpRNFL thickness measurements.[27]

In our study, except for measurements in the nasal quadrants, IPL thickness in the outer zones showed a better diagnostic capacity than IPL thickness measurements made in the inner quadrants of the macula. This is attributable to a greater susceptibility to glaucomatous damage of the outer arcuate fibers followed by the superior arcuate fibers, which encompass the outer areas of the ETDRS subfields. In contrast, the papillomacular bundle, which contains fibers from the central ETDRS zones, remains unaffected until advanced stages of glaucoma. This vulnerability of the inferior arcuate fibers can be explained by their introduction in the optic nerve through the inferior

quadrant of the optic disc, which is the first affected structure in this progressive optic neuropathy. In contrast, the superior arcuate fibers insert in the optic nerve through the temporal zone. Thus, this region is unaffected until more advanced stages of glaucoma. [7]

No significant differences were found here between the best AUROC obtained for the macular parameters and the AUROC obtained for overall cpRNFL thickness. This finding is in agreement with the findings of the Cochrane library review, in which no differences emerged among the diagnostic capacities of retinal inner layer thickness, optic nerve head parameters and cpRNFL thickness. However, it should be stressed that no Spectralis SD-OCT measurements were included in the Cochrane review. Martínez de la Casa et al.[25] reported a significant difference when comparing AUROC for macular RNFL thickness measured in the outer temporal quadrant and the cpRNFL variable showing the best diagnostic capacity, temporal cpRNFL thickness (difference between both AUROC=0.147, p=0.042).

In a recent review, the diagnostic capacities of macular and peripapillary measurements made by RTVue, Topcon 3D and Cirrus OCT reported in 34 studies (n=2164 participants) were compared. The conclusion of this review was that using the methods available today, cpRNFL thickness measurements are better than macular thickness measurements to detect glaucoma though the differences detected using these OCT techniques were small.[28]

Our study has several limitations. As it is a case-control study, it could overestimate the

diagnostic capacity of the tests used. Also, the age group of the subjects was taken into account when establishing the cutoff point for glaucoma, whereas sex was not considered. Several studies have shown thickness differences between males and females in the majority of quadrants[12], [15], [29] possibly leading to the incorrect classification of subjects with normal, borderline or abnormal retinal layer thickness measurements. Another limitation of our study was that only Caucasian patients were included, such that results might not be the same for patients of other ethnicities.[9], [17], [18] Further, as it was a cross-sectional study, neither patients nor controls were followed after the Spectralis OCT measurements. Therefore, some control subjects may have developed glaucoma in the months following their inclusion in the study. Finally, the sample size used to compare the diagnostic capacities of retinal inner layer thicknesses and peripapillary retinal nerve fiber layer thickness was small (n=48) so discrete differences could have been undetected.

It's also important to notice that there are multiple possible confounding effects of retinal layer thickness measurements in the general population such as, vitreo-retinal traction, epiretinal membrane, macular edema, drusen, macular atrophy, ect., so it is important that every image is analyzed by a clinician to avoid red-green disease.

In summary, as measured by Spectralis SD-OCT, cpRNFL thickness and individual macular inner layer thicknesses show comparable diagnostic capacity for glaucoma. Notwithstanding, it has been suggested that macular OCT might perform better in patients with central VF defects than in patients with peripheral defects. There is, therefore, a need for further studies on this topic in which the pattern of the visual field

defect is also considered.

## **6. CONCLUSIONS**

1. In study I a new normative database of the thickness of the internal layers of the retina measured individually with OCT-Spectralis in a healthy and Caucasian population is established.

2. Study II established the diagnostic ability of the normative database in patients with incipient-moderate glaucoma.

3. There are no statistically significant differences between the diagnostic ability of the best macular parameters of the macular inner layers thickness and the retinal nerve fibers layer thickness in the peripapillary area.



# **ORGANIZACIÓN GENERAL**





## ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS

Esta tesis doctoral se compone de nueve partes principales: Introducción, justificación e hipótesis, objetivos, material y métodos, resultados, discusión, conclusiones, bibliografía y anexos.

En la introducción se comienza realizando una revisión del estado actual del glaucoma, incluyendo la definición, clasificación, epidemiología, factores de riesgo, fisiopatología y las estrategias de diagnóstico precoz de glaucoma. El siguiente apartado de la introducción trata sobre la anatomía de la mácula, su histología y su vascularización en los pacientes sanos. Para continuar, se explican las bases teóricas de la tomografía de coherencia óptica (OCT) , el funcionamiento y la importancia de los diferentes OCTs que existen en el mercado actualmente, haciendo especial hincapié en el OCT-Spectralis, y por último se explica la correlación entre la histología retiniana y las imágenes obtenidas mediante OCT. El siguiente apartado versa sobre los aspectos que se deben tener en cuenta a la hora de realizar una base de datos normativa para pruebas estructurales del glaucoma. Y por último, para terminar con la introducción, se explica de manera detallada cómo se produce el daño glaucomatoso en la mácula.

La segunda parte de esta tesis doctoral corresponde a la justificación de la necesidad de este trabajo y la hipótesis de la que se parte para realizarlo.

En la tercera parte se exponen brevemente los objetivos del presente trabajo de tesis doctoral, que se pueden resumir en desarrollar y validar la capacidad diagnóstica en

pacientes con glaucoma de una nueva base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina medido con OCT-Spectralis.

La cuarta parte corresponde a la descripción de los sujetos, material y métodos utilizados para la elaboración de este trabajo. Esta tesis se compone de dos estudios transversales y multicéntricos. En este apartado se detallan las características de ambos estudios, así como los criterios de inclusión y exclusión de cada uno de ellos. A continuación se explica minuciosamente las exploraciones que se realizaron en todos los pacientes así como los detalles éticos de los distintos estudios. Por último se describen los métodos estadísticos utilizados para el análisis de los datos obtenidos.

En la quinta parte de esta tesis doctoral se detallan los resultados obtenidos en cada uno de los dos estudios. Se utilizan tablas y gráficos para ilustrar las observaciones realizadas.

En la sexta parte se encuentra la discusión. Para comenzar la discusión, se analizan los resultados obtenidos en cada uno de los estudios y se comparan con los publicados previamente en la literatura. En esta parte también se explican las limitaciones de cada uno de los estudios. Para terminar con la discusión se analiza las contribuciones de nuestro trabajo y las posibles futuras líneas de investigación.

En la séptima parte se enumeran las conclusiones obtenidas a partir de los dos estudios.

Por último en la octava y novena parte, se enumeran las referencias bibliográficas

revisadas para la realización de este trabajo y se incluyen los anexos.





# **PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES**





## PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES EN CONGRESOS

1. *Desarrollo de una base de datos normativa del grosor de cada una de las capas internas de la retina mediante OCT de dominio espectral.* Presentado como comunicación oral en el Seminario mensual Castroviejo celebrado en febrero de 2016 en Madrid.
2. *Desarrollo de una base de datos normativa del grosor de cada una de las capas internas de la retina mediante OCT de dominio espectral.* Presentado como comunicación oral en el XI Congreso de la Sociedad Española de Glaucoma celebrado en Toledo en Marzo de 2016.
3. *Developing a normative database for inner macula layers using spectral domain OCT.* Presentado como panel científico en el 12Th European Glaucoma Society Congress celebrado en Praga en Junio de 2016.
4. *Base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina en el área macular medido con OCT de dominio espectral en la población caucásica.* Presentado como Comunicación de investigación en el 92 Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología celebrado en Málaga en Septiembre de 2016.

5. *Grosor de las capas internas de la retina en el área macular medido con OCT-Spectralis: Base de datos de normalidad.* Presentado como panel científico en la Reunión anual de la Sociedad oftalmológica de Madrid celebrada en Diciembre de 2016.
  
6. *Desarrollo y validación de una base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina en el área macular medido mediante OCT Spectralis.* Presentado como comunicación oral en el XII Congreso de la Sociedad Española de Glaucoma celebrado en Alicante en Marzo de 2017.
  
7. *Development and validation of a new normative database of the inner macular layer thickness using Spectralis-OCT.* Presentado como póster en el World Glaucoma Congress celebrado en Helsinki en Junio de 2017.
  
8. Nieves-Moreno, M; Martinez-de-la-Casa, JM; Cifuentes-Canorea, Pilar; Sastre-Ibáñez, M; Santos-Bueso, E; Saenz-Frances, F; Morales-Fernández, L; García-Feijoo, J. (2017) *Normative database for separate inner retinal layers thickness using spectral domain optical coherence tomography in Caucasian population.* Plos One.



# ABREVIATURAS





## LISTADO DE ABREVIATURAS

RNFL: Capa de fibras nerviosas de la retina

GPAA: Glaucoma primario de ángulo abierto

OHTS: The Ocular Hypertensión Treatment Study

EMGT: Early Manifest Glaucoma Trial

NMDA: N-metil-D-aspartato

OCT: Tomografía de coherencia óptica

SD-OCT: Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral

FDA: Agencia de medicamentos y alimentos

RT: Grosor retiniano total

GCL: Capa de células ganglionares

IPL: Capa plexiforme interna

INL: Capa nuclear interna

OPL: Capa plexiforme externa

ONL: Capa nuclear interna

RPE: Epitelio pigmentario de la retina

PR: Capa de fotorreceptores

CGG: Complejo de células ganglionares

HRT: Tomografía retiniana de Heidelberg

ETDRS: Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study

ROC: Receiver Operating Characteristic

AUC: Área bajo la curva ROC

**I**



# INTRODUCCIÓN



# INTRODUCCIÓN

## 1. GLAUCOMA

### 1.1 Definición de Glaucoma

El glaucoma es una de las principales causas de ceguera en el mundo, afectando a más de 60 millones de personas[37]. El concepto de glaucoma, a pesar de haber evolucionado mucho en los últimos 100 años, aún hoy sigue siendo impreciso. Podemos definir el glaucoma como una neuropatía óptica crónica que se caracteriza por la excavación progresiva de la papila óptica, por la muerte de células ganglionares de la retina y por el adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL) [38].

Aunque consideramos el glaucoma como una enfermedad del nervio óptico, su patogenia se caracteriza por la muerte de las células ganglionares de la retina, que se traduce en una pérdida progresiva del campo visual, que en fases avanzadas puede conducir a la ceguera[1]. Existen aproximadamente 1 millón de células ganglionares en el ojo humano, y aunque el área macular solo representa el 2% de la retina, contiene hasta el 50% de las células ganglionares[32].

Por la importancia y repercusión del glaucoma, la Organización Mundial de la Salud recomienda tomar las medidas adecuadas para llevar a cabo un diagnóstico y tratamiento precoz para prevenir la ceguera por glaucoma[39]. La búsqueda de un

diagnóstico precoz del glaucoma experimentó un cambio radical en 1982, cuando WM Grant describió por primera vez que el diagnóstico y tratamiento precoz del glaucoma eran factores favorables para la evolución de la enfermedad[40].

## 1.2 Clasificación de glaucoma

Los diferentes tipos de glaucoma se han clasificado clásicamente como primarios o secundarios, atendiendo a la presencia o no de patología ocular asociada. En los últimos años han aparecido nuevos conceptos en relación a la anatomía angular, la genética y la bioquímica que han dado lugar múltiples clasificaciones de los distintos tipos de glaucoma.

Se puede clasificar el glaucoma desde un punto de vista etiopatogénico, en el que se determina dónde está la obstrucción a la salida del humor acuoso y los diferentes factores implicados. Siguiendo las guías de la Sociedad Europea de Glaucoma, se puede clasificar el glaucoma en los siguientes grupos[41].

Glaucoma de la infancia	Glaucoma congénito primario	Neonatal (0 a 1 mes)	
		De inicio temprano (1 mes a 24 meses)	
		De inicio/diagnóstico tardío (24 meses a la pubertad)	
	Glaucoma secundario de la infancia (mecanismos patogénicos variados)		
Glaucoma primario de ángulo abierto	Glaucomas con presión intraocular alta		
	Glaucoma normotensivo		
	Glaucoma juvenil		
Glaucoma secundario de ángulo abierto	Por enfermedad ocular	Glaucoma pseudoexfoliativo	
		Glaucoma pigmentario	
		Glaucoma inducido por catarata	
		Glaucoma asociado a hemorragia intraocular	
		Glaucoma uveítico	
		Glaucoma neovascular	
		Glaucoma por tumor intraocular	
		Glaucoma asociado a desprendimiento de retina	
	Glaucoma asociado a traumatismo		
	Glaucoma Iatrogénico/Corticoideo		
Glaucoma por aumento de la presión venosa episcleral			
Glaucoma primario de ángulo cerrado	Agudo		
	Crónico		
Glaucoma secundario de ángulo cerrado	Con bloqueo pupilar		
	Sin bloqueo pupilar	Mecanismo anterior	Glaucoma neovascular
			Síndrome irido-corneo-endotelial
			Distrofia polimorfa posterior
		Mecanismo posterior	Asociado a traumatismo
			Asociado a membrana inflamatoria
			Aniridia
	Glaucoma maligno		
	Sin bloqueo pupilar	Mecanismo posterior	Glaucoma por tumor intraocular
			Glaucoma por aceite de silicona/gas
Efusión uveal			
Asociado a retinopatía del prematuro			
Asociado a anomalías congénitas			

### 1.3 Epidemiología del glaucoma

La prevalencia real del glaucoma no se conoce, pero se estima que afecta a entre el 1 y el 2,4% de la población blanca mayor de 40 años[42], se sabe que la prevalencia aumenta con la edad y que es mayor en la población negra[43]. Se estima que en el año 2020 habrá 80 millones de personas afectadas por glaucoma en el mundo, de los cuales el 74% padecerán glaucoma crónico de ángulo abierto y de las cuales 8,6 millones se quedarán ciegos por glaucoma[1].

La frecuencia de cada uno de los tipos de glaucoma no se conoce con exactitud y tiene importantes variaciones geográficas, pero la forma más frecuente de glaucoma en el mundo es el glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA).

En España, un estudio epidemiológico publicado en 2004, cifra la prevalencia del glaucoma en un 2,1% y la prevalencia de hipertensión ocular en un 1,7% de la población, cifras muy parecidas a otros estudios de prevalencia del glaucoma en la población caucásica. En este estudio se observó una mayor prevalencia en hombres, aunque el resultado no fue estadísticamente significativo, y un aumento de la prevalencia con la edad[44].

### 1.4 Factores de riesgo del glaucoma de ángulo abierto

En la mayoría de los estudios no se diferencia entre GPAA y glaucomas secundarios de ángulo abierto como el pseudoexfoliativo o el pigmentario, por lo que los siguientes

factores de riesgo pueden aplicarse a todos los glaucomas de ángulo abierto.

#### 1.4.1 Factores de riesgo para desarrollar glaucoma

##### a) Edad

Los estudios transversales en la población describen un aumento dramático de la prevalencia de glaucoma con la edad[45], y estudios longitudinales confirman que la edad avanzada es un importante factor de riesgo para el desarrollo del glaucoma[46]. Se estima un aumento del riesgo de entre el 4-6% al año.

##### b) Presión intraocular

Existen numerosos estudios que relacionan el aumento de la presión intraocular con el aumento de la prevalencia y la incidencia de glaucoma. El riesgo de desarrollar glaucoma aumenta en un 11-12% por cada mmHg de aumento de la presión intraocular en la población caucásica, y llega hasta el 18% en la población latina.[41], [45], [46]

A día de hoy la presión intraocular es el único factor de riesgo modificable.

##### c) Raza/Etnia

La prevalencia del glaucoma es mayor en la población afroamericana que en la población caucásica. En la población latina el glaucoma es más prevalente que en la

caucásica pero menos que en la población afroamericana.[43]

#### d) Historia familiar de glaucoma

Existen estudios en diferentes grupos étnicos que demuestran que la presencia de antecedentes familiares de glaucoma aumenta el riesgo de padecer la enfermedad entre 4 y 9,2 veces respecto a los individuos sin antecedentes familiares[47].

Durante los últimos años se está haciendo un esfuerzo para encontrar marcadores genéticos del glaucoma y numerosos loci han sido implicados en la patogenia del GPAA.

#### e) Grosor corneal central

Dos estudios poblacionales demostraron que existe entre un 30 y un 41% de aumento de riesgo de desarrollar glaucoma por cada 40  $\mu\text{m}$  de adelgazamiento corneal.[48], [49]

#### f) Miopía

La miopía mayor de -3 dioptrías ha sido identificada como una causa de aumento de la prevalencia de glaucoma. Un estudio holandés mostró que el riesgo de desarrollar glaucoma en los sujetos con miopía mayor de 4 dioptrías era 2,3 veces mayor que en los sujetos sin miopía.[50]

#### g) Presión de perfusión ocular

Numerosos estudios clásicos asocian una baja perfusión ocular con un aumento del riesgo de glaucoma, y estudios más recientes sugieren que esta asociación puede depender de si el sujeto está en tratamiento o no para la hipertensión arterial. Sin embargo el lugar exacto que ocuparía la presión de perfusión ocular en el manejo de glaucoma no está claramente definido aún. [48]

#### h) Otros factores

Múltiples factores han sido clásicamente asociados con un aumento del riesgo de desarrollar glaucoma como la diabetes, la presión arterial sistémica, la migraña y el síndrome de Raynaud y la apnea obstructiva del sueño. **I**

#### 1.4.2 Factores predictivos y factores de riesgo de conversión de hipertensión ocular a glaucoma

En el ensayo clínico “The Ocular Hypertensión Treatment Study” (OHTS)[51] se evaluó el efecto del tratamiento para bajar la presión intraocular, en el riesgo de conversión de hipertensión ocular a glaucoma. En este estudio se encontraron los siguientes factores de riesgo:

- Edad: aumento de un 26% de riesgo por década.
- Presión intraocular: aumento de un 1% por cada milímetro de mercurio.

- Verticalización de la excavación papilar: aumento de un 19% de riesgo por cada 0,1 de excavación.
- Desviación del patrón en el campo visual: aumento de un 13% por cada 0,2dB.
- Grosor corneal central: aumento de 2,04 veces el riesgo por cada 40  $\mu\text{m}$  de adelgazamiento corneal.

#### 1.4.3 Factores pronósticos de progresión del glaucoma

##### a) Edad

La edad avanzada se asocia de manera significativa con un aumento del riesgo de progresión del glaucoma y la progresión es considerablemente más rápida en personas de edad avanzada que en personas jóvenes[52].

##### b) Presión intraocular

Los ensayos clínicos siguieron que la disminución de la presión intraocular tiene efectos beneficiosos tanto en la instauración como en la progresión del glaucoma. En el “Early Manifest Glaucoma Trial” (EMGT) el riesgo de progresión disminuyó aproximadamente un 10% con cada mmHg de disminución de la presión intraocular, tomando como referencia la presión intraocular de la primera visita[52].

El papel que juega la fluctuación de la presión intraocular en la progresión del glaucoma no está tan establecido y hacen falta nuevos estudios que aporten nuevos datos.

#### c) Grosor corneal central

En el EMGT un grosor corneal central fino era un factor de riesgo débil para la progresión y el pronóstico del glaucoma[52].

#### d) Hemorragias peripapilares

La presencia de hemorragias peripapilares se ha asociado de manera consistente con un aumento del riesgo de progresión a corto plazo[52]. Además, la presencia de hemorragias peripapilares durante una exploración rutinaria es muy sugestiva de glaucoma, si bien es cierto que su ausencia no excluye el diagnóstico.

### 1.5 Fisiopatología del glaucoma [53]

El glaucoma primario de ángulo abierto es una neuropatía óptica en la que el nervio óptico puede verse afectado por los efectos mecánicos del aumento de la presión intraocular, un daño estructural de la malla trabecular y, posiblemente, un factor isquémico del nervio óptico.

En condiciones normales el humor acuoso se produce en los procesos ciliares y pasa a de la cámara posterior a la cámara anterior a través de la pupila. Desde la cámara anterior entra en el canal de Schlemm a través de la malla trabecular y sale del ojo a través de

los canales colectores. La malla trabecular es la principal responsable de la resistencia a la salida del humor acuoso.

Tradicionalmente se han estudiado dos teorías de daño al nervio óptico, la teoría mecánica y la teoría vascular. En los últimos años, nuevas investigaciones aportan datos sobre el mecanismo fisiopatológico de daño neuronal a nivel celular.

#### 1.5.1 La teoría mecánica

Esta teoría sostiene que el daño principal de los axones se produce por un fenómeno de compresión a nivel de la lámina cribosa. Al aumentar la presión intraocular, se produce un abombamiento posterior de la lámina cribosa que comprime los axones de las fibras nerviosas, impidiendo el libre movimiento del flujo axoplásmico. El flujo axoplásmico es el responsable de hacer llegar al cuerpo de las células ganglionares los factores de crecimiento por lo que al interrumpirse el flujo, se produce la muerte de la célula ganglionar.

#### 1.5.2 La teoría vascular

Cuando la lámina cribosa se abomba posteriormente por el aumento de la presión intraocular, se produce una compresión de los capilares que irrigan el nervio óptico. Lo cual puede producir un daño directo sobre las fibras.

#### 1.5.3 La apoptosis

La apoptosis es un proceso de muerte celular programada, que se puede iniciar tras una pérdida del flujo retrógrado de factores de crecimiento neurotrófico de los axones dañados, debido a agresiones neuronales que se producen en la lámina cribosa. Cuando se produce la muerte celular programada hay una mínima salida de sustancias al espacio extracelular, como ácido glutámico, N-metil-D-aspartato (NMDA), aminoácidos, radicales libres y calcio.

Los aminoácidos excitatorios como el glutamato son capaces de dañar las células ganglionares vecinas. El NMDA permite la entrada del calcio al interior de las células pudiendo llegar a alcanzar niveles tóxicos. El incremento del glutamato y del calcio intracelular dispara la apoptosis en las células ganglionares, lo que da lugar a un círculo vicioso que estimula y aumenta la apoptosis a través de una neurotoxicidad crónica.

## 1.6 Diagnóstico precoz de glaucoma

El diagnóstico del glaucoma en estadios iniciales, antes de que se produzca una pérdida funcional significativa, sigue siendo a día de hoy un reto y uno de los mayores obstáculos en la práctica clínica.

La detección precoz del glaucoma permite iniciar el tratamiento pronto y retrasar la pérdida de visión. Se han llevado a cabo grandes esfuerzos y numerosas investigaciones para desarrollar nuevas técnicas de imagen que nos permitan detectar el glaucoma en

sus estadios más iniciales. La mayoría de los estudios realizados sugieren que las alteraciones estructurales preceden a las pérdidas funcionales en los enfermos con glaucoma[36].

Las alteraciones de la papila y de la capa de fibras nerviosas de la retina, pueden detectarse con una pérdida de un 5% de células ganglionares de la retina, mientras que para detectar pérdida del campo visual se requiere la muerte de un 25-35%, y de hasta un 40% para que se afecte la agudeza visual[54].

## **2. ANATOMÍA DE LA MÁCULA**

### **2.1 Definición de mácula**

No existe un acuerdo general sobre la definición de mácula, mientras que los clínicos la describen como la región de la retina que se encuentra entre las arcadas vasculares, los anatomistas la describen como la pequeña región que contiene pigmentación (mácula lútea) y se ve de color más amarillento en la retina debido a la alta concentración de luteína[7].

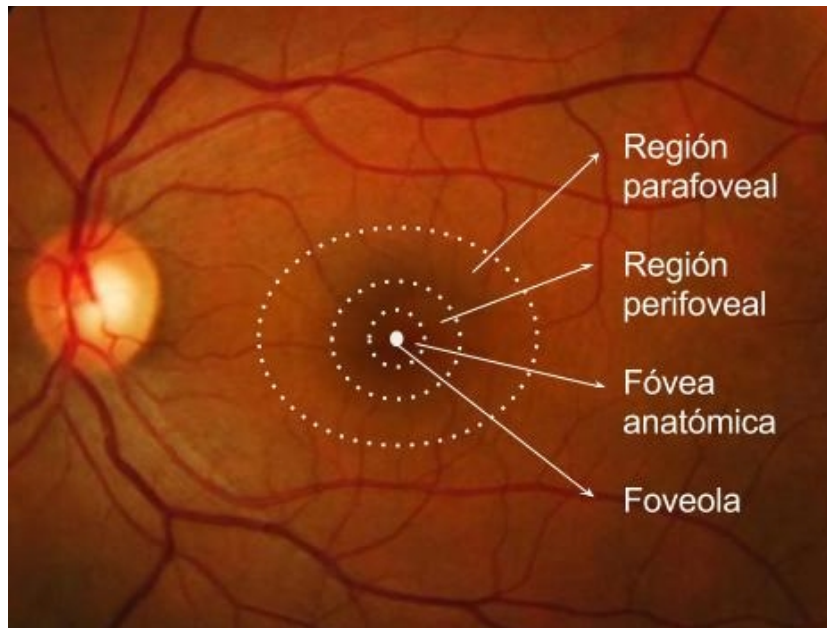
La mácula es el punto focal del ojo, tanto óptica, anatómica como funcionalmente hablando. Es un área de la retina altamente especializada que nos permite la agudeza visual fina y la estereopsis[55]. Para los propósitos de nuestro estudio definiremos la mácula como el área retiniana contenida entre las arcadas vasculares de +/-8ª centrada en la fóvea[56], esta forma una elipse de unos 5,5 mm responsable de los 18º centrales

del campo visual[57].

La luteína es un pigmento xantófilo que impregna las capas de la retina desde la nuclear externa hacia la cavidad vítrea, y que tiene la capacidad de absorber las longitudes de onda azules, contribuyendo a la protección de la mácula frente al estrés oxidativo. Pero el color más intenso del área macular no se debe solo a la luteína, sino que también es debido a que el epitelio pigmentario está más densamente pigmentado en esa zona[58].

Podemos dividir la mácula en cuatro zonas que se representan sobre una retinografía normal en la figura 1., y que se explican detalladamente a continuación:

**Figura 1.** Representación esquemática de las zonas de la mácula sobre una retinografía normal.



a) Fóvea anatómica

Es una depresión en el centro de la mácula que se encarga de la visión central y de los colores, la fóvea posee unos 120.000 conos por  $\text{mm}^2$ . Mide aproximadamente 1,5 mm de diámetro y se sitúa aproximadamente a 3,4 mm hacia temporal y 0,8 mm hacia abajo del borde de la papila óptica.

La fóvea anatómica tiene un color más oscuro que el resto de la retina debido a que las células del epitelio pigmentario de la retina son más altas y contienen mayor cantidad de pigmento que en el resto de la retina. El grosor retiniano del área foveal es aproximadamente la mitad que en el resto del polo posterior debido a la ausencia en esta zona de la capa de fibras nerviosas, de células ganglionares y de plexiforme interna.

#### b) Foveola

En el centro de la fóvea se aprecia una depresión llamada foveola que mide aproximadamente 0,2 mm de diámetro y solo 130  $\mu\text{m}$  de altura, esta zona es extremadamente delgada debido a que solo existen en ella fotorreceptores, conos altamente especializados. Esta es el área con mayor agudeza visual, los conos de esta zona han alargado sus segmentos externos y están alineados de manera perfecta con la luz que entra dentro del ojo.[59]

#### c) Región parafoveal

Se extiende 1,5 mm desde el centro de la fóvea. El desplazamiento de las capas internas de la retina en la foveola produce una agregación de células bipolares y ganglionares haciendo que esta región sea la de mayor grosor de toda la retina[55].

#### d) Región perifoveal

Se extiende 2,75 mm desde el centro de la fóvea, el final de esta zona marca el final de la retina central.

## 2.2 Histología de la retina

Clásicamente la retina se divide en 10 capas que de interna a externa son[57]:

- Capa de fibras nerviosas: Compuesta por los axones de las células ganglionares. La concentración de axones en el área macular hace que esta capa sea más gruesa en el haz papilomacular y en la zona superior e inferior del disco óptico.

- Capa de células ganglionares: Formada por células ganglionares aunque contiene también astrocitos, células amacrinas, células endoteliales y pericitos. Aunque la mácula representa tan solo el 2% de todo el área retiniana, esta contiene más del 50% de todas las células ganglionares de la retina[7]. De cada célula ganglionar se extiende un solo axón en dirección al vítreo para entrar a formar parte de la capa de fibras nerviosas de la retina.

- Capa plexiforme interna: Compuesta por la sinapsis de las células bipolares, ganglionares y amacrinas.

- Capa nuclear interna: Formada por los cuerpos de las células bipolares, horizontales y amacrinas, y el núcleo de las células de Müller. Las células bipolares conectan los fotorreceptores con las células amacrinas y ganglionares. Las células horizontales y amacrinas procesan la información de los fotorreceptores. Por último, las células de Müller, son células gliales que ayudan a mantener y proteger las células

neurosensoriales.

- Capa plexiforme externa: Compuesta por las sinapsis entre los fotorreceptores y las células bipolares y horizontales.

- Capa nuclear externa: Contiene los cuerpos de los fotorreceptores, conos y bastones. El 50% de los conos se sitúan en el área macular.

- Capa limitante interna: Se trata de los complejos de unión entre las membranas de las células de Müller y los segmentos internos de los fotorreceptores.

- Capa de conos y bastones: Formada tan solo por los segmentos externos de los fotorreceptores, que contienen los discos de pigmentos visuales en su interior

- Capa de Epitelio pigmentario: Se trata de una capa unicelular que contiene gránulos de melanina.

## 2.3 Vascularización de la mácula

La mácula recibe su vascularización desde las ramas más distales de las arterias ciliares cortas y se corresponde con la zona coroidea con mayor flujo de sangre y perfusión. La fóvea, por el contrario, es avascular y carece de capilares en las 400  $\mu\text{m}$  centrales, por lo que los conos de esta zona se nutren desde la coriocapilar.

El patrón vascular de la coriocapilar es segmentado, con una distribución lobular en toda la retina, excepto en el área macular en el que se distribuye con forma de panal de abeja. En la región submacular la relación arteriola-vénula es 3:1 por lo que los conos de la fovea reciben un mayor aporte sanguíneo pero a su vez tienen aumentado el riesgo de edema.

En un 10% de la población la mácula no está irrigada por la arteria central de la retina sino por una arteria ciliarretiniana.

### **3. TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA (OCT)**

#### **3.1 Bases teóricas del funcionamiento del OCT**

La primera OCT de retina fue realizada en el año 1989 por David Huang y James Fujimoto[30], estos autores analizaron muestras de retina y arterias coronarias “ex vivo” y su comparación con la histología supuso un gran paso en la evolución de la tecnología. Desde las primeras OCTs, la tecnología ha avanzado mucho permitiendo imágenes en alta resolución y un tiempo de adquisición mucho más corto.

El funcionamiento del OCT se basa en la medición de la latencia y la intensidad de onda que se refleja en un determinado tejido tras hacer incidir una determinada onda de radiación luminosa. Las variaciones que se producen en la radiación según penetra en el tejido, nos permiten obtener un registro axial (A-scan). Cuando obtenemos múltiples

A-scans desplazando la luz siguiendo una línea recta sobre el tejido, conseguimos un corte transversal (B-scan). Por último, obteniendo varios B-scan en paralelo se genera un cubo en tres dimensiones.

Cuando el haz luminoso llega a las diferentes capas de la retina sufre los fenómenos de: absorción, porción de luz absorbida por el tejido que se transforma en calor; transmisión, porción de luz que continúa su trayectoria e interactúa con tejidos más profundos; y dispersión, variaciones en el índice de refracción que provocan cambios aleatorios en la dirección de la luz. La luz dispersada en dirección opuesta a la emitida se denomina luz reflejada.

Cada una de las capas retinianas tiene diferentes propiedades que definen su reflectividad, y el OCT tiene la capacidad de medirla y representarla mediante una escala de colores o grises. La alta reflectividad se representa mediante los colores blanco o rojo e indica que el tejido está bloqueando la transmisión de luz (zonas de fibrosis, epitelio pigmentario y RNFL). La baja reflectividad se representa mediante los colores negro y azul, es característica de zonas de edema y contenido seroso, la disposición de los fotorreceptores paralelos a la luz incidente hacen que esta capa posea poca reflexión de la luz. La reflectividad media se representa en verde-amarillo o gris. La reflectividad de las capas más profundas se verá afectada por las propiedades de las superficiales[60].

### 3.2 OCT Spectralis (Heidelberg Engineering)

El OCT Spectralis (Figura 2) está formado por una combinación de un oftalmoscopio láser confocal de barrido y un OCT de dominio espectral (SD-OCT) con un sistema de fijación ocular láser.

**Figura 2.** OCT Spectralis (Heidelberg Engineering)



A continuación se resumen sus principales características técnicas:

1. Velocidad de escaneado: 40.000 A-scan/segundo.
2. Resolución axial de 7 micras y de 4 micras tras el procesado digital de las imágenes
3. Resolución transversal de 14 micras

4. Sistema de “eye tracking” y AutoRescan que permite escanear de forma precisa las mismas áreas de la retina a lo largo de diferentes exploraciones. Este sistema permite mantener el alineamiento del OCT, pudiendo obtenerse desde 1 a 100 B-scan del mismo punto lo cual elimina el ruido de la imagen final, y permite conservar la alineación en las sucesivas visitas, lo cual se traduce en una alta repetibilidad y reproducibilidad de las mediciones que se realizan con el OCT Spectralis.
  
5. La opción “follow up” reconoce el patrón retiniano de un paciente cuando es reexplorado, y permite establecer una imagen como referencia para que en sucesivas exploraciones la imagen se tome del mismo lugar y puedan compararse los valores obtenidos en cada imagen.

### 3.2.1 Protocolos de estudio de la mácula

El OCT Spectralis dispone de múltiples protocolos predefinidos para el estudio de la mácula y ofrece la posibilidad de definir uno nuevo según nuestras necesidades, para este estudio se utilizó el protocolo de escaneo macular “dense”.

En la pantalla de captura de imágenes tomográficas del OCT Spectralis podemos ver, a la izquierda una imagen infrarroja del área retiniana sobre la que se superponen líneas azules que indican las zonas que serán escaneadas por el tomógrafo. Esta rejilla puede ser movida por el operador, de ese modo siempre se consigue un centrado de la imagen

en el área que deseamos explorar. En la parte derecha de la pantalla se muestra la imagen tomográfica en tiempo real.

El OCT permite variar la densidad de escaneo de de cada imagen (1-100 B-scans), a mayor densidad de escaneo se obtienen imágenes de mejor resolución y con menos ruido. Pero también se produce un aumento proporcional del tiempo de adquisición de las imágenes, lo cual es importante ya que las leyes de la Agencia de medicamentos y alimentos (FDA) limitan el tiempo de exposición de los pacientes al láser a 300 segundos por paciente y este tiempo es acumulativo.

Los escáneres obtenidos se procesan mediante un software que elimina el ruido y mejora la resolución, las imágenes se muestran de forma bidimensional o tridimensional.

El OCT Spectralis dispone de una base normalizada del grosor de la capa de fibras nerviosas pero no dispone de una base de datos normalizada del grosor macular para pacientes sanos.

Muy recientemente, Heidelberg Engineering ha incorporado un nuevo software para OCT-Spectralis que permite la segmentación automática y el análisis del grosor de cada una de las capas de la retina de manera individual: grosor retiniano total (RT), capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL), capa de células ganglionares (CGL), plexiforme interna (IPL), nuclear interna (INL), plexiforme externa (OPL), nuclear externa (ONL), epitelio pigmentario de la retina (RPE) y capa de fotorreceptores (PR). Actualmente el

OCT-Spectralis es el único del mercado que permite estudiar de manera individual cada una de las capas de la retina.

Basándose en la asimetría del glaucoma, el OCT-Spectralis permite estudiar asimetrías entre la partes superior e inferior, las asimetrías intreroculares en el espesor macular y en el espesor de las diferentes capas retinianas del polo posterior mediante una rejilla de 8x8 mm. Aunque este estudio puede tener gran interés para el diagnóstico del glaucoma, existen múltiples patologías que pueden reducir el grosor de la mácula y por lo tanto actuar como factor de confusión para evaluar el daño glaucomatoso.

### 3.3 Otros OCT

A pesar, de como se ha comentado anteriormente, el OCT-Spectralis es el único dispositivo que nos permite estudiar cada una de las capas de la internas retina de manera individual, existen otros OCTs que permiten analizar el grosor de las capas internas de la retina de manera conjunta.

#### 3.3.1 OCT 3D-Topcon

Este OCT de dominio espectral cuenta con un módulo de glaucoma que permite realizar tomografías de los discos ópticos y la mácula. En el análisis de la mácula el sistema permite medir la RNFL, el complejo de células ganglionares (GCC) que está comprendido por las tres capas internas de la retina y el complejo GCL – IPL. Este

dispositivo cuenta con una base de datos normativa con la que comparar los resultados.

### 3.3.2 OCT RTVue

Se trata de un OCT de dominio Fourier de alta resolución que permite una segmentación específica de las capas internas de la retina, analizando el complejo de células ganglionares. Al igual que el descrito previamente, el dispositivo cuenta con una base de datos normativa compuesta por 861 pacientes de diferentes razas de entre 19 y 82 años, y con un defecto refractivo de entre -8 a +8 dioptrías de esfera y -2 a +2 dioptrías de cilindro, con la que comparar los resultados obtenidos. Además este dispositivo realiza medidas de la pérdida global de volumen y la pérdida focal de volumen del CCG, permitiendo diferenciar entre la pérdida focal y la localizada en el mapa de de células ganglionares.

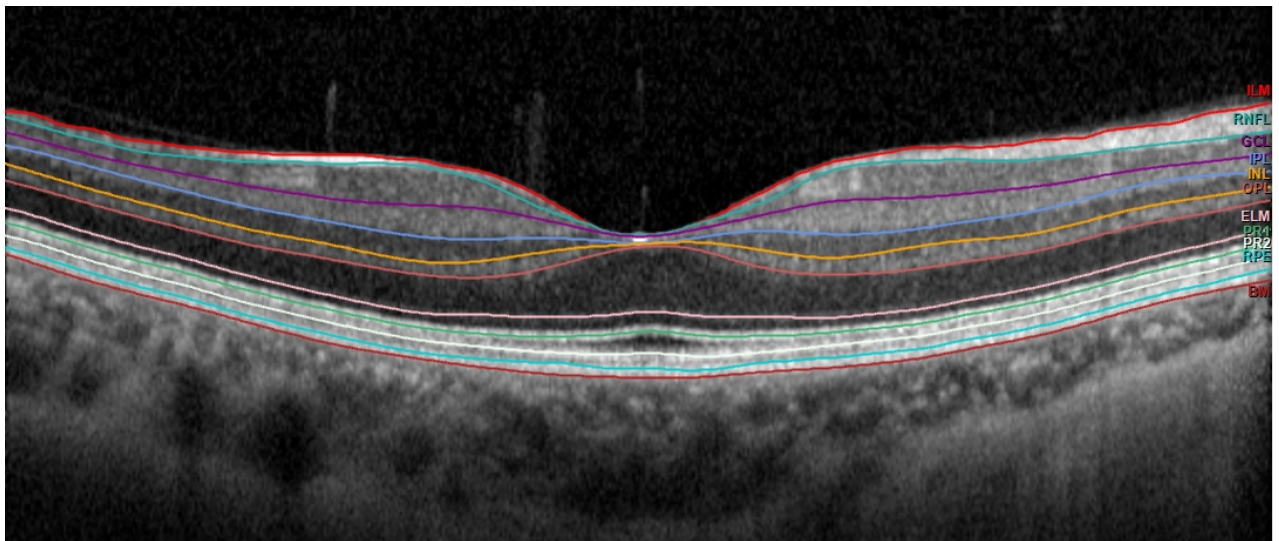
### 3.3.3 OCT Cirrus

Se trata de un OCT de dominio espectral y alta resolución que permite segmentar las capas internas de la retina y analizar por separado el complejo CGL – IPL, excluyendo por tanto la RNFL, al contrario que los dos anteriores. Al igual que el OCT 3D-Topcon y el OCT RTVue cuenta con una base de datos normativa interna. En este caso la base de datos está compuesta por 284 pacientes de edades comprendidas entre 19-84 años y con un defecto refractivo desde -12 dioptrías a + 8 dioptrías.

### 3.4 Correlación entre la OCT y la anatomía de la retina

Con las OCT de alta resolución es posible ver detalles micrométricos de la anatomía macular y de la papila óptica e incluso de la coroides[61]. En la figura 3 se muestra una imagen del área macular obtenida y segmentada automáticamente mediante OCT-Spectralis. A continuación se explican detalladamente a que corresponde cada una de las diferentes franjas que se pueden observar en la figura 3, desde la parte superior a la inferior.

**Figura 3.** Tomografía de coherencia óptica obtenida y segmentada automáticamente mediante OCT-Spectralis.



El gel vítreo está compuesto por un 99% de agua por lo que en las imágenes de OCT aparece de color negro por su baja reflectividad. En algunos pacientes en los que la hialoides posterior se encuentra engrosada, como en los ancianos y diabéticos, está puede visualizarse mediante OCT.

La retina consta de 4 capas celulares y dos capas de conexiones neuronales. La membrana limitante interna (MLI) y la membrana limitante externa (MLE) que se forman por los complejos de adhesión de las células de Müller cuyos núcleos se encuentran en la capa nuclear interna. En las imágenes que se obtienen mediante OCT se pueden distinguir bandas horizontales de distinta reflectividad que se corresponden con las capas de la retina, si bien es cierto que su espesor no es proporcional al que se encuentra en los cortes histológicos[62].

En la región parafoveal se puede apreciar una delgada línea que desaparece al acercarnos al anillo neuroretiniano y a la fóvea, se trata de la membrana limitante interna que alcanza su grosor máximo alrededor de la fóvea (3 micras) y corresponde al lugar donde se insertan las fibras procedentes de la hialoides posterior[60].

La siguiente capa, es la primera de alta reflectividad y corresponde con la RNFL, está formada por los axones de las células ganglionares que carecen de mielina y que aumenta de grosor al acercarse al anillo neuroretiniano. Sobre esta capa circulan los grandes vasos de la retina que generan un bloqueo al paso de las ondas dando lugar a una sombra posterior.

Bajo la RNFL nos encontramos la capa de células ganglionares, una capa de reflectividad media que al igual que la anterior, aumenta de grosor al acercarnos a la papila y también aumenta su grosor en el área parafoveal.

La siguiente capa que podemos visualizar con el OCT es la capa plexiforme interna que también es de reflectividad media. Las siguientes bandas se corresponden con la capa nuclear interna de baja reflectividad que contiene los cuerpos de las células bipolares, horizontales, amacrinas y de Müller y la capa plexiforme externa de reflectividad media.

La siguiente capa es la capa nuclear externa contiene los fotorreceptores. En el OCT se representa como 6 bandas de distinta reflectividad que se pueden apreciar más claramente en la fóvea. La primera de ellas es una banda hiporeflexiva que se corresponde con los cuerpos de los fotorreceptores. La siguiente es una banda hiperreflectiva, la membrana limitante externa. Por debajo de ella aparece una banda hiporeflexiva que se corresponde con los segmentos internos de los fotorreceptores. La siguiente es una banda hiperreflectiva conocida como la línea de los elipsoides de los conos. Los elipsoides se localizan en la porción más externa del segmento interno de los fotorreceptores, están repletos de mitocondrias y estructuras membranosas, y en los conos adoptan una disposición especial más fina y alargada, siendo responsables de la línea de alta reflectividad que observamos en el OCT[63], [64]. La siguiente banda de la capa nuclear externa es una banda hiporeflexiva que se corresponde con los segmentos externos de los fotorreceptores. Por último bajo esta línea, nos encontramos de nuevo con una línea hiperreflectiva que corresponde con las terminaciones e interdigitaciones de los segmentos externos de los fotorreceptores con el polo apical de las células del RPE y se conoce también como membrana de Verhoeff.

Por debajo de la capa nuclear externa, aparece una nueva línea hiperreflectiva formada el complejo RPE y la membrana de Bruch.

Por último, tras el complejo RPE - Membrana de Bruch, nos encontramos la coroides. La coroides presenta una reflectividad media y los grandes vasos de la coroides generan imágenes de baja reflectividad. Mediante la opción “Enhanced Depth Imaging” (EDI) del OCT-Spectralis se consigue aumentar la profundidad de la imagen capturada y se obtiene máxima sensibilidad en la zona coroidea (disminuyendo la sensibilidad para la retina)[65], [66].

#### **4. BASES DE DATOS DE NORMALIDAD PARA PRUEBAS DE IMAGEN EN GLAUCOMA**

El desarrollo de bases de datos de normalidad o bases normativas para las pruebas de imagen debe ser un proceso estandarizado, por lo que deben existir una guías mínimas que todos los investigaciones deberían seguir para la realización de las mismas. En el simposio titulado “Normative Databases for Imaging Instrumentation” que tuvo lugar en Vancouver, el 17 de julio de 2013, un comité de expertos expuso los principios que deben aplicarse al desarrollo de bases de datos de normalidad que se expondrán a continuación[6].

Durante las últimas dos décadas, se ha experimentado un gran desarrollo de las pruebas de imagen del polo posterior. Estas ofrecen medidas de múltiples parámetros anatómicos que no es posible medir mediante la exploración oftalmológica. Existen evidencias en la literatura de que estas pruebas de imagen pueden mejorar el manejo del glaucoma y ayudar a la toma de decisiones en la práctica clínica diaria[67].

Para optimizar el uso de las pruebas diagnósticas, sus resultados generalmente se comparan con los valores de normalidad que se obtienen de bases de datos de normalidad, desarrolladas con pacientes que no presentan la enfermedad. Aunque las comúnmente se denominan bases de datos de normalidad, sería más correcto referirse a ellas como bases de datos de referencia, ya que un valor normal no significa necesariamente que el paciente sea sano, así como un valor anormal, no implica presencia de enfermedad en todos los casos.

Otro de los usos de las pruebas diagnósticas es identificar cambios estadísticamente significativos en el seguimiento de un paciente. En este caso los resultados del test se comparan con los obtenidos previamente para ese paciente. El dispositivo debería ser capaz de diferenciar entre los cambios que se producen por la propia variabilidad del test y los que realmente están ocurriendo en el paciente. Algunos dispositivos como la Tomografía retiniana de Heidelberg (HRT) tienen en cuenta la variabilidad individual de cada paciente a la hora de identificar cambios estadísticamente significativos. Pero, en cualquier caso, el clínico debe tener en cuenta los datos de reproducibilidad de cada dispositivo a la hora de evaluar los posibles cambios estructurales.

Para el desarrollo de bases de datos de normalidad se deben tener en cuenta los siguientes criterios:

a) Selección de los pacientes.

La cohorte de voluntarios que se eligen para formar parte de las bases de datos normativas debe ser representativa de la población en la que se usará el test con fines diagnósticos. Por lo tanto, los voluntarios sanos deben ser elegidos de la misma población de referencia que los pacientes. Debemos minimizar los criterios de exclusión para asegurarnos que la base de datos refleja la realidad de la población. Por ejemplo, si excluimos a los pacientes con cataratas de la base de datos de normalidad, puede que la comparación con un paciente que presenta cataratas no sea válida. Sin embargo, es importante que los sujetos que se incluyan no presenten la patología que se pretende estudiar con el dispositivo.

#### b) Tamaño muestral.

El número de sujetos que incluimos en la base de datos debe ser lo suficientemente grande para caracterizar a la población de referencia. Al desarrollar una base de datos de normalidad estamos especialmente interesados en las colas de la distribución (los valores extremos), ya que lo que queremos saber es si el valor que obtenemos en un paciente es suficientemente diferente de la media para ser estadísticamente improbable si se tratara de un sujeto sano. Las agencias reguladoras exigen aproximadamente 300 pacientes en las bases de datos normativas.

#### c) Estratificación

Se sabe que algunas covariables como la edad, el error refractivo/longitud axial, la raza/etnia pueden afectar a los parámetros maculares y del nervio óptico[17], [68], [69].

Si el efecto de una variable es conocido y es lo suficientemente grande para que la diferencia sea clínicamente relevante la estratificación de la base de datos estaría justificada. Por ejemplo, se sabe que las células ganglionares de la retina y sus axones disminuyen a lo largo de la vida y por lo tanto las bases de datos están estratificadas por edad[10], [70].

#### d) Presentación y análisis de los resultados

En la presentación de los resultados debe aparecer tanto los resultados del paciente como su comparación con los valores de la base de datos de normalidad y debe ser fácilmente interpretable por un clínico. En el informe también deberían aparecer las limitaciones del análisis y de la comparación, por ejemplo si estamos explorando a un paciente de más de 100 años es posible que la base de datos incluya tan pocos pacientes de esa edad que no sea capaz de detectar valores fuera de la normalidad. En cualquier caso, es importante recordar, que un resultado fuera de los límites que se establecen como normales no indica necesariamente presencia de enfermedad, y es el clínico el que debe interpretar los resultados con toda la información del paciente.

#### e) Variabilidad

La medición de la variabilidad se refiere a la similitud entre los valores obtenidos un mismo paciente cuando se repite el test más de una vez sin que exista ningún cambio en el estado del paciente. Se trata de la reproducibilidad del test, en el caso del OCT-Spectralis ha demostrado tener una buena reproducibilidad intra e interobservador

incluso para la última versión del software que incluye la segmentación de las capas de la retina[5]. Existen muchas fuentes de imprecisión que incluyen factores relacionados con el dispositivo, la persona que realiza el test y el paciente. La imprecisión del test puede minimizarse si las pruebas son realizadas por examinadores expertos y si siempre se utiliza el mismo protocolo de adquisición.

## 5. DAÑO GLAUCOMATOSO EN LA MÁCULA

Desde hace más de 30 años, numerosos estudios han establecido que el glaucoma puede afectar a la mácula desde estadios iniciales[71]–[74], sin embargo, el daño macular en el glaucoma no ha sido estudiado hasta hace unos años. Por ejemplo, el campo visual más utilizado para el seguimiento y diagnóstico del glaucoma tiene los puntos separados 6° unos de otros por lo que estos caen fuera de la zona de máxima densidad de células ganglionares. El interés por el daño que el glaucoma produce en la mácula ha aumentado en los últimos años ya que, gracias al OCT, somos capaces de medir *in vivo* la capa de células ganglionares de la retina.

### 5.1 La RNFL y el complejo GCL-IPL en sujetos sanos

Como se ha explicado anteriormente, los axones de las células ganglionares viajan en la capa de fibras nerviosas desde el cuerpo de las células ganglionares hasta el nervio óptico. Para entender el daño glaucomatoso en la mácula es imprescindible entender como viajan estos axones hasta el nervio óptico:

- Los axones de las células ganglionares de la parte temporal de la mácula forman un arco alrededor de la fóvea.
- En la parte temporal de la fóvea se forma un rafe con muy pocos axones. Esto se debe a que, en general, los axones de las células ganglionares no cruzan el meridiano horizontal.

- Los haces de RNFL son más delgados en los cuadrantes superior e inferior de la papila. Estos cuadrantes se consideran los más vulnerables al daño glaucomatoso.

Estudios previos han demostrado que la RNFL y el complejo GCL-IPL en el área macular son más delgadas en pacientes con glaucoma que en controles, mientras que las capas nuclear interna y de fotorreceptores se mantiene constante. Además, los pacientes que tenían más afectada la zona central del campo visual tenían grosores menores que los pacientes sin afectación central[75].

En los controles, la RNFL es más delgada en el centro de la mácula, esto se corresponde con la ausencia relativa de células ganglionares en la fovea y la zona de mayor grosor más de la RNFL se produce cerca del disco en las regiones superior e inferior. El efecto de la edad en grosor de la RNFL es relativamente pequeño[76]–[79].

El complejo CGL-IPL en controles tiene su mayor grosor formando un donut en los 8° centrales alrededor de la fovea[80]. El grosor es mayor en la retina nasal, cerca de la fovea, que en la retina temporal. El complejo CGL-IPL es algo menor en los mayores de 40 años que en los más jóvenes[81], [82].

## 5.2 La RNFL y GCL en pacientes con glaucoma

Como es de esperar, la mayor pérdida de RNFL en pacientes con glaucoma se observa en los arcos superior e inferior, que eran las zonas más gruesas en los controles, este adelgazamiento es progresivamente mayor según empeora el defecto medio del campo visual[7]. El adelgazamiento parece ser algo mayor en la zona inferior de la retina, lo cual se corresponde con los estudios previos que hablan de que el daño glaucomatoso central es mayor en el campo visual superior[73], [83], [84].

La media de grosor de la GCL-IPL también disminuye progresivamente al aumentar el defecto medio del campo visual y este adelgazamiento es mayor en la parte inferior de la retina, al igual que ocurre con la RNFL macular. Este adelgazamiento es máximo en la parte infero-temporal de la fóvea[7], [23].

Es importante destacar que el adelgazamiento de la RNFL macular y GCL-IPL se puede detectar incluso cuando el campo visual es clasificado como normal[85]. Esto se entiende fácilmente si tenemos en cuenta que, a los pacientes con glaucoma casi siempre se les realiza como técnica diagnóstica un campo visual cuyos puntos están separados 6° (por ejemplo el 24-2 de Humphrey Field Analyzer, Zeiss, Inc). Este test no tiene apenas capacidad para detectar el daño macular incipiente, ya que los puntos centrales del mismo caen lejos de la zona de mayor densidad de células ganglionares[86].

### 5.3 Defectos centrales en el campo visual en el glaucoma incipiente

Numerosos estudios indican que el daño precoz, e incluso inicial, del campo visual en el glaucoma no solo ocurre en las clásicas regiones arciformes del campo visual 24-2, sino que también se producen defectos arciformes maculares en el campo visual 10-2. Y puede que hasta el 50% de los pacientes con un defecto medio-moderado en el campo visual 24-2 presenten defectos en los 3º centrales[72], [87], [88]. Está claramente demostrado que el glaucoma incipiente afecta a la mácula y que este daño puede ser infradiagnosticado con los campos visuales convencionales.

La región infero-temporal de la papila óptica se conoce como “área de vulnerabilidad macular de la papila óptica”. Esta región tiene la máxima incidencia de hemorragias peripapilares que muy frecuentemente se asocian con daño glaucomatoso[89]. Además, los pacientes con afectación macular tienen mayor frecuencia de hemorragias peripapilares al compararlos con pacientes sin afectación macular[90]. Justo por fuera de la mácula, las regiones arciformes superior e inferior presentan también una alta vulnerabilidad al daño glaucomatoso, estas son las regiones que se asocian a los clásicos defectos arciformes del campo visual.

Los axones de las células ganglionares de la parte inferior de la mácula entran en el nervio óptico por ella zona infero-temporal, mientras que los de la parte superior entran por el cuadrante temporal. Esto es importante ya que los cuadrantes superior e inferior de la papila son los más vulnerables al daño glaucomatoso, mientras que el cuadrante temporal, conocido también como haz papilomacular, se afecta menos[91], [92]. Esto

podría explicar porqué los defectos del campo visual central son más frecuentes en el área superior.

No está muy clara la razón por la que la región infero-temporal de la papila óptica es la región mas vulnerable del disco. Existen diferentes hipótesis como que el daño sea proporcional a la densidad de axones o razones morfológicas como el tamaño de los poros de la lámina cribosa que se relaciona con la densidad de axones[93].

También puede producirse un daño difuso en la mácula, por lo que, aunque en general la región superior y centrocecal de la mácula se ven menos afectadas, también se producen en ellas daños glaucomatosos.

Gracias a los nuevos OCTs está cambiando la manera en la que se diagnóstica y se sigue a los pacientes con glaucoma, pero nuestra capacidad para comparar los datos que nos dan las imágenes obtenidas con los OCT y los cambios que se producen en el campo visual es limitada.

Existen numerosos estudios que concluyen que la sensibilidad y especificidad de las medidas grosor de las células ganglionares en el área macular y las medidas del grosor de la RNFL peripapilares son similares[8], [22], [25], [35], [94]. Sin embargo estas medidas no ofrecen la misma información, sería de esperar que medidas de las GCL sean mejores para diagnosticar el daño macular, mientras que la RNFL peripapilar sea mejor test para diagnosticar el daño glaucomatoso fuera de la mácula.





# JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS





# JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

## 1. Justificación

El glaucoma es una de las causas más frecuentes de ceguera irreversible en los países desarrollados. 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. La atrofia que se desarrolla en el glaucoma de cualquier tipo tiene las siguientes características:

- Muerte progresiva de las células ganglionares retinianas.
- Alteración histopatológica del nervio óptico, que se manifiesta como un aumento de la excavación papilar.
- Deterioro secuencial del campo visual con unos patrones característicos.

Aunque consideramos el glaucoma como una enfermedad del nervio óptico, su patogenia se caracteriza por la muerte de las células ganglionares. Existen aproximadamente 1 millón de células ganglionares en el ojo humano que, durante la vida disminuyen aproximadamente un 25%.

El enfoque de la enfermedad debe estar orientado a establecer un diagnóstico precoz para permitir un seguimiento adecuado y un tratamiento efectivo. No existe todavía una

prueba lo suficientemente sensible y específica que se pueda usar como único método de diagnóstico precoz y seguimiento de la enfermedad, es por ello que, la mejora en las técnicas diagnósticas puede contribuir a una disminución del número de ciegos legales por glaucoma, así como a una disminución de los gastos directos por tratamiento y los derivados de incapacidades, y a un mayor nivel de salud y calidad de vida en la población con dicha enfermedad.

Hasta el momento, los cambios que tienen lugar en la evolución de la enfermedad, se han podido detectar en el plano de los cambios funcionales mediante el estudio del campo visual, y respecto a los cambios estructurales mediante técnicas de diagnóstico que miden el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina y analizan la morfología de la cabeza del nervio óptico, pero actualmente se ha desarrollado la posibilidad, mediante la Tomografía de Coherencia Óptica, de realizar un análisis de las células ganglionares maculares, es decir, directamente hacer una evaluación en la base patogénica de la enfermedad.

Aunque hasta el momento nos centrábamos en el análisis de los axones de las células ganglionares, la OCT ha demostrado ser una herramienta capaz de medir la capa de células ganglionares así como de otras capas de la retina a nivel macular con buena reproducibilidad, además de que dicho análisis tiene la ventaja de que no existe apenas variabilidad interindividual en la población de células ganglionares de la retina en el área parafoveal.

Durante los últimos años ha habido un gran desarrollo de las pruebas de imagen del

segmento posterior. Para optimizar su uso, los resultados de estas pruebas son comparados con los rangos normales que se obtienen de las bases de datos normativas. Los voluntarios sanos que se incluyen en las bases de datos normativas deben ser representativos de los pacientes en los que el test será usado con objetivo diagnóstico, por lo que deben ser elegidos entre la misma población. El número de voluntarios sanos incluido debe ser lo suficientemente grande para caracterizar a la población de referencia, incluyendo las múltiples variaciones posibles.

## 2. Hipótesis

La hipótesis de la presente tesis doctoral es que el estudio de la mácula a través de una base de datos de normalidad desarrollada con el OCT-Spectralis puede ofrecer un diagnóstico más precoz de las alteraciones estructurales que se producen en los pacientes con glaucoma y/o sospechosos de glaucoma.





# OBJETIVOS



## OBJETIVOS

### 1. Objetivo principal

El objetivo principal de la presente Tesis Doctoral es desarrollar una base de datos de normalidad de las capas internas de la retina en el área macular utilizando el OCT-Spectralis, en una población sana y caucásica.

### 2. Objetivos secundarios

1. Estudiar la relación del grosor y el volumen de las capas internas de la retina con al edad, la longitud axial y el sexo en pacientes sanos.
2. Validar los resultados obtenidos en la base de datos de normalidad en una población independiente de sujetos sanos y pacientes con glaucoma.
3. Establecer el mejor parámetro estructural del OCT-Spectralis en el área macular para el diagnóstico en pacientes con glaucoma.
4. Estudiar las diferencias entre la capacidad diagnóstica del grosor de las capas internas de la retina y el grosor de la capa de fibras nerviosas en el área peripapilar.





# SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS





## SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS

El protocolo que se desarrollará a continuación está enmarcado dentro de un estudio multicéntrico europeo llevado a cabo en los departamentos de glaucoma del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, el Hospital Miguel Servet de Zaragoza y el Hospital UZ Leuven de Lovaina (Bélgica).

Para su desarrollo dividiremos el protocolo en dos estudios, que se resumen a continuación. El propósito del Estudio I es establecer los valores de normalidad de las capas internas de la retina, RNFL, capa de células ganglionares y plexiforme interna, en el área macular en pacientes caucásicos sanos para crear una base de datos de normalidad usando el OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Germany).

Una vez establecidos los valores de normalidad en una población determinada, en este caso voluntarios sanos reclutados en el Hospital Clínico San Carlos estos datos deben validarse con sujetos sanos y glaucomatosos en otra población diferente pero que sea comparable, en el caso de nuestro segundo estudio, los pacientes y voluntarios sanos del Hospital UZ Leuven y el Hospital Miguel Servet.

# **1. ESTUDIO I: Base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina en el área macular medido con OCT de dominio espectral.**

## **1.1 Tipo de estudio y diseño del mismo**

Se trata de un estudio observacional, descriptivo, de tipo transversal. Durante su desarrollo se reclutaron pacientes y voluntarios sanos del Hospital Clínico San Carlos que no presentasen patología ocular presente en los criterios de exclusión.

Para adquirir los datos, se utilizó una imagen de OCT de dominio espectral de la mácula (Spectralis OCT, Heidelberg Engineering) : “Macular dense mode scan protocol.” El tomógrafo de coherencia óptica Spectralis (Heidelberg Engineering) es un equipo que combina la adquisición de imagen de fondo del ojo mediante un oftalmoscopio confocal de barrido de láser con el procedimiento de adquisición de imágenes de sección transversal mediante el tomógrafo de coherencia óptica Spectral-Domain (SD-OCT).

## **1.2 Selección de los sujetos**

### **1.2.1 Criterios de inclusión**

1. Personas de ambos sexos con edad para otorgar el consentimiento legal.
2. Agudeza visual mayor o igual a 20/40 (Optotipo Snellen).

3. Refracción: menos de 5 dioptrías de equivalente esférico, menos 3 dioptrías de cilindro.
4. Medios ópticos transparentes.
5. Obtención de la firma del consentimiento informado antes de cualquier procedimiento del estudio.
6. Posibilidad de completar el curso del estudio y cumplir adecuadamente con las instrucciones que se le den.
7. Criterios de calidad de la OCT: Imágenes bien centradas en la mácula, con una intensidad de señal superior a 20 dB y una segmentación automática bien realizada por el OCT-Spectralis siguiendo los límites de las diferentes capas estudiadas.

#### 1.2.2 Criterios de exclusión:

1. Enfermedad general (p. ej., hipertensión, diabetes) no controlada.
2. No cumplimiento de los criterios de inclusión.
3. Antecedente de patología neurooftalmológica, glaucoma, patología retiniana y/o macular.
4. Falta de colaboración para realizar las pruebas.
5. Cualquier enfermedad ocular activa (p. ej., uveítis, infecciones oculares o sequedad ocular intensa).

6. Enfermedades o situaciones oculares que contraindiquen la realización de las pruebas previstas.
7. 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.
8. No cumplimiento de los criterios de calidad de la imagen de OCT.

### 1.2.3 Criterios diagnósticos para las patologías en estudio

Se incluyeron en el estudio todos los voluntarios sanos que acudieron a las consultas de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos y otorgaron su consentimiento informado.

Las siguientes pruebas se llevaron a cabo en todos los sujetos:

1. Historia médica general y oftalmológica
2. Auto-Refractometría
3. Biometría con Lenstar
4. Agudeza Visual con Snellen medida a una distancia de 6 metros
5. Biomicroscopía en lámpara de hendidura
6. Presión intraocular
7. Oftalmoscopia para valoración de mácula y nervio óptico

## 8. Tomografía de Coherencia Óptica Spectralis

### 1.3. Calendario de visitas

El estudio se llevó a cabo en una única visita en la que se realizó una anamnesis completa del paciente, incluyendo sus antecedentes oculares, sistémicos y las medicaciones concomitantes. Tras la anamnesis, el protocolo que se siguió fue el siguiente:

1. Agudeza visual mejor corregida.
2. Auto-Refractometría
3. Exploración con lámpara de hendidura y presión intraocular.
4. Revisión de criterios de inclusión / exclusión.
5. Firma del consentimiento informado.
6. Biometría con Lenstar.
7. Tomografía de Coherencia Óptica Spectralis
8. Exploración de fondo de ojo.
9. Acontecimientos adversos.

## 1.4. Aspectos éticos

Este estudio se acogió a las recomendaciones de buena práctica clínica y normativa legal al respecto. Por lo que todos los investigadores involucrados firmaron un certificado de haber leído y entendido esta declaración.

Todos los pacientes fueron verbalmente informados durante la visita de inclusión en el estudio por uno de los investigadores.

En aras de garantizar la confidencialidad de los voluntarios solo tuvieron acceso a los datos los investigadores, el comité de ética y las autoridades sanitarias correspondientes. Se guardaron todas las medidas necesarias para que los pacientes no fueran identificados y las medidas de confidencialidad en todo caso se cumplirán con la ley orgánica sobre protección de datos de carácter personal (Ley 15/99).

## **2. ESTUDIO II: Rentabilidad diagnóstica del grosor macular de las capas internas de la retina medido con SD-OCT Spectralis para diferenciar entre ojos normales y ojos con glaucoma.**

### 2.1 Objetivos y diseño del estudio

El objetivo de este estudio observacional y transversal era establecer la capacidad diagnóstica del grosor de las capas internas de la retina en el ara macular del SD-OCT Spectralis para diferenciar entre sujetos sanos y pacientes con glaucoma utilizando una base de datos normativa.

Se seleccionó una población independiente para la validación externa de la base de datos normativa desarrollada en el estudio I, por lo que los pacientes incluidos en este estudio proceden de Leuven (Bélgica) y Zaragoza (España).

Tras realizar una exploración completa del ojo incluyendo: una revisión de la historia clínica, biomicroscopía, medida de la PIO, fondo de ojo sin dilatar, perimetría automática estándar en los pacientes de glaucoma; se realizó una OCT macular utilizando el protocolo “Dense” del OCT-Spectralis. Se anotaron las medidas de grosor y volumen para el área macular del grosor retiniano, de la RNFL, CGL e IPL. Para cada paciente solo se seleccionó un ojo de manera aleatoria. En los pacientes que presentaban asimetrías en la agudeza visual, se incluyó el ojo con mejor agudeza visual final corregida. Para asegurar la máxima calidad y reproducibilidad, el protocolo del estudio se siguió rigurosamente.

El diagnóstico de glaucoma primario de ángulo abierto fue realizado en todos los casos por un glaucomatólogo experto. Se clasificaron como glaucoma aquellos pacientes que presentaban una PIO > 21 mmHg, defecto glaucomatoso en la perimetría automática

estándar y neuropatía óptica glaucomatosa.

Para comparar la capacidad diagnóstica de los parámetros maculares con el análisis convencional de la RNFL a 48 de los pacientes seleccionados se les realizó una OCT de RNFL peripapilar con el protocolo convencional del OCT-Spectralis

## 2.2 Selección de los sujetos

### 2.2.1 Criterios de Inclusión

Pacientes con glaucoma:

1. Mayores de 18 años
2. Diagnóstico previo de glaucoma primario de ángulo abierto incipiente-moderado.
3. Defecto refractivo menor de +/- 5 Dioptrías

Voluntarios sanos:

1. Mayores de 18 años.
2. Defecto refractivo menor de +/- 5 Dioptrías

Cumplimiento de los criterios de calidad de la OCT: Imágenes bien centradas en la mácula, con una intensidad de señal superior a 20 dB y una segmentación automática bien realizada por el OCT-Spectralis siguiendo los límites de las diferentes capas

estudiadas.

### 2.2.2 Criterios de Exclusión

Pacientes con Glaucoma:

1. Antecedentes personales de patologías maculares, retinianas o neurooftalmológicas.

Voluntarios sanos:

1. Antecedentes personales de patologías maculares, retinianas o neurooftalmológicas.
2. Antecedentes personales de glaucoma.

No cumplimiento de los criterios de calidad de la OCT.

## 2.3. Aspectos éticos

El estudio se realizó siguiendo las recomendaciones de la declaración de Helsinki (2008). Se cumplieron los requisitos de buena práctica clínica de acuerdo a todos los reglamentos aplicables. Se desarrollo un protocolo y consentimiento informado que se presentaron al comité de ética del Hospital Universitario de Leuven.

El estudio se llevó a cabo previo consentimiento informado de todos los sujetos que

decidieron voluntariamente participar en el mismo. Se obtuvo un consentimiento informado firmado de todos los pacientes antes de su inclusión en el estudio. Este consentimiento informado contaba con la aprobación del comité de ética del Hospital Universitario de Leuven.

La siguiente información fue recuperada para cada paciente de la base de datos KWS (UZ Leuven): historial médico personal, agudeza visual, desviación media y otros parámetros de la perimetría automática estándar y parámetros del OCT. Toda la información y los datos fueron tratados como confidenciales y no se reveló dicha información a terceros ni se utilizó dicha información para ningún otro propósito que no fuera el desarrollo del estudio. Para la recogida, el tratamiento y la divulgación de los datos personales, se cumplió con la protección de datos personales aplicable y el tratamiento de los datos personales (Directiva 95/46 / CE y ley belga de 8 de diciembre de 1992 sobre protección de la privacidad en el tratamiento de datos personales). Para proteger los datos personales de los sujetos incluidos en el estudio y según consta en el consentimiento informado, el nombre del sujeto u otros identificadores se almacenaron por separado de sus datos de investigación y se sustituyeron por un código único para crear una nueva identidad para el sujeto

Los datos se registraron electrónicamente en una hoja de cálculo. Para cada paciente, se registró un identificador anónimo único, la edad, el sexo, la desviación media de la perimetría automática estándar y el espesor de las capas maculares internas.

### **3. CONSENTIMIENTOS INFORMADOS**

Todos los pacientes de los dos estudios firmaron una copia del consentimiento informado tras una explicación detallada de las pruebas realizadas en cada uno de los estudios así como el propósito del mismo.

Se comunicaba verbalmente a todos los participantes la posibilidad de abandonar el estudio en cualquier momento sin que esto supusiera un perjuicio en su atención médica.

En el Anexo I y II se muestran los consentimientos informados.

## 4. HISTORIA CLÍNICA Y EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA

### 4.1 Historia clínica

Previamente a la realización de las pruebas se realizó una minuciosa historia clínica al paciente.

- Datos epidemiológicos: edad, sexo y raza.

- Se interrogó al paciente sobre sus antecedentes personales generales (diabetes, hipertensión, enfermedades neurológicas y/o neurodegenerativas y cualquier enfermedad general no controlada) con el fin de descartar la presencia de cualquier criterio de exclusión del estudio.

- Se interrogó al paciente respecto a sus antecedentes personales oftalmológicos (glaucoma, hipertensión ocular, uveítis, degeneración macular, patologías retinianas o neurooftalmológicas) con el fin de descartar la presencia de cualquier criterio de exclusión del estudio.

### 4.2 Exploración oftalmológica

4.2.1 Determinación de la agudeza visual mejor corregida para visión lejana.

4.2.2 Exploración con lámpara de hendidura: En la exploración se objetivó la

normalidad del estado del ojo, así como la existencia de algún criterio de exclusión.

4.2.3 Determinación de la PIO: Se realizó mediante tonometría de aplanación, utilizando el tonómetro de Perkins en los pacientes procedentes del Hospital Clínico San Carlos y con tonómetro Goldmann en los pacientes procedentes de los Hospitales UZ Leuven y Miguel Servet, tras la instilación de fluoresceína sódica 2,5 mg/ml y clorhidrato de oxibuprocaina 4 mg/ml (Fluotest colirio, Alcon Cusi, Barcelona, España). No se realizaron ajustes de los valores de presión intraocular por paquimetría.

4.2.4 Biometría: Se determinó la longitud axial y la queratometría utilizando el biómetro óptico Lenstar LS 900® (Haag-Streit AG, Koeniz, Switzerland).

4.2.5 Tomografía de coherencia óptica: A todos los participantes del estudio se les realizó una OCT macular sin dilatación de la pupila mediante Spectralis OCT (Heidelberg Engineering). El escáner se llevó a cabo utilizando un cubo de 20x20 grados con 49 cortes transversales separados 120  $\mu\text{m}$  (protocolo macular “Dense”). El sistema de fijación automático mantuvo la fijación en la retina. Solo las imágenes bien centradas y con una intensidad de señal mayor a 20 dB fueron incluidas en el análisis.

Los grosores maculares y de las capas internas de la retina se expresaron según los sectores publicados en el Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study (ETDRS). Los anillos de 1, 3 y 6 mm fueron considerados para el análisis. Los anillos intermedio y

externo se dividieron en 4 zonas que se designaron como superior, nasal, inferior y temporal. Los valores obtenidos de cada una de las 9 áreas así como los volúmenes se usaron en el análisis.

Para la obtención de los grosores de las capas internas de la retina se utilizó el software de segmentación del Spectralis OCT (versión 6.0c). Se incluyeron: grosor retiniano, RNFL, CGL e IPL. Todas las imágenes de OCT fueron obtenidas por el mismo investigador experimentado y no se realizaron ajustes en la segmentación automática de las imágenes.

A 48 pacientes del estudio se les realizó, además del OCT macular, un OCT de capa de fibras nerviosas peripapilar utilizando el análisis convencional del OCT-Spectralis. El grosor de la RNFL peripapilar se mide mediante un anillo circular de 3,5 mm de diámetro centrado en la papila de manera manual. El grosor de la RNFL peripapilar se segmenta automáticamente utilizando el software específico del OCT-Spectralis. En todos los pacientes se comprobó que la orientación fovea-disco era correcta y se modificó en los casos que fueron necesarios. Se recogieron para el análisis posterior los valores de grosor para los sectores temporal inferior, temporal superior, temporal, nasal inferior, nasal superior, nasal y global. Así mismo, se anotó la clasificación de todos los sectores, comparada con la base de datos de normalidad del OCT-Spectralis para la RNFL peripapilar, como normal, borderline y fuera de límites normales.

## 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el desarrollo de esta tesis se diseñaron dos bases de datos, una por cada estudio, en las que se registraron todas las variables estudiadas. Siguiendo la ley de protección de datos a cada paciente se le asignó un identificador único. Posteriormente la información se importó al programa estadístico SPSS 15.0 para realizar los cálculos estadísticos.

### 5.1 Estudio I

#### 5.1.1 Tamaño muestral

El número de pacientes se estimó siguiendo las recomendaciones del simposio de expertos, publicado en septiembre de 2014, en el que se establecieron las normas que debían seguir las bases de datos normativas para pruebas estructurales en el glaucoma[6]. En el mismo recomiendan que debe haber aproximadamente 300 sujetos sanos para desarrollar una base de datos normativa.

Para el análisis de los resultados se dividió a los pacientes en 4 grupos según su edad de forma uniforme, de manera que cada grupo de edad englobara un rango de 15-17 años. Por lo que se crearon cuatro grupos, el primero desde los 18 a los 33 años, el segundo desde los 34 a los 50, el tercero de los 51 a los 68 años y el último de mayores de 69 años.

#### 5.1.2 Análisis estadístico

Para este estudio solo se seleccionó un ojo por paciente de manera aleatoria. Los resultados del análisis descriptivo se presentan como: media, rango, desviación estándar, percentil 1, 5 y 95. La correlación entre las diferentes medidas se realizó utilizando los coeficientes de correlación de Pearson. Se realizó un análisis multivariante para analizar los efectos de la edad, sexo y longitud axial. Una  $p < 0,05$  se consideró estadísticamente significativa. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el programa SPSS versión 15 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## 5.2 Estudio II

### 5.2.1 Tamaño muestral

Para detectar 4  $\mu\text{m}$  de diferencia en el grosor de las capas internas de la retina entre los grupos con una potencia estadística del 80% y un nivel de significación estadística del 5%, se debían incluir al menos 33 pacientes en el estudio. Dada su edad avanzada, se tuvo en cuenta que algunas imágenes tendrían que ser excluidas por baja calidad debido a cataratas avanzadas o artefactos del OCT. Por lo tanto, se planeó reclutar un mínimo de 50 pacientes en cada grupo.

### 5.2.2 Análisis estadístico

Los parámetros demográficos y los parámetros maculares se analizaron mediante estadística descriptiva (media  $\pm$  desviación estándar). Los espesores medios de la RNFL macular, CGL, IPL y RNFL peripapilar se compararon entre sujetos controles y

pacientes con glaucoma incipiente-moderado utilizando la prueba t de Student.

La capacidad diagnóstica de cada variable para diferenciar entre ojo sanos y ojos con glaucoma se determinó calculando la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa y la Odds Ratio diagnóstica. El punto de corte utilizado fue el obtenido como percentil 5 en la base de datos normalidad para cada grupo de edad.

Con el mismo fin se calcularon las áreas bajo las curvas ROC (receiver operating characteristics curve), estas se utilizaron con dos propósitos específicos: evaluar la capacidad diagnóstica de cada variable y comparar la capacidad discriminativa entre los diferentes parámetros maculares y peripapilares. Un área bajo la curva de 1,0 representa la discriminación perfecta entre sanos y pacientes con glaucoma, mientras que un área bajo la curva de 0,5 representa que el parámetro no tiene capacidad diagnóstica. Así mismo se estudiaron las diferencias entre las curvas ROC de los parámetros maculares y las curvas ROC de los parámetros peripapilares utilizando el método de DeLong et al. (1988).

Todas las pruebas estadísticas se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS versión 15 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). La significación estadística se estableció con una P menor de 0,05.





# RESULTADOS





## RESULTADOS

### 1. ESTUDIO I

Para la realización de este estudio un total de trescientos voluntarios sanos de origen caucásico fueron examinados. En tres casos las imágenes obtenidas no eran de suficiente calidad presentando artefactos en la segmentación macular y fueron excluidas. Doscientos noventa y siete sujetos fueron incluidos finalmente en el estudio (179 mujeres y 118 varones).

La media de edad fue de 56,07 +/- 18,72 años (rango 40,50 - 72). La media de la longitud axial fue de 23,44 +/- 1,14 mm (rango 22,61 - 24,16). La media de la queratometría fue de 43,89 +/- 3,04 (rango 42,93 - 44,06). Después de la aleatorización se incluyeron 150 ojos derechos y 147 ojos izquierdos. Para el análisis de los datos, se segmentó a los pacientes en cuatro grupos según su edad.

En la tabla 1 se muestran las características de los sujetos para cada grupo de edad.

**Tabla 1.** Características de los sujetos según su grupo de edad.

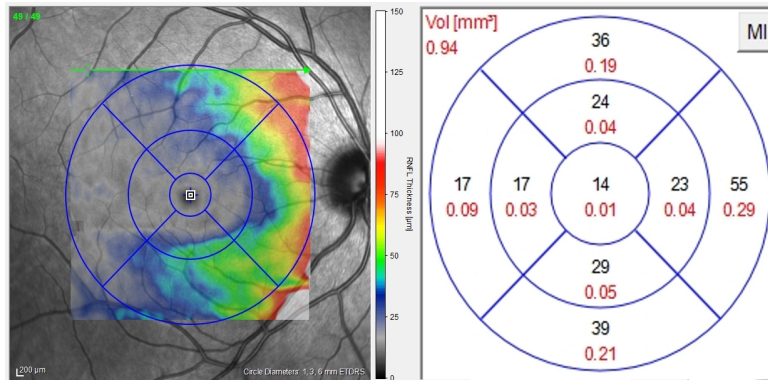
Grupo Edad	n	Sexo (varón, %)	Longitud axial	Queratometría
			Media (SD)	Media (SD)
18 - 33	56	23 (41%)	23,93 (1,11)	42,75 (1,49)
34 - 50	56	19 (33%)	23,72 (1,22)	44,76 (1,46)
51 - 68	94	38 (40%)	23,28 (1,13)	44,08 (1,58)
69 - 87	91	38 (42%)	23,14 (1,03)	44,45 (1,54)

El volumen medio de la retina fue de  $8,58 \pm 0,36 \text{ mm}^3$  (rango 8,36 – 8,81), de la RNFL fue de  $0,96 \pm 0,12 \text{ mm}^3$  (rango 0,89-1,01), de la CGL fue de  $1,03 \pm 0,12 \text{ mm}^3$  (rango 0,95 – 1,11) y de la IPL fue de  $0,88 \pm 0,7 \text{ mm}^3$  (rango 0,84 – 0,93). En las tablas 2, 3, 4 y 5 y en las figuras 1, 2 y 3 se muestra la distribución del volumen y del grosor macular en los diferentes sectores para cada una de las capas internas de la retina.

**Tabla 2.** Distribución de los grosores maculares usando Spectralis OCT.

RETINA	18 – 33 años				34 – 50 años				51 – 68 años				69 – 87 años			
	Med ia	Percentil			Med ia	Percentil			Med ia	Percentil			Med ia	Percentil		
		1	5	95		1	5	95		1	5	95		1	5	95
Vol (mm3)	8,74	8,18	8,28	9,16	8,71	8,07	8,17	9,28	8,59	7,08	8,17	9,13	8,41	7,40	7,72	9,02
Central (µm)	277	220	244	309	280	238	250	311	279	220	247	319	277	214	235	315
Nasal interno (µm)	351	325	243	372	349	325	328	372	344	313	322	367	337	300	306	368
Nasal externo (µm)	322	294	300	343	317	295	297	341	313	280	294	335	305	259	275	328
Superior interno (µm)	347	314	325	363	348	324	329	370	342	314	319	363	334	293	305	364
Superior externo (µm)	302	281	283	323	302	278	285	329	298	309	312	361	392	256	265	309
Temporal interno (µm)	331	299	306	352	334	309	311	361	329	302	309	349	323	279	299	352
Temporal externo (µm)	284	267	269	299	285	256	265	309	281	252	263	300	277	244	251	303
Inferior interno (µm)	345	318	322	370	344	321	325	370	339	309	318	361	332	292	301	361
Inferior externo (µm)	292	275	277	309	290	260	268	311	285	258	267	310	281	245	257	301

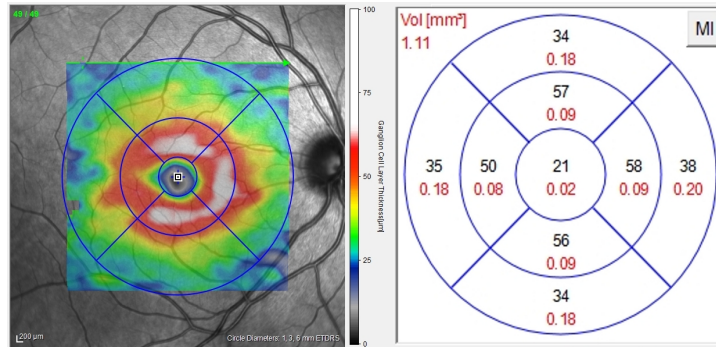
**Figura 1.** Ejemplo de grosor de la RNFL macular en un voluntario sano



**Tabla 3.** Distribución de los grosores maculares de la RNFL usando Spectralis OCT.

RNFL	18 – 33 años				34 – 50 años				51 – 68 años				69 – 87 años			
	Medi a	Percentil			Medi a	Percentil			Medi a	Percentil			Medi a	Percentil		
		1	5	95		1	5	95		1	5	95		1	5	95
Vol (mm3)	0,95	0,74	0,78	1,12	0,97	0,72	0,80	1,21	0,95	0,75	0,78	1,12	0,96	0,66	0,77	1,21
Central (µm)	12,8	7	9	16	12,5	8	8,90	15	12,7	6	9	16,3	12,9	6	8,60	17
Nasal interno (µm)	22,1	18	19	26	22,1	18	18	26	21,9	16	18	26,3	21,6	18	18	27
Nasal externo (µm)	53,2	38	39,9	68,3	52,9	39	40,9	65,3	51,5	37	39,8	66,3	50,3	27	36,8	96,4
Superior interno (µm)	24,8	19	20	30	24,9	19	20	30,1	24,2	19	20	28	24,7	19	20	32
Superior externo (µm)	37,7	29	29	48	39,6	22	32	53,4	37,9	29	29,8	44,5	39,7	25	26,6	52,4
Temporal interno (µm)	17,3	15	15,9	19,2	17,8	16	16	19	17,8	15	16	20	18,3	15	16	21
Temporal externo (µm)	18,7	16	16,9	21,3	19,3	17	17	22,2	19,9	16	17	22	20,7	17	18	24
Inferior interno (µm)	26,2	21	21,9	32,2	27,2	20	21,9	34	26,5	20	21	32,5	25,6	16	19,6	32
Inferior externo (µm)	41,4	30	31,2	51,6	42,4	27	33,4	52,8	41,4	30	32,8	55	41,1	26	30,6	54,4

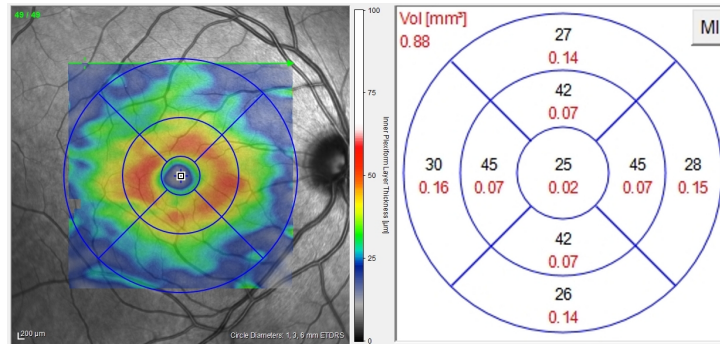
**Figura 2.** Ejemplo de grosor de la GCL en un voluntario sano



**Tabla 4.** Distribución de los grosores maculares de la CGL usando Spectralis OCT

GCL	18 – 33 años				34 – 50 años				51 – 68 años				69 – 87 años			
	Medi a	Percentil			Medi a	Percentil			Medi a	Percentil			Medi a	Percentil		
		1	5	95		1	5	95		1	5	95		1	5	95
Vol (mm3)	1,03	0,77	0,83	1,21	1,05	0,79	0,82	1,23	1,05	0,72	0,87	1,21	0,99	0,74	0,77	1,16
Central (µm)	19,6	11	12	27	18,4	10	11,9	27,1	17,1	7	10	26	16,6	7	10	26
Nasal interno (µm)	50,7	39	40,7	59,2	51,0	31	41	60,2	49,9	37	41	59	46,9	30	36	58,4
Nasal externo (µm)	35,0	24	25,9	43,2	35,4	21	25,9	44,3	35,8	22	28	42	34,0	22	24	41
Superior interno (µm)	49,6	35	38,9	59,2	50,6	37	39,9	59,3	50,2	34	39,8	58	47,4	32	36,6	58
Superior externo (µm)	32,9	23	24	40,2	33,6	26	26,9	42,1	33,9	22	27	40	32,1	23	24	38
Temporal interno (µm)	46,5	37	37,9	56	47,4	37	39,7	54,2	46,4	36	38	55	43,1	26	32,2	53
Temporal externo (µm)	34,9	25	28,9	42	35,0	24	27,8	24,2	34,8	24	29,8	41,3	33,1	22	26	40,8
Inferior interno (µm)	49,5	37	38,7	60	50,6	34	39,9	59,2	50,2	34	40	58	47,0	33	37	58
Inferior externo (µm)	31,5	22	24	38,2	31,3	23	24	38,2	31,7	20	25,8	38	30,6	22	23,6	36

**Figura 2.** Ejemplo de grosor de la IPL en un voluntario sano



**Tabla 5.** Distribución de los grosores maculares de la RNFL usando Spectralis OCT.

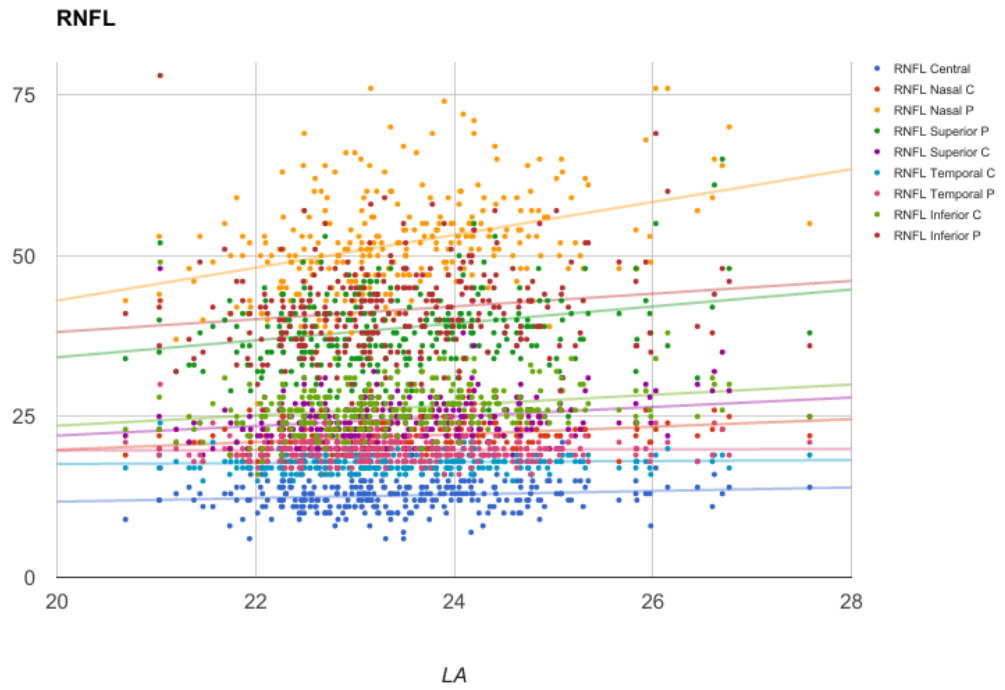
IPL	18 – 33 años				34 – 50 años				51 – 68 años				69 – 87 años			
	Medi a	Percentil			Medi a	Percentil			Medi a	Percentil			Medi a	Percentil		
		1	5	95		1	5	95		1	5	95		1	5	95
Vol (mm3)	0,91	0,77	0,79	1,01	0,91	0,77	0,79	1,04	0,89	0,72	0,77	1,00	0,85	0,65	0,72	0,96
Central (μm)	22,6	16	17	28	22,3	16	17	27,9	22,0	15	16,8	27,9	21,7	13	16	28,8
Nasal interno (μm)	44,0	39	39	48	43,6	31	37,9	48,6	42,5	37	37	48	40,1	29	33,6	47
Nasal externo (μm)	29,5	24	24,9	34	29,1	21	23,7	34,2	28,8	22	24	33,5	27,0	19	21,6	31,4
Superior interno (μm)	42,2	35	37,7	46,2	42,4	36	38,7	47,5	41,1	32	36	46,3	39,0	28	31,6	45
Superior externo (μm)	28,7	23	24	33	28,8	24	24,9	33	28,4	22	25	33	26,8	19	22	32
Temporal interno (μm)	42,2	37	37	47	43,0	36	37	49,2	41,7	32	34,8	47	39,6	29	32,6	45,4
Temporal externo (μm)	31,9	25	27	36,3	32,3	24	27,9	37	31,8	24	27	37,3	30,8	24	26	36,4
Inferior interno (μm)	42,1	37	37	46,1	42,2	34	36,9	48	41,0	33	35,8	45	38,6	29	31,6	45
Inferior externo (μm)	27,5	22	23	32,2	26,8	22	22	31,3	26,6	20	23	32	25,6	20	21,2	29,8

El análisis de correlación lineal mostró una correlación positiva ( $r= 0,267$ ) entre el volumen de la RNFL y la longitud axial ( $p < 0,001$ ). La correlación positiva entre el grosor de la RNFL y la longitud axial fue estadísticamente significativa en todos los sectores excepto en los temporales. El mayor efecto de la longitud axial sobre el grosor de la RNFL se obtuvo en el sector nasal externo ( $p < 0.001$ ,  $r^2= 0.12$ ), la ecuación para la línea de regresión lineal fue  $y = 2.552 \times LA - 8.019$ . En la tabla 6 y en las figuras 1, 2 y 3 se muestran los resultados del análisis de correlación lineal entre la longitud axial y el grosor de cada una de las capas internas de la retina.

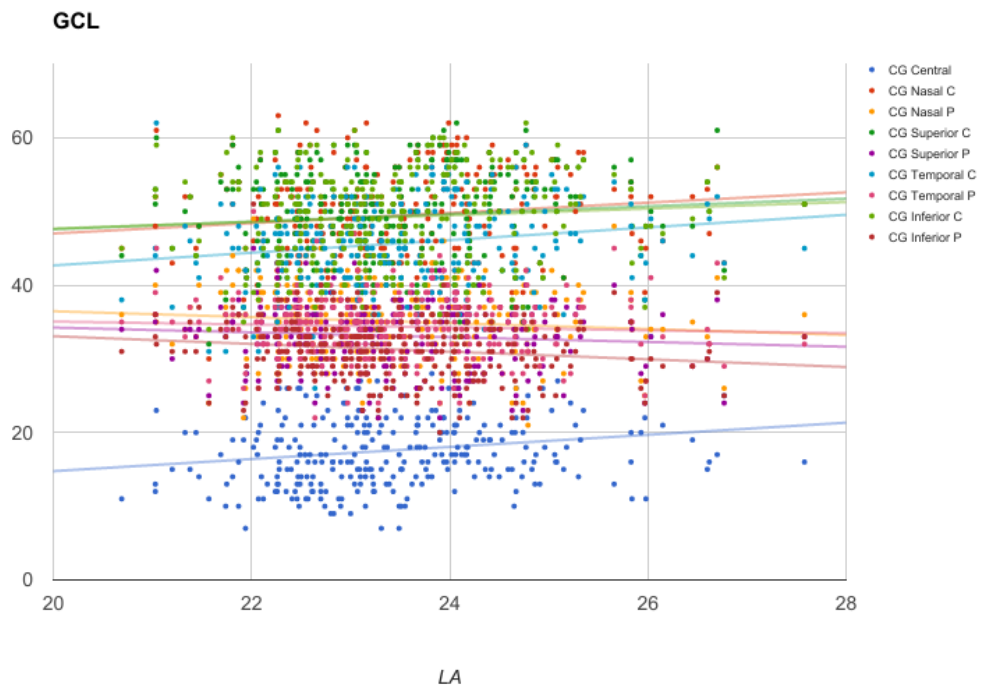
**Tabla 6.** Análisis de correlación lineal entre la longitud axial y el grosor de las capas internas de la retina.

	RETINA		RNFL		GCL		IPL	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Volumen	0,119	<b>0,041</b>	0,267	<b>&lt;0,001</b>	-0,003	0,966	0,013	0,829
Central	0,148	<b>0,011</b>	0,139	<b>0,017</b>	0,187	<b>0,001</b>	0,189	<b>0,001</b>
Nasal interno	0,170	<b>0,003</b>	0,250	<b>&lt;0,001</b>	0,128	<b>0,028</b>	0,160	<b>0,006</b>
Nasal externo	0,141	<b>0,016</b>	0,346	<b>&lt;0,001</b>	-0,092	0,116	-0,054	0,352
Superior interno	0,180	<b>0,002</b>	0,251	<b>&lt;0,001</b>	0,094	0,107	0,142	<b>0,015</b>
Superior externo	0,042	0,477	0,151	<b>0,010</b>	-0,086	0,140	-0,069	0,238
Temporal interno	0,189	<b>0,001</b>	0,065	0,270	0,178	<b>0,002</b>	0,200	<b>0,001</b>
Temporal externo	0,000	0,994	0,020	0,729	-0,054	0,359	-0,040	0,493
Inferior interno	0,166	<b>0,004</b>	0,262	<b>&lt;0,001</b>	0,081	0,166	0,114	0,051
Inferior externo	0,033	0,573	0,172	<b>0,003</b>	-0,150	<b>0,010</b>	-0,120	<b>0,040</b>

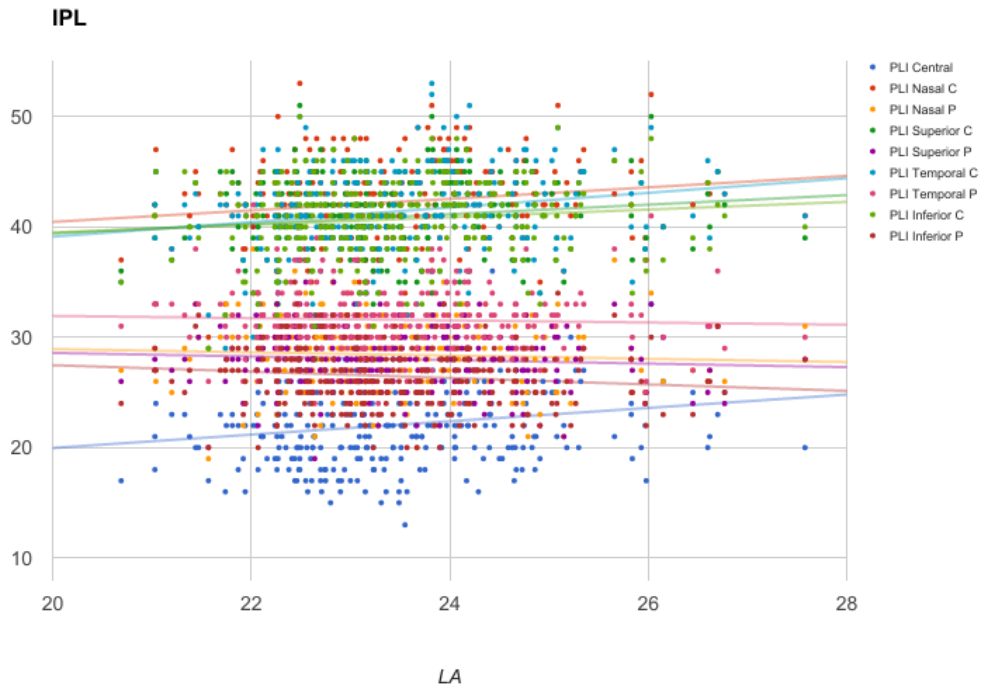
**Figura 1.** Diagrama de dispersión del grosor de la RNFL en función de la longitud axial



**Figura 2.** Diagrama de dispersión del grosor de la GCL en función de la longitud axial



**Figura 3.** Diagrama de dispersión del grosor de la IPL en función de la longitud axial

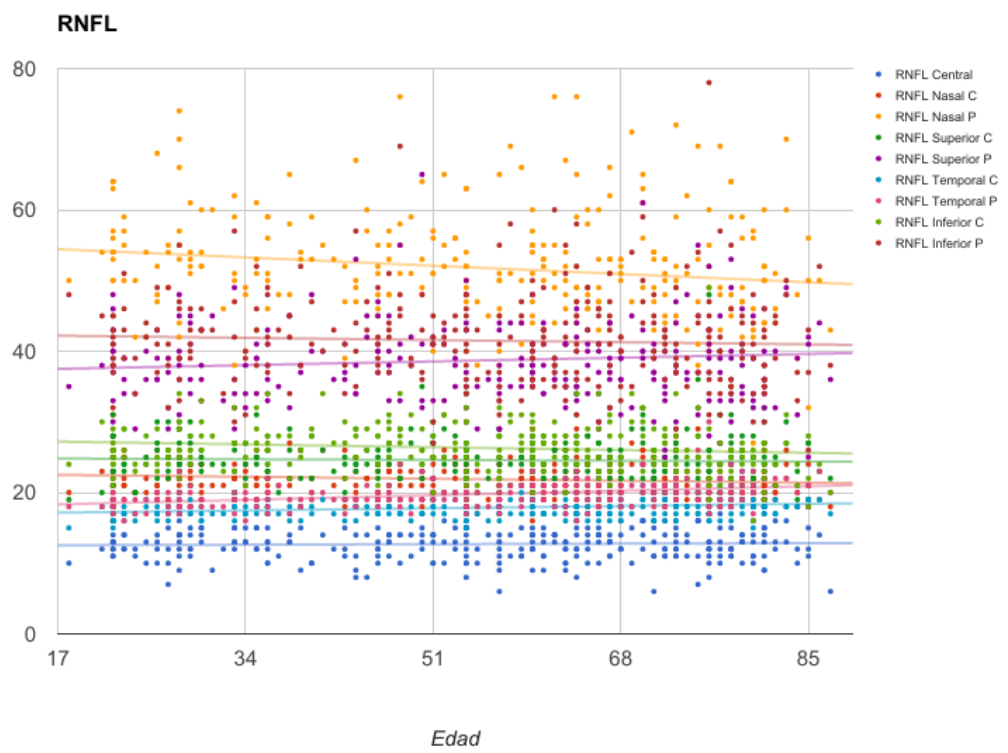


El análisis de correlación lineal mostró una correlación negativa entre la edad y el volumen de la retina ( $r = -0,351$ ), entre la edad y el volumen de la GCL ( $r = -0,117$ ) y entre la edad y el volumen de la IPL ( $r = -0,321$ ) ( $p < 0,001$ ,  $p = 0,043$  y  $p < 0,001$  respectivamente). En la tabla 6 y en las figuras 4, 5 y 6, se presenta los resultados de la correlación lineal entre la edad y el grosor en los diferentes sectores maculares. La edad presentó su máximo efecto sobre el sector temporal externo de la RNFL ( $p < 0,001$ ,  $r^2 = 0,163$ ), la ecuación para la línea de regresión lineal fue  $y = 0,038 \times \text{Edad} + 17,684$ .

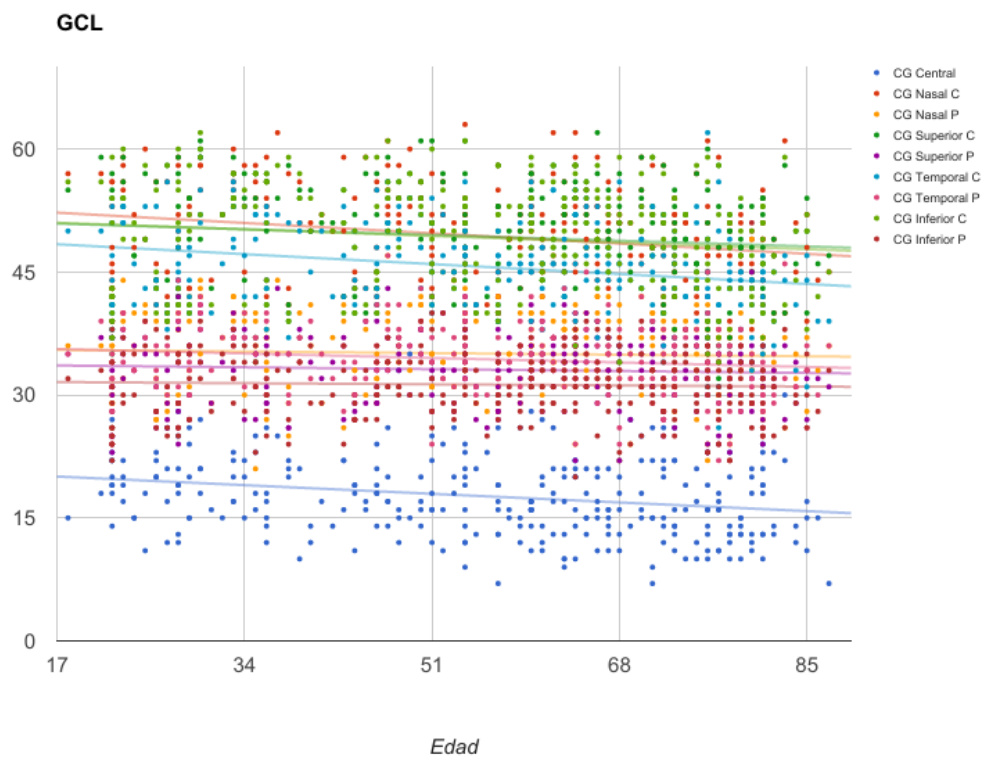
**Tabla 7.** Análisis de correlación lineal entre la edad y el grosor de las capas internas de la retina.

	RETINA		RNFL		GCL		IPL	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Volumen	-0,351	<b>&lt;0,001</b>	0,012	0,841	-0,117	<b>0,043</b>	-0,321	<b>&lt;0,001</b>
Central	-0.026	0.661	0.035	0.545	-0.231	<b>&lt;0,001</b>	-0.084	<b>&lt;0,001</b>
Nasal interno	-0.329	<b>&lt;0,001</b>	-0.111	0.057	-0.221	<b>&lt;0,001</b>	-0.397	<b>&lt;0,001</b>
Nasal externo	-0.399	<b>&lt;0,001</b>	-0.152	<b>0.009</b>	-0.043	<b>-0.043</b>	-0.272	<b>&lt;0,001</b>
Superior interno	-0.332	<b>&lt;0,001</b>	-0.035	0.548	-0.121	<b>0.038</b>	-0.367	<b>&lt;0,001</b>
Superior externo	-0.235	<b>0,001</b>	0.058	0.319	-0.058	0.322	-0.262	<b>&lt;0,001</b>
Temporal interno	-0.243	<b>&lt;0,001</b>	0.256	<b>&lt;0,001</b>	-0.242	<b>&lt;0,001</b>	-0.279	<b>&lt;0,001</b>
Temporal externo	-0.217	<b>&lt;0,001</b>	0.403	<b>&lt;0,001</b>	-0.143	<b>0.014</b>	-0.144	<b>0.013</b>
Inferior interno	-0.327	<b>&lt;0,001</b>	-0.125	<b>0.032</b>	-0.139	<b>0.017</b>	-0.382	<b>&lt;0,001</b>
Inferior externo	-0.306	<b>&lt;0,001</b>	-0.051	0.381	-0.037	0.524	-0.216	<b>&lt;0,001</b>

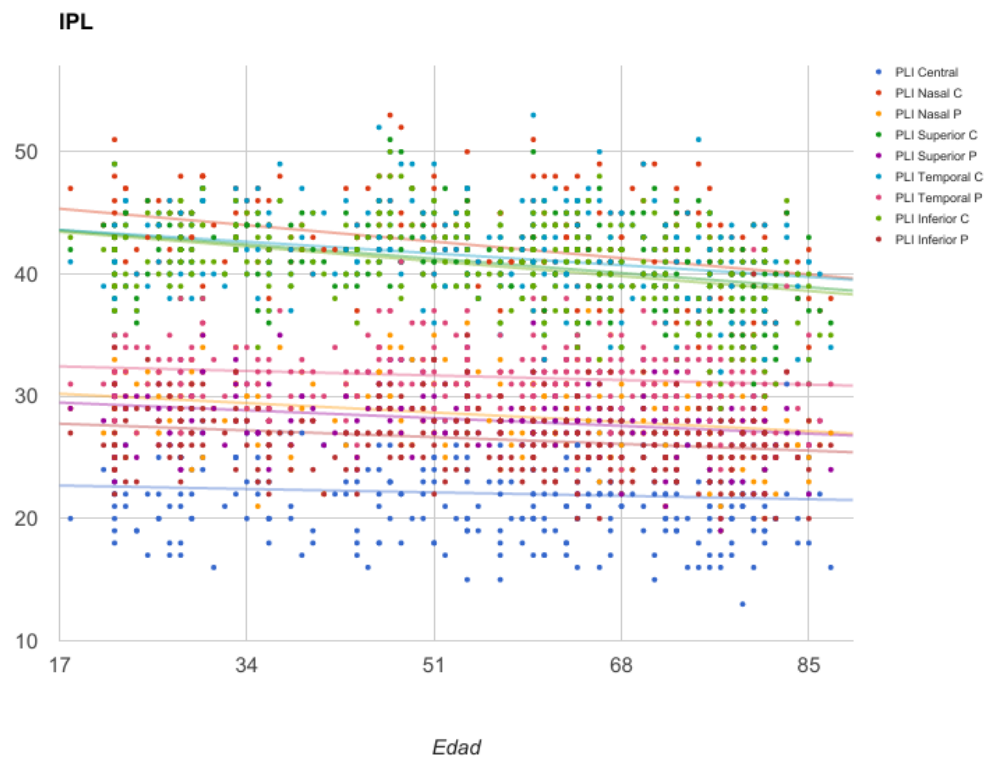
**Figura 4.** Diagrama de dispersión del grosor de la RNFL en función de la edad



**Figura 5.** Diagrama de dispersión del grosor de la GCL en función de la edad



**Figura 6.** Diagrama de dispersión del grosor de la IPL en función de la edad

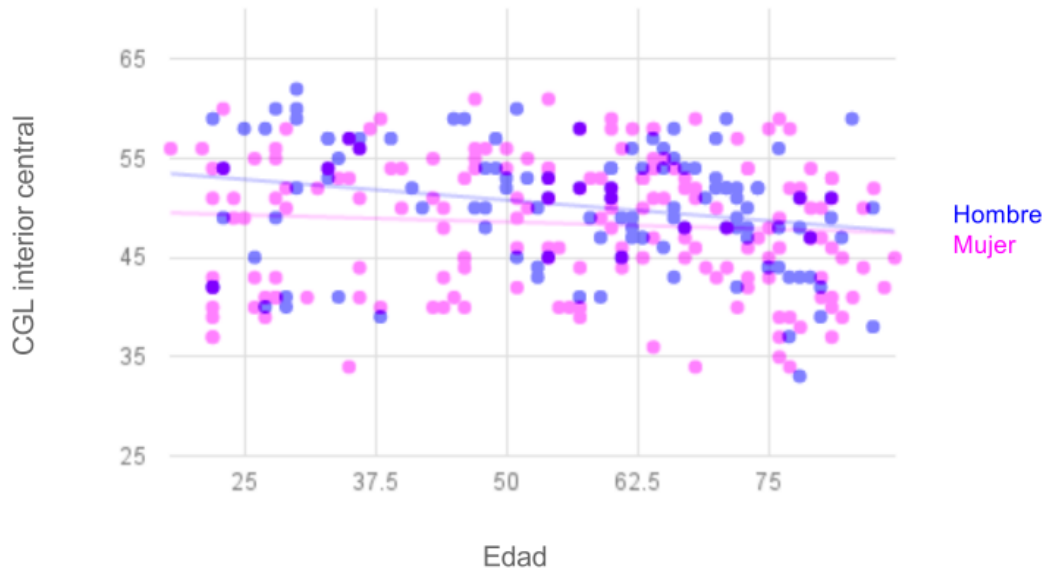


El análisis de regresión multivariable ajustado por edad mostró que el grosor y el volumen de la retina era significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en los hombres que en las mujeres en todos los sectores excepto en el temporal periférico. El grosor de la GCL fue significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en los hombres en todos los sectores excepto en el sector central. Sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los sectores central, superior externo y temporal interno entre ambos sexos en la RNFL. Solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el sector central, nasal interno, temporal interno y externo en la IPL (Tabla 8). En la figura 7 se representa gráficamente la diferencia entre hombres y mujeres para el sector inferior central de la CGL.

**Tabla 8.** Diferencias en el volumen y grosor macular entre ambos sexos obtenidas en el análisis de regresión multivariable ajustado por edad.

	RETINA			RNFL			GCL			IPL		
	Dif. H - M	Error Est.	P	Dif. H - M	Error Est.	P	Dif. H - M	Error Est.	P	Dif. H - M	Error Est.	P
Volumen	0,15	0,04	<b>&lt;0,001</b>	-0,03	0,02	0,056	0,04	0,01	<b>0,002</b>	0,02	0,01	<b>0,025</b>
Central	11,01	2,55	<b>&lt;0,001</b>	0,87	0,28	<b>0,002</b>	0,90	0,61	0,142	1,58	0,44	<b>&lt;0,001</b>
Nasa Interno	8,63	1,77	<b>&lt;0,001</b>	0,44	0,33	0,183	2,37	0,74	<b>0,002</b>	0,85	0,42	<b>0,045</b>
Nasal Externo	4,67	1,77	<b>0,009</b>	-1,27	0,99	0,202	1,32	0,62	<b>0,033</b>	0,30	0,366	0,413
Superior Interno	7,11	1,72	<b>&lt;0,001</b>	-0,09	0,41	0,823	2,09	0,77	<b>0,007</b>	0,49	0,40	0,225
Superior Externo	1,98	1,90	0,229	-3,85	1,22	<b>0,002</b>	1,43	0,53	<b>0,007</b>	0,512	0,315	0,106
Temporal Interno	8,86	1,71	<b>&lt;0,001</b>	0,42	0,16	<b>0,009</b>	1,42	0,65	<b>0,030</b>	1,11	0,44	<b>0,012</b>
Temporal Externo	8,66	1,51	<b>&lt;0,001</b>	0,02	0,20	0,925	1,63	0,51	<b>0,002</b>	1,450	0,34	<b>&lt;0,001</b>
Inferior Interno	7,87	1,73	<b>&lt;0,001</b>	0,52	0,42	0,219	1,94	0,77	<b>0,012</b>	0,62	0,398	0,120
Inferior Externo	4,35	1,6	<b>0,007</b>	-1,15	0,81	0,159	1,26	0,49	<b>0,010</b>	0,28	0,33	0,402

**Figura 7.** Diferencia en el sector central inferior de la GCL entre hombres y mujeres sanos.



## 2. ESTUDIO II

Se analizaron un total de 154 pacientes, de los cuales 3 controles y 3 pacientes con glaucoma fueron excluidos durante el emparejamiento por edad. Finalmente se seleccionaron un total de 148 pacientes (74 pacientes con glaucoma incipiente-moderado y 74 controles) de los cuales 100 fueron reclutados en el Hospital UZ Leuven (Bélgica) y 48 pacientes fueron reclutados en el Hospital Miguel Servet (Zaragoza, España). Se incluyeron un total de 67 varones y 81 mujeres. Para el análisis de los datos solo se selecciono un ojo por paciente, tras la aleatorización se incluyeron 78 ojos derechos y 70 ojos izquierdos.

La media de edad de los pacientes con glaucoma fue de 62,53 +/- 8,80 años y la media de edad de los controles fue de 61,95 +/- 9,58 años, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p=0,7$ ).

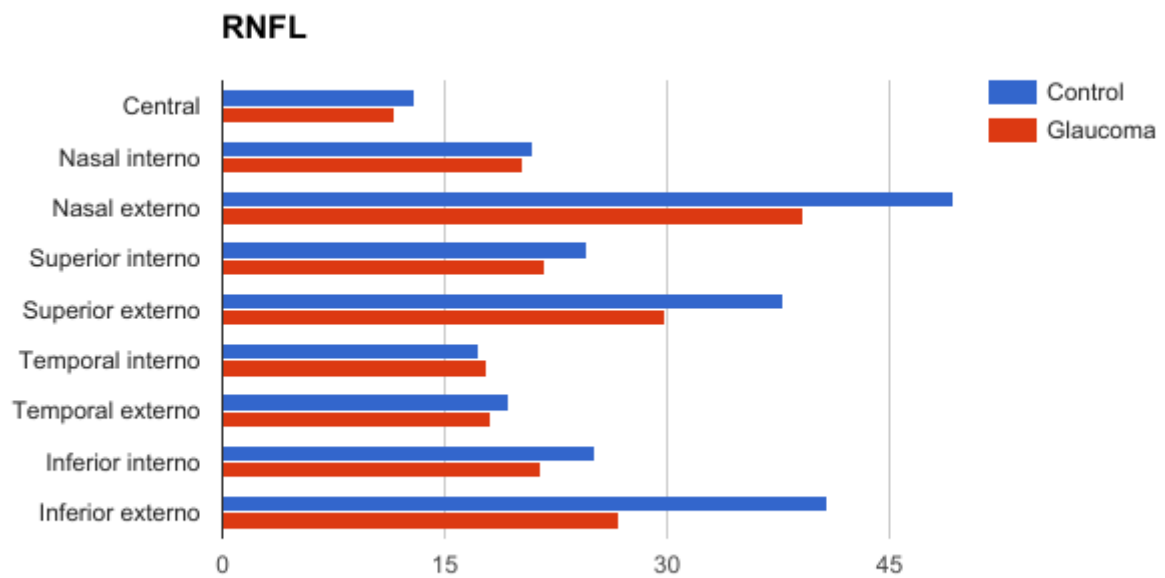
El defecto medio del campo visual en el grupo de pacientes con glaucoma fue de -5,01 +/- 2,06 dB. Siguiendo la Clasificación de Hodapp, 55 pacientes fueron clasificados como glaucoma incipiente y 19 pacientes como glaucoma moderado.

Los resultados de las medidas del grosor y volumen de la capa de fibras nerviosas maculares, capa de células ganglionares, capa plexiforme interna ( $n=148$ ) y capa de fibras nerviosas peripapilar ( $n=48$ ) se muestran en la tabla 9 y en las figuras 8, 9 y 10.

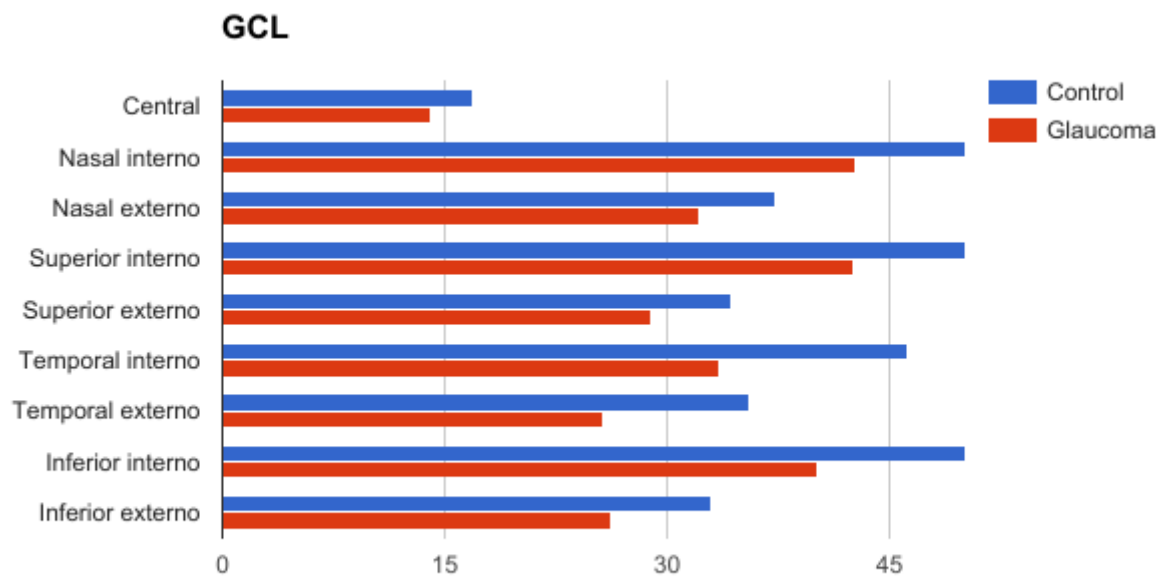
**Tabla 9.** Grosor y volumen de la capa de fibras nerviosas maculares, capa de células ganglionares, capa plexiforme interna y capa de fibras nerviosas peripapilar.

	Parámetro	Control	Glaucoma (MD > -9Db)	P
<b>RNFL mácula</b>	Volumen (mm <sup>3</sup> )	0,93 +/- 0,11	0,74 +/- 0,14	<0,001
	Central (µm)	13,03 +/- 2,55	11,59 +/- 3,00	<0,001
	Nasal interno (µm)	21,00 +/- 2,40	20,23 +/- 2,88	0,08
	Nasal externo (µm)	49,34 +/- 7,92	39,18 +/- 9,63	<0,001
	Superior interno (µm)	24,53 +/- 3,36	21,82 +/- 3,39	<0,001
	Superior externo (µm)	37,80 +/- 6,73	29,80 +/- 7,60	<0,001
	Temporal interno (µm)	17,30 +/- 1,37	17,89 +/- 1,88	0,03
	Temporal externo (µm)	19,34 +/- 1,96	18,07 +/- 2,04	<0,001
	Inferior interno (µm)	25,08 +/- 3,72	21,46 +/- 3,62	<0,001
	Inferior externo (µm)	40,76 +/- 7,26	26,77 +/- 9,18	<0,001
<b>CGL</b>	Volumen (mm <sup>3</sup> )	1,07 +/- 0,10	0,86 +/- 0,14	<0,001
	Central (µm)	16,95 +/- 5,74	14,04 +/- 4,61	<0,001
	Nasal interno (µm)	50,12 +/- 6,77	42,66 +/- 9,55	<0,001
	Nasal externo (µm)	37,26 +/- 3,72	32,20 +/- 5,53	<0,001
	Superior interno (µm)	51,36 +/- 5,89	42,57 +/- 9,95	<0,001
	Superior externo (µm)	34,32 +/- 3,52	28,88 +/- 4,69	<0,001
	Temporal interno (µm)	46,22 +/- 6,12	33,53 +/- 8,89	<0,001
	Temporal externo (µm)	35,53 +/- 4,76	25,69 +/- 5,68	<0,001
	Inferior interno (µm)	50,99 +/- 5,69	40,08 +/- 10,09	<0,001
	Inferior externo (µm)	32,91 +/- 3,50	26,27 +/- 5,39	<0,001
<b>IPL</b>	Volumen (mm <sup>3</sup> )	0,98 +/- 0,07	0,77 +/- 0,09	<0,001
	Central (µm)	22,30 +/- 4,49	20,34 +/- 3,93	0,01
	Nasal interno (µm)	42,34 +/- 3,79	37,50 +/- 5,54	<0,001
	Nasal externo (µm)	28,96 +/- 2,91	25,69 +/- 3,95	<0,001
	Superior interno (µm)	41,04 +/- 3,76	35,82 +/- 6,04	<0,001
	Superior externo (µm)	28,04 +/- 2,66	24,39 +/- 3,44	<0,001
	Temporal interno (µm)	41,39 +/- 4,04	33,81 +/- 5,56	<0,001
	Temporal externo (µm)	32,31 +/- 3,36	26,91 +/- 3,94	<0,001
	Inferior interno (µm)	40,73 +/- 3,87	34,32 +/- 6,02	<0,001
	Inferior externo (µm)	27,03 +/- 3,04	22,68 +/- 3,37	<0,001
<b>RNFL peripapilar</b>	Global (µm)	95,71 +/- 14,89	70,67 +/- 17,95	<0,001
	Temporal (µm)	69,71 +/- 15,28	59,29 +/- 12,23	0,01
	Temporal superior(µm)	133,46 +/- 19,61	96,83 +/- 28,55	<0,001
	Temporal inferior (µm)	136,88 +/- 22,90	89,38 +/- 36,71	<0,001
	Nasal (µm)	73,71 +/- 18,83	53,50 +/- 18,9	<0,001
	Nasal superior (µm)	99,75 +/- 24,50	77,04 +/- 27,36	<0,001
	Nasal inferior (µm)	104,54 +/- 24,84	76,54 +/- 27,45	<0,001

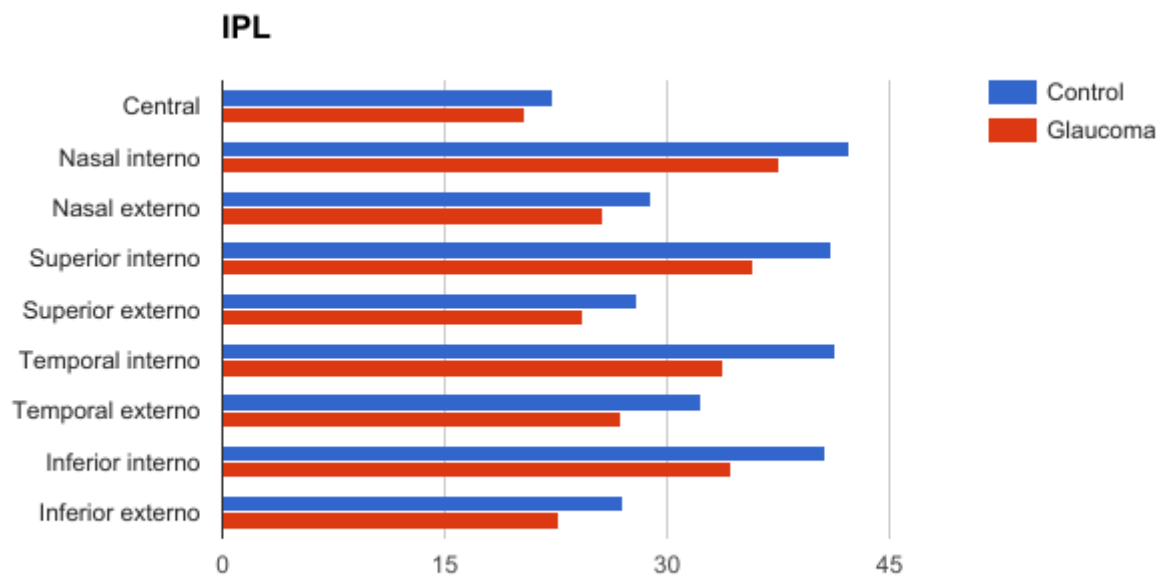
**Figura 8.** Diagrama de barras mostrando las diferencias del grosor de la RNFL macular entre controles y pacientes con glaucoma.



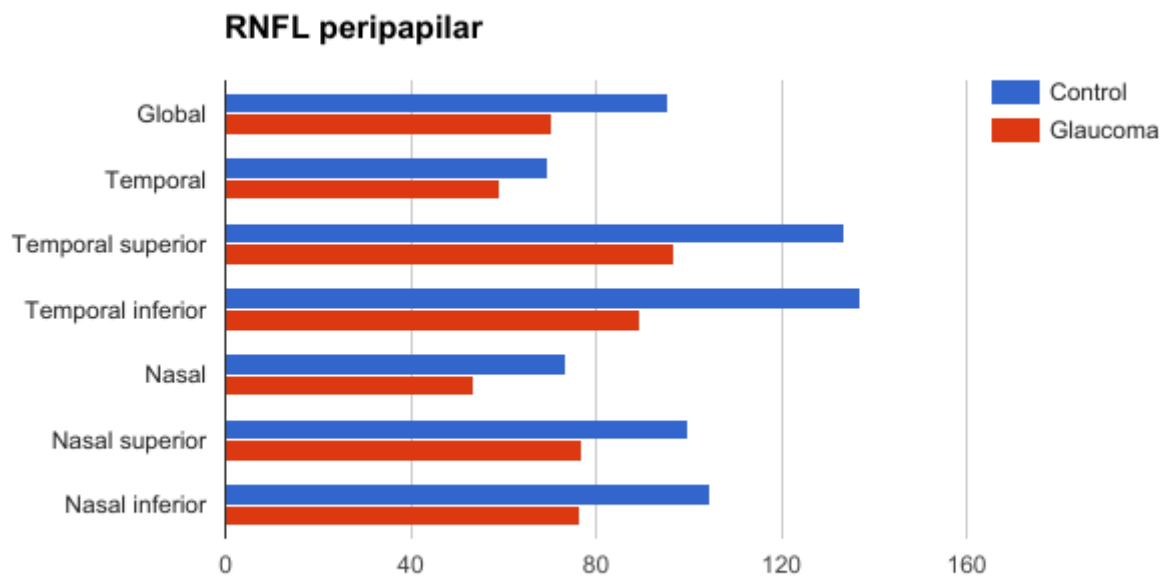
**Figura 9.** Diagrama de barras mostrando las diferencias del grosor de la GCL entre controles y pacientes con glaucoma.



**Figura 10.** Diagrama de barras mostrando las diferencias del grosor de la IPL entre controles y pacientes con glaucoma.



**Figura 11.** Diagrama de barras mostrando las diferencias del grosor de la RNFL peripapilar entre controles y pacientes con glaucoma.



En el análisis de grosor de las capas internas de la retina, se clasificó a los pacientes y a los controles como normales, borderline y fuera de límites normales según el percentil 1 y el percentil 5 obtenido para cada sector de las capas internas de la retina y para cada grupo de edad. Se clasificó como normal a todos los sujetos por encima del percentil 5, como borderline a los sujetos comprendidos entre el percentil 1 y el percentil 5, y como fuera de límites normales a todos los sujetos por debajo del percentil 1.

La clasificación del análisis de la RNFL peripapilar se realizó según la base de datos interna del OCT-Spectralis que realiza una clasificación automática. Los resultados de la clasificación se muestran en la tabla 10.

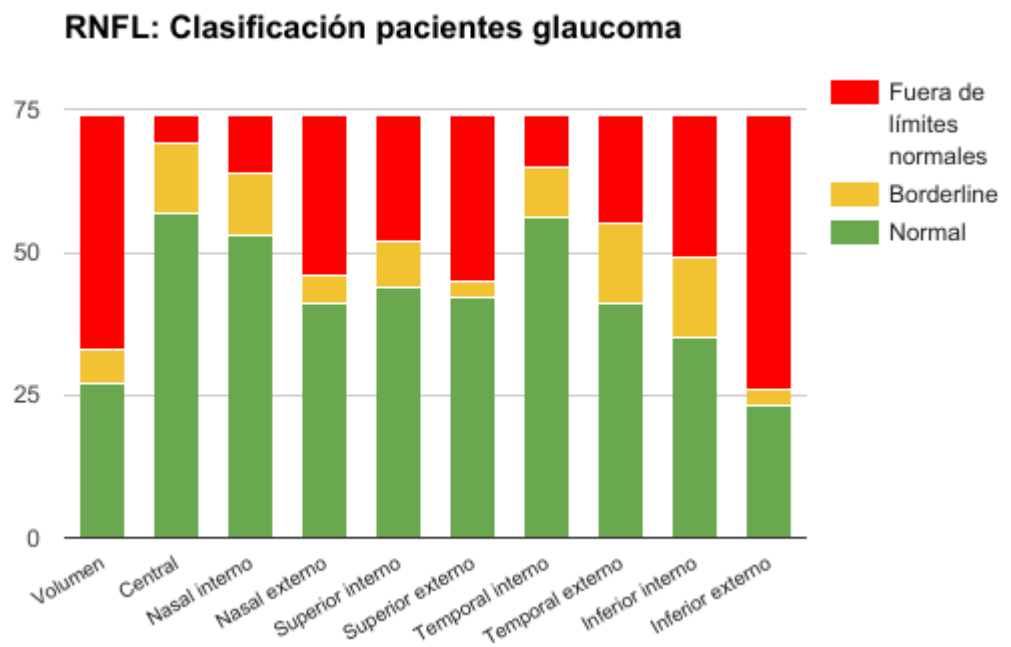
**Tabla 10.** Clasificación de los sujetos incluidos en el estudio como normales, borderline y fuera de límites normales según los resultados de la base de datos normativa.

Parámetro		Clasificación Controles			Clasificación Glaucoma		
		Normal	Borderline	Fuera de límites normales	Normal	Borderline	Fuera de límites normales
<b>RNFL macular n=148</b>	Volumen	69	4	1	27	6	41
	Central	70	3	1	57	12	5
	Nasal interno	66	6	2	53	11	10
	Nasal externo	68	4	2	41	5	28
	Superior interno	70	3	1	44	8	22
	Superior externo	72	1	1	42	3	29
	Temporal interno	55	10	9	56	9	9
	Temporal externo	60	8	6	41	14	19
	Inferior interno	65	3	6	35	14	25
	Inferior externo	66	3	5	23	3	48
<b>CGL n=148</b>	Volumen	73	1	0	37	20	17
	Central	69	5	0	56	12	6
	Nasal interno	70	3	1	53	9	12
	Nasal externo	73	1	0	57	14	3
	Superior interno	72	1	1	50	10	14
	Superior externo	73	1	0	46	21	7
	Temporal interno	69	1	4	24	5	45
	Temporal externo	66	8	1	21	21	32
	Inferior interno	71	3	0	43	12	19
	Inferior externo	73	0	1	39	22	13
<b>IPL</b>	Volumen	70	3	1	36	11	27

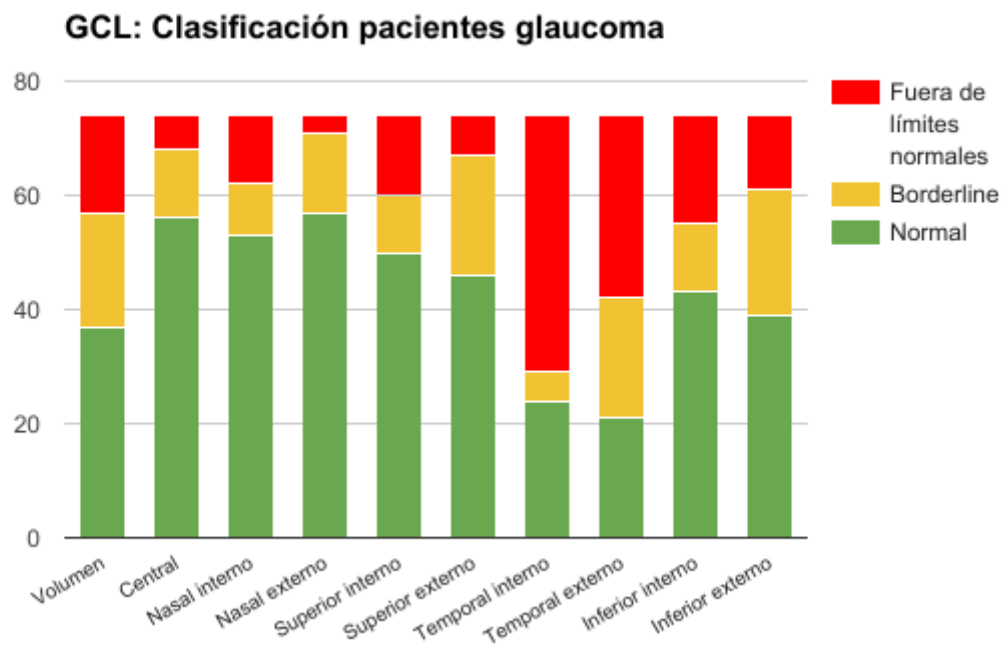
<b>n=148</b>	Central	70	1	3	63	6	5
	Nasal interno	72	0	2	44	5	25
	Nasal externo	73	1	2	49	8	17
	Superior interno	68	5	1	45	9	20
	Superior externo	67	6	1	33	20	21
	Temporal interno	72	1	1	36	3	35
	Temporal externo	72	1	1	58	7	9
	Inferior interno	71	0	3	38	12	24
	Inferior externo	67	6	1	36	22	16
<b>RNFL peripapilar n=48</b>	Global	23	0	1	7	1	16
	Temporal	23	0	1	16	4	4
	Temporal superior	23	0	1	9	3	12
	Temporal inferior	23	0	1	8	1	15
	Nasal	20	2	1	14	6	4
	Nasal superior	22	1	1	12	7	5
	Nasal inferior	24	0	0	16	4	4

Las figuras 12, 13, 14 y 15 muestran mediante un gráfico de barras la clasificación obtenida en cada parámetro estudiado en el grupo de pacientes con glaucoma.

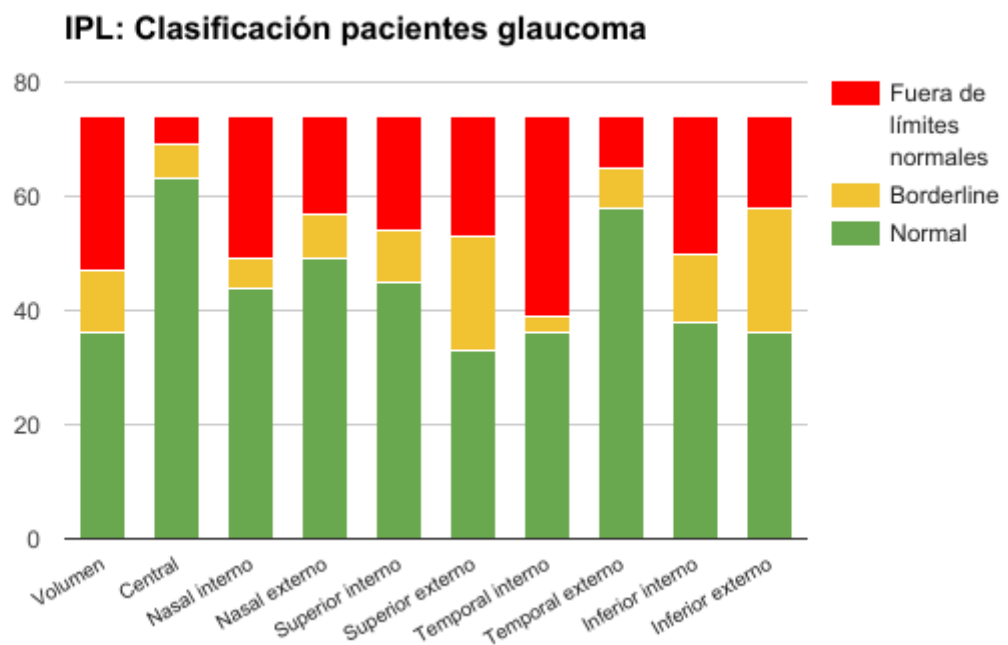
**Figura 12.** Clasificación obtenida en el grosor de la RNFL macular de los pacientes con glaucoma.



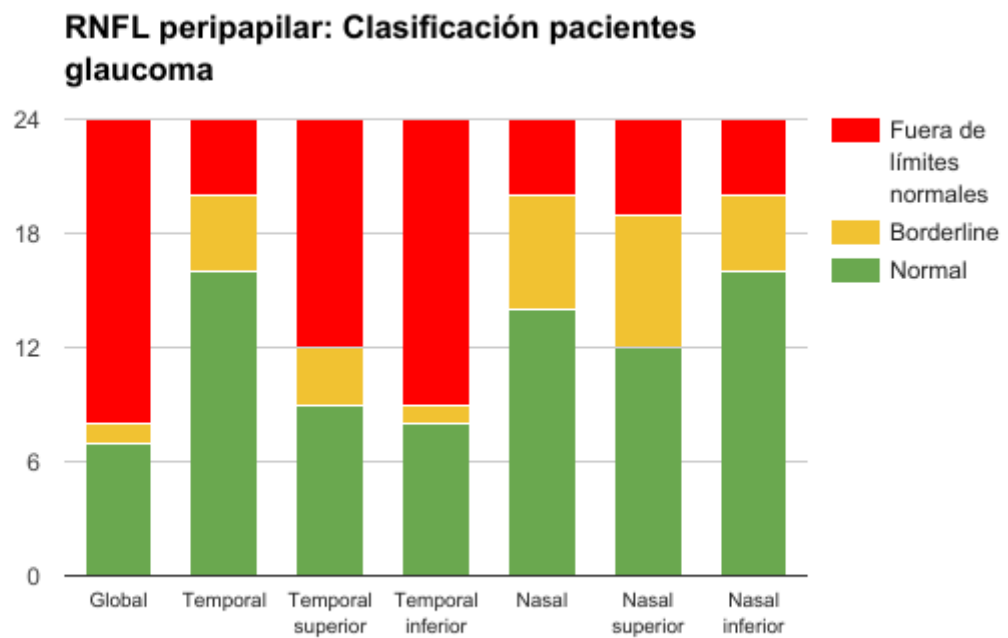
**Figura 13.** Clasificación obtenida en el grosor de la GCL de los pacientes con glaucoma.



**Figura 14.** Clasificación obtenida en el grosor de la IPL de los pacientes con glaucoma.

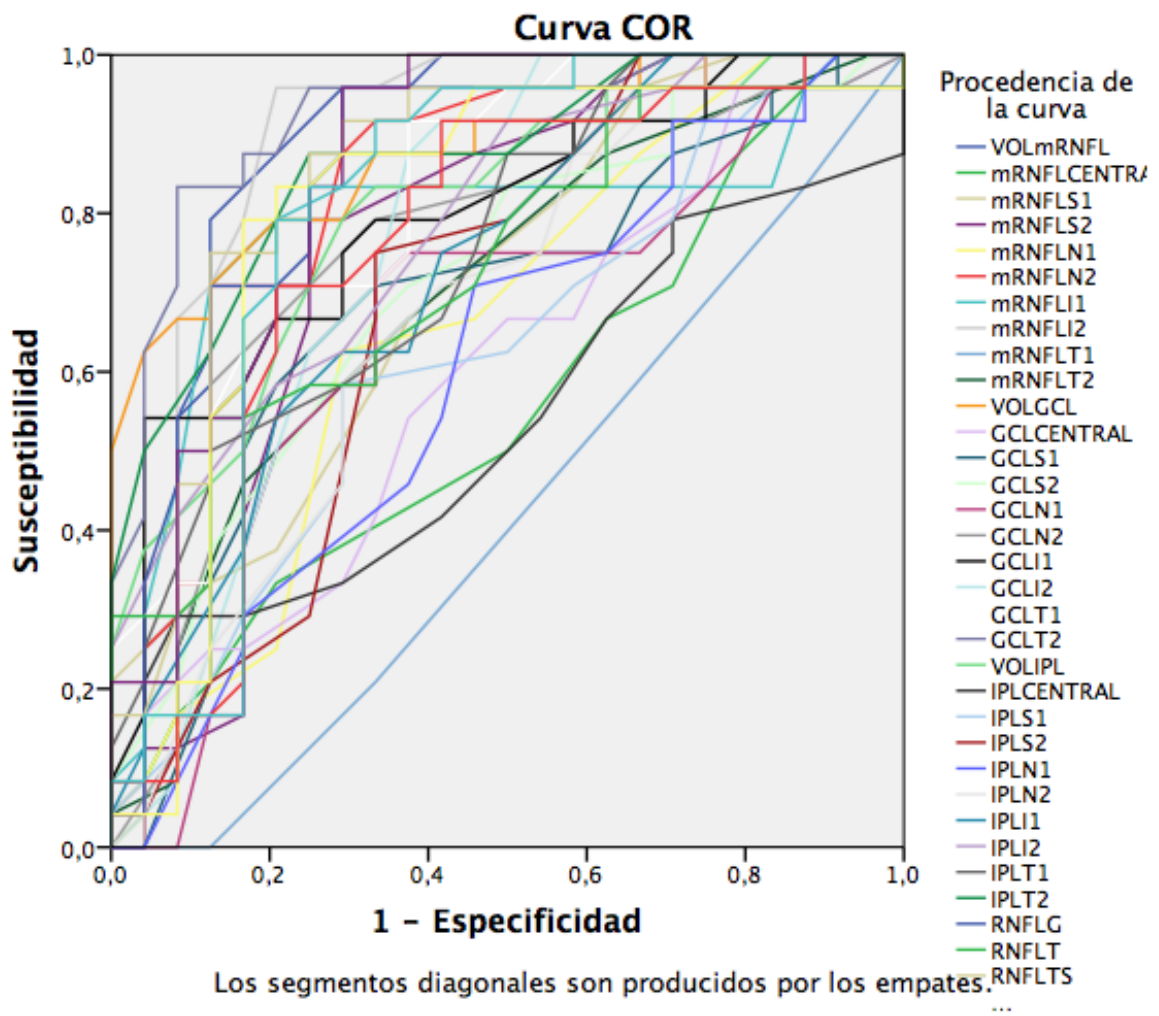


**Figura 15.** Clasificación obtenida en el grosor de la RNFL peripapilar de los pacientes con glaucoma.



Para cada uno de los parámetros se calculó la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivo y negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa y la Odds Ratio diagnóstica. Los resultados se representan en la tabla 11. Se estableció como punto de corte el percentil 5 o la clasificación como borderline y fuera de límites normales. En la Figura 5 se representan gráficamente las AUC obtenidas en las curvas ROC para cada uno de los sectores de las tres capas internas de la retina. En la tabla 12 se representan los valores de especificidad para una sensibilidad del 80% y del 90% según las coordenadas de la curva ROC.

**Figura 5.** Representación gráfica del AUC de cada uno de los sectores de las tres capas internas de la retina



**Tabla 11.** Sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivo y negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa y la odds ratio diagnóstica.

	Parámetro	AUC	Sensibilidad, %	Especificidad, %	LR+	LR-	OR
<b>RNFL macular n=148</b>	Volumen	0,862	63,5	93,2	9,4	0,39	24,02
	Central	0,638	23	94,6	4,25	0,81	5,22
	Nasal interno	0,598	28,4	89,2	2,63	0,8	3,27
	Nasal externo	0,795	44,6	91,9	5,5	0,6	9,12
	Superior interno	0,695	40,5	94,6	7,5	0,63	11,93
	Superior externo	0,796	43,2	93,2	6,4	0,61	10,51
	Temporal interno	0,408	24,3	74,3	0,95	1,02	0,93
	Temporal externo	0,685	44,6	81,1	2,36	0,68	3,45
	Inferior interno	0,759	41,9	87,8	3,44	0,66	5,21
	Inferior externo	0,880	68,9	89,2	6,38	0,35	18,29
<b>CGL n=148</b>	Volumen	0,889	50	98,6	37	0,51	73
	Central	0,657	24,3	93,2	3,6	0,81	4,44
	Nasal interno	0,761	28,4	94,6	5,25	0,76	6,93
	Nasal externo	0,775	23	98,6	17	0,78	21,77
	Superior interno	0,779	32,4	97,3	12	0,69	17,28
	Superior externo	0,817	37,8	98,6	28	0,63	44,43
	Temporal interno	0,869	67,6	93,2	10	0,35	28,75
	Temporal externo	0,903	71,6	87,5	5,73	0,32	17,67
	Inferior interno	0,830	41,9	95,9	10,33	0,61	17,06
	Inferior externo	0,843	47,3	98,6	35	0,53	65,51
<b>IPL n=148</b>	Volumen	0,844	51,4	94,6	9,5	0,51	18,47
	Central	0,623	14,9	94,6	2,75	0,9	3,06
	Nasal interno	0,761	40,5	97,3	15	0,61	24,55
	Nasal externo	0,734	33,8	95,9	8,33	0,69	12,07
	Superior interno	0,757	39,2	91,9	4,83	0,66	7,3
	Superior externo	0,790	55,4	90,5	5,86	0,49	11,89
	Temporal interno	0,848	52,7	97,3	19,5	0,49	40,11

	Temporal externo	0,856	25,7	97,3	9,5	0,76	12,44
	Inferior interno	0,801	54,1	95,9	13,33	0,48	27,84
	Inferior externo	0,816	54,1	90,5	5,71	0,51	11,26
<b>RNFL peripapilar n=48</b>	Global	0,845	70,8	95,7	17	0,3	55,86
	Temporal	0,731	66,7	95,8	16	0,35	46
	Temporal superior	0,853	62,5	95,8	15	0,39	38,33
	Temporal inferior	0,856	70,8	87,5	5,67	0,33	17
	Nasal	0,806	41,7	95,8	10	0,61	16,43
	Nasal superior	0,755	50	91,7	6	0,55	11
	Nasal inferior	0,810	33,3	100	0	0,67	

**Tabla 12.** Especificidad para una sensibilidad del 80% y del 90% según las coordenadas de la curva ROC.

	Parámetro	Sensibilidad para:	
		Especificidad al 80%, %	Especificidad al 90%, %
<b>RNFL macular n=148</b>	<b>Volumen</b>	<b>83</b>	<b>50</b>
	Central	21	17
	Nasal interno	25	17
	Nasal externo	71	33
	Superior interno	33	33
	<b>Superior externo</b>	<b>54</b>	<b>13</b>
	Temporal interno	4	0
	Temporal externo	46	25
	Inferior interno	71	46
	Inferior externo	96	58
<b>CGL n=148</b>	<b>Volumen</b>	<b>71</b>	<b>67</b>
	Central	25	25
	Nasal interno	50	0
	Nasal externo	58	25
	Superior interno	50	33
	Superior externo	54	21
	Temporal interno	67	33
	<b>Temporal externo</b>	<b>88</b>	<b>83</b>
	Inferior interno	67	54
	Inferior externo	38	13
<b>IPL n=148</b>	Volumen	63	50
	Central	29	29
	Nasal interno	29	0
	Nasal externo	25	4
	Superior interno	29	13
	Superior externo	21	21
	<b>Temporal interno</b>	<b>50</b>	<b>25</b>
	<b>Temporal externo</b>	<b>63</b>	<b>50</b>
	Inferior interno	38	38
	Inferior externo	42	42
<b>RNFL peripapilar n=48</b>	<b>Global</b>	<b>71</b>	<b>50</b>
	Temporal	54	33
	Temporal superior	79	46
	<b>Temporal inferior</b>	<b>71</b>	<b>50</b>
	Nasal	79	21
	Nasal superior	67	17
	Nasal inferior	71	17

Para buscar diferencias entre la capacidad diagnóstica de las capas internas de la retina y la RNFL peripapilar, se seleccionaron los dos parámetros con mayor área bajo la curva ROC de cada una de las capas internas de la retina en el área macular (RNFL superior externo, Volumen de la RNFL, GCL Temporal externo, Volumen de la CGL, IPL Temporal interno e IPL temporal externo) y el mejor parámetro peripapilar (RNFL peripapilar global) de una población de 48 pacientes procedentes de Zaragoza. Las áreas bajo la curva ROC de estos parámetros se muestran en la tabla 13.

**Tabla 13.** Áreas bajo la curva ROC de los dos mejores parámetros discriminativos de cada una de las capas internas de la retina.

<b>Parámetro</b>		<b>AUC</b>
RNFL peripapilar Global		0,845
RNFL macular	Superior externo	0,761
	Volumen	0,885
GCL	Temporal externo	0,920
	Volumen	0,876
IPL	Temporal interno	0,753
	Temporal externo	0,866

Posteriormente se analizaron las diferencias entre las áreas bajo la curva ROC de los dos mejores parámetros discriminativos de cada una de las capas internas con el mejor parámetro discriminativo de la RNFL peripapilar mediante el método de DeLong et al. (1988). Los resultados de este análisis se muestran en la tabla 13.

**Tabla 13.** Comparación entre AUC de los mejores parámetros discriminativos.

<b>Comparación entre</b>		<b>Diferencia entre AUC</b>	<b>p</b>
RNFL peripapilar Global	RNFL macular superior externo	0,0842	0,258
	Volumen RNFL	0,0399	0,580
	CGL Temporal externo	0,0747	0,287
	Volumen CGL	0,0304	0,656
	IPL temporal interno	0,0920	0,266
	IPL temporal externo	0,0208	0,777





# DISCUSIÓN



## DISCUSIÓN

La llegada de los Tomógrafos de Coherencia Óptica (OCT) supuso un gran cambio en el manejo y diagnóstico de las patologías retinianas y del glaucoma. El OCT es un método de imagen transpupilar y no invasivo, con el que se obtienen imágenes transversales del tejido retiniano que han demostrado tener buena correlación con la histología retiniana[2], [3]. Con los nuevos OCT de dominio espectral es posible adquirir imágenes más rápido y de mejor calidad, si los comparamos con los OCT de dominio tiempo[4].

La gran mayoría de los OCT cuentan con su propia base de datos normativa con la que comparan de manera automática los resultados de las pruebas realizadas a los pacientes, ofreciéndonos así la clasificación del paciente como: normal, cuando el resultado obtenido se encuentra por encima del percentil 5; sospechoso (borderline), cuando el resultado obtenido se encuentra entre el percentil 5 y el percentil 1; o fuera de límites normales, cuando el resultado obtenido se encuentra por debajo del percentil 1. Estos resultados no son valores absolutos y debemos interpretar esta clasificación como la probabilidad que tiene un paciente de sufrir una enfermedad de tal forma que, un resultado fuera de límites normales sólo ocurrirá en un 1% de sujetos sanos y un resultado borderline sólo ocurrirá en un 5% de sujetos sanos. Por lo tanto, puesto que existe un 5 % de sujetos sanos que presentarán un resultado patológico, ante un resultado patológico en un OCT no podemos afirmar que el paciente sufra la enfermedad que estamos estudiando.

El OCT-Spectralis es el primer OCT que permite la segmentación automática de las tres capas internas de la retina de manera individual. Hasta ahora contábamos con otros 2 OCTs, el RTVue y el 3D Topcon, que miden el grosor de las capas internas de manera conjunta (RNFL, GCL e IPL), lo que se conoce como complejo de células ganglionares; y un OCT, el HD-Cirrus, que permite medir la GCL y la IPL, excluyendo la RNFL del análisis. Es importante remarcar que los valores de grosor no deben ser comparados entre OCTs diferentes puesto que cada uno tiene sus propias referencias anatómicas y éstas no siempre tienen que coincidir.

Para realizar el estudio se utilizó la rejilla de 6 mm propuesta por el ETDRS, esta ha desmostado recientemente ser mejor para detectar el glaucoma que las rejillas de 3mm y de 4,45 mm [24].

Al contrario de lo que ocurre con el RTVue, el 3D Topcon y el HD-Cirrus, el OCT-Spectralis no cuenta aún con una base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina con la que comparar de manera automática los resultados obtenidos al realizar la prueba. Por lo que, el propósito principal de esta tesis doctoral, cuyos resultados se pasarán a discutir a continuación, era desarrollar una base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina para OCT-Spectralis y posteriormente establecer la capacidad diagnóstica de la misma para pacientes con glaucoma.

## 1. ESTUDIO I

Este primer estudio trata de establecer los valores de normalidad en el área macular del grosor de las capas internas de la retina medido con OCT-Spectralis en una población caucásica para crear una base de datos normativa.

Las bases de datos de normalidad para pruebas estructurales en el glaucoma nos permiten establecer los valores de referencia con los que comparar a los pacientes con glaucoma o sospechosos de glaucoma.

### 1.1 Características de la población del estudio.

Los sujetos sanos que se incluyen en las bases de normalidad deben ser elegidos cuidadosamente, por lo que para la selección de los pacientes se siguieron las normas establecidas para el desarrollo de bases de datos normativas propuestas por Realini et al[6].

En este estudio se trató que población elegida fuera representativa de la población en la que se usará la prueba con fines diagnósticos, para ello se disminuyeron al máximo los criterios de exclusión, al mismo tiempo asegurando que los voluntarios sanos elegidos no presentaban glaucoma u otras patologías que puedan influir en el resultado; consideramos que el número de sujetos (n=297) es lo suficientemente grande como para caracterizar a la población de referencia; se tuvieron en cuenta que algunas variables como la edad, la longitud axial y la raza que pueden afectar a los parámetros y por último, se eligió un método diagnóstico con buena reproducibilidad intraobservador e

interobservador, como es la última versión del Software del Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering) que permite segmentar de manera automática las capas de la retina de manera individual, ya que este análisis ha demostrado recientemente tener una excelente reproducibilidad en sujetos sanos[5].

Se incluyeron un total de 297 pacientes de los que solo se selecciono un ojo por paciente de manera aleatoria, el número de pacientes mayores de 51 años fue mayor al numero de pacientes menores de 51 años, esta distribución se corresponde también con la distribución de edad de la población en la que usaremos la prueba: los pacientes con glaucoma. La proporción de mujeres incluidas en el estudio fue mayor que la de hombres.

## 1.2 Relación del grosor de las capas internas de la retina con la edad

Estudios previos de OCT han demostrado que existe una correlación negativa entre la edad y el grosor retiniano total[10]–[12], [29], [95]. En este estudio, la media del sector central fue de 278,2 +/- 21,12  $\mu\text{m}$ , valores similares a los reportados previamente en la literatura en pacientes caucásicos con el OCT Spectralis, 270,2 +/- 22,5  $\mu\text{m}$ [9]. Los valores de grosor retiniano fueron menores en la fovea y mas altos en el área parafoveal (sectores internos) lo cual es consistente con la anatomía retiniana normal y con los datos reportados previamente en la literatura[12], [16].

La correlación negativa entre la edad y el grosor macular es congruente con lo reportado en previos estudios como los de Kanai et al.[10], Manassalorn et al.[11] y Appukuttan et al.[12]; estos estudios mostraron una correlación negativa con la edad en todos los sectores del ETDRS excepto en el sector central. Esto contrasta con otros estudios en los que no encontraron diferencias estadísticamente significativas con la edad, como el de Grover et al.[9] pudiendo deberse a que el número de sujetos era significativamente menor (n=50) que en nuestro estudio.

El envejecimiento está asociado con una pérdida de neuronas en las capas internas de la retina[78]. Estudios histológicos demuestran que se pierden entre un 0,3 y un 0,6% de neuronas retinianas por año[96]. El grupo de Ooto S. et al., [82] encontró una disminución lineal en el grosor de la RNFL y la GCL con la edad, de -0,05 y -0,07  $\mu\text{m}$  al año respectivamente, medido con OCT 3D Topcon (OCT- 1000; Topcon, Tokyo, Japan).

Los resultados de este estudio sugieren que existe una disminución de grosor de la CGL e IPL con la edad. Esta disminución es mayor en los sectores internos que en los externos. Estos resultados son similares a los obtenidos en estudios previos de OCT[12], [13] y congruente con los resultados de los estudios histológicos.

Se encontró una correlación positiva entre la edad y el grosor de la RNFL en los sectores temporales. Estudios previos han obtenido resultados similares a estos; Demirkaya et. al obtuvieron una  $r = 0,216$  ( $p = 0,019$ ) para los sectores internos de la RNFL[13]. Teniendo en cuenta que los sectores temporales son los más delgados en la

distribución normal del grosor de la RNFL, se sugiere el aumento del grosor de la RNFL con la edad obtenido en este estudio puede ser debido al aumento del grosor de la membrana limitante interna que se produce con el envejecimiento[14].

### 1.3 Relación del grosor de las capas internas de la retina con el sexo y la raza

Los resultados de este estudio mostraron que el grosor retiniano era significativamente mayor en los hombres que en las mujeres, con una diferencia media de 11,01  $\mu\text{m}$  en la zona central. Estos datos son congruentes con estudios previos como los de Appukuttan et al.[12], el de Massin et al.[15] y el de Jost B. Jonas et al.[97] en los que se encontró que la media del grosor retiniano era significativamente mayor en los hombres que en las mujeres. En el estudio de Jost B. Jonas et al., la diferencia media entre el grosor macular de hombres y mujeres fue de 8,04  $\mu\text{m}$  ((10,6-5,5) IC 95%,  $p < 0,001$ ), resultados muy similares a los nuestros.

Un estudio publicado recientemente por Won et al. [29], encontró diferencias estadísticamente significativas en el grosor de la RNFL macular, la GCL y la IPL entre ambos sexos tanto en el sector central como en el anillo interno como en el externo. En nuestros resultados el grosor de la GCL fue significativamente mayor en los hombres en todos los sectores excepto en el sector central. Y sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los sectores central, superior externo y temporal interno entre ambos sexos en la RNFL, y en el sector central, nasal interno, temporal interno y externo en la IPL. Estas diferencias que encontramos en los resultados de

ambos estudios pueden deberse a que la diferencias encontradas por Won et al., no están ajustadas por la edad de los pacientes.

En nuestro estudio sólo se incluyeron pacientes caucásicos por lo que la raza no se tuvo en cuenta para el análisis. Estudios previos han demostrado que existen diferencias estadísticamente significativas cuando se compara pacientes caucásicos con pacientes de raza negra[9], [17]. Estas diferencias podrían deberse a que el aumento de pigmento en la porción apical de las células del epitelio pigmentario de la retina podría atenuar la incidencia de la radiación óptica dando lugar a valores más bajos de grosor retiniano en pacientes de raza negra[18].

#### 1.4 Relación del grosor de las capas internas de la retina con la longitud axial

La relación que existe entre el grosor de la retina y la longitud axial ha sido ampliamente estudiada previamente. Jonas RA et al. [98], demostraron que la longitud de la membrana de Bruch en el área macular no varía entre ojos con alta longitud axial y ojos con longitud axial normal. Por lo tanto, si la longitud de la membrana de de Bruch en el área macular no aumenta al aumentar la longitud axial, podemos asumir que el grosor de la mácula no debería afectarse con el aumento de la longitud axial, ya que el epitelio pigmentario de la retina y los fotorreceptores están anclados en el la membrana de Bruch[97]. Esto es congruente con los estudios previos que demuestran que, en ausencia de maculopatía, la agudeza visual mejor corregida es independiente de la longitud axial[99].

En el estudio realizado por Jost B. Jonas et al. (n=1117) [97], no encontraron asociación entre el grosor de la retina en el polo posterior y la longitud axial. Sin embargo, una mayor longitud axial si que estaba correlacionada con una disminución del grosor de la retina periférica. Estos resultados sugieren que el aumento de la longitud axial tiene lugar predominantemente en las regiones ecuatorial-preequatorial del ojo. Estos resultados son congruentes con los reportados previamente en la literatura por Wang et al.[100], que no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grosor retiniano y la longitud axial.

En los resultados de este estudio se encontró una discreta correlación positiva entre el volumen y el grosor de la retina con la longitud axial en todos los sectores maculares, excepto en el sector superior externo, temporal externo e inferior externo. Esta correlación ya había sido previamente reportada en la literatura, en el estudio poblacional “The Hadan Study” en el que se incluyeron 2230 pacientes sanos de origen chino y mayores de 30 años, se encontró una correlación positiva entre el grosor macular y la longitud axial (coeficiente beta= 1,656, p=0,009)[101].

En los resultados de nuestro estudio se encontró una correlación positiva entre el volumen de la RNFL macular la longitud axial. Este dato ya había sido reportado previamente en la literatura, en el estudio de Akashi et al.[19] se encontró que la media del grosor de la RNFL en el área macular era más gruesa en los ojos miopes que en los no miopes usando el OCT HD-Cirrus.

Por lo tanto, si medimos el grosor retiniano en la periferia de la retina, este disminuye al aumentar la longitud axial, pero cuando lo medimos en el área macular, el grosor bien aumenta con la longitud axial o bien es independiente de la misma. Estos resultados son congruentes con la teoría de que el alargamiento del ojo en la miopía se debe fundamentalmente a la elongación de las paredes del globo ocular en la media periferia[97].

Se excluyeron de este estudio los voluntarios sanos con una miopía mayor a -5 dioptrías ya que los pacientes con defectos miópicos mayores a -6 dioptrías se clasifican como miopes magnos y estos pacientes presentan un alto riesgo de complicaciones retinianas periféricas y maculares.

## 1.5 Limitaciones del estudio

Algunas de las limitaciones de nuestro estudio son que solo se incluyeron pacientes caucásicos por lo que nuestros resultados no podrían generalizarse a otras razas. En nuestra muestra existe una mayor proporción de mujeres que de hombres y una mayor proporción de sujetos mayores de 51 años lo cual puede haber afectado al resultado final.

Al tratarse de un estudio transversal, no se siguió a los pacientes durante los meses posteriores a su inclusión al estudio por lo que es posible que alguno de los pacientes haya desarrollado glaucoma o hipertensión ocular en los meses siguientes.

## 2. ESTUDIO II

Una vez desarrollada la base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina, era necesario establecer la capacidad diagnóstica de la misma. Por lo que el objetivo de este segundo estudio era validar la base de datos normativa desarrollada en el estudio I con una población diferente e independiente de la que forma la base datos normativa.

Para este segundo estudio, se consideró un resultado positivo en la OCT macular cualquier valor que se encontrara por debajo del percentil 5 del obtenido en la distribución del grosor macular de los voluntarios sanos del estudio I. De la misma manera, cualquier resultado que se encontrara por encima del percentil 5 se considero como un resultado normal.

### 2.1 Características de la población de estudio

Con el fin de obtener los pacientes de una población independiente, pero a la vez comparable con la población en la que se desarrollo la base de datos, se seleccionaron los pacientes con glaucoma y los controles entre los pacientes de los hospitales UZ Leuven (Bélgica) y Miguel Servet (Zaragoza), hospitales de dos ciudades diferentes a la utilizada como población de referencia en el desarrollo de la base de datos pero que tienen unas características epidemiológicas similares.

Se incluyeron un total de 148 pacientes (74 en el grupo control y 74 en el grupo de glaucoma), al igual que en el estudio anterior la proporción de mujeres incluida fue mayor que la de hombres. Puesto que, conforme a los resultados del Estudio 1, la edad parece ser un factor importante que produce una pérdida del grosor de las capas internas de la retina, se evitó el posible sesgo producido por la misma asegurándonos de que no existían diferencias estadísticamente significativas en la edad de ambos grupos ( $p=0,7$ ).

## 2.2 Diferencias en el grosor de las capas internas de la retina entre controles y glaucoma

En los resultados de nuestro estudio se encontró una disminución del grosor con diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de los sectores de cada una de las capas internas de la retina en el área macular (RNFL, GCL e IPL) en los pacientes con glaucoma incipiente-moderado con respecto a los pacientes control.

En la RNFL macular la menor reducción del grosor se encontró en los sectores temporal interno y nasal interno, en este último la diferencia entre el grupo de pacientes con glaucoma y el grupo control no fue estadísticamente significativa ( $p=0,08$ ). En el sector temporal interno el grupo de paciente con glaucoma obtuvo valores más altos que el grupo control, siendo la diferencia entre ambos grupos de  $0,59 \mu\text{m}$  que, a pesar de ser estadísticamente significativa ( $p=0,03$ ), no es clínicamente relevante. La RNFL macular presenta su valor mínimo en el sector central del ETDRS, esto se corresponde con la ausencia relativa de axones de las células ganglionares en la fóvea[7].

La mayor reducción del grosor se encontró en el sector inferior externo con una diferencia de medias de 13,99  $\mu\text{m}$ . Estudios previos como el de Hood et. al. También obtuvieron la mayor reducción del grosor en la capa de fibras nerviosas de la retina las regiones arcuatas, siendo mayor el adelgazamiento en la zona inferior externa. Este área se corresponde también con el de mayor grosor de la distribución de la RNFL en los pacientes sanos en los resultados de Hood et. al., en el caso de nuestros resultados el sector inferior externo es el segundo en grosor por debajo del sector nasal externo que es el más cercano a la papila óptica [7].

En la GCL la menor reducción se encontró en el sector central, este sector corresponde a la zona de la fovea en la que el grosor de la GCL es mínimo, esto se debe a que en la fovea hay una ausencia relativa de células ganglionares. La mayor reducción del grosor se encontró en el sector temporal interno con una diferencia de medias entre controles y pacientes con glaucoma de 12,69  $\mu\text{m}$ ., en el sector temporal externo con una diferencia de medias de 9,84  $\mu\text{m}$ , y en el sector inferior interno con una diferencia de medias de 10,91  $\mu\text{m}$ .

En la IPL la menor reducción de grosor se encontró en el sector central que, al igual que en caso de las dos capas anteriores es el más delgado en la distribución por sectores de la IPL. La mayor reducción de grosor se encontró en el sector temporal interno, con una diferencia de medias entre controles y pacientes con glaucoma de 7,58  $\mu\text{m}$ .

Estos resultados son congruentes con los reportados previamente en la literatura, el estudio de Hood et al[7], encontró un mayor adelgazamiento del complejo CGL-IPL en

los sectores temporales del área macular. Tan et al[23], analizaron el grosor del complejo de células ganglionares en pacientes con glaucoma preperimétrico y controles, e igual que en los resultados de nuestro estudio, los sectores que sufrieron una mayor reducción del grosor fueron los sectores temporales. De la misma manera un estudio reciente demuestra que tanto la GCL como la IPL medidas de manera individual disminuyen al comparar sujetos sanos y sujetos con glaucoma[24].

En el caso de la RNFL peripapilar, al igual que ocurrió en las capas internas de la retina se encontró una reducción estadísticamente significativa en el grosor de todos los parámetros estudiados al comparar el grupo control con el grupo de pacientes con glaucoma. La mayor reducción del grosor se encontró en el sector temporal inferior con una diferencia de medias entre controles y pacientes con glaucoma de 47,5  $\mu\text{m}$ .

### 2.3 Capacidad diagnóstica de las capas internas de la retina

En nuestro estudio se realizaron dos valoraciones de la capacidad diagnóstica del grosor de las capas internas de la retina en el área macular utilizando la base de datos normativa desarrollada en el estudio 1. Por un lado se evaluó de manera cuantitativa, mediante el análisis de las curvas ROC, y por otro lado de manera cualitativa, mediante el cálculo de la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo y negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa y odds ratio diagnóstica [102], [103].

En cuanto al análisis de curvas ROC, un AUC de 1 representa la discriminación perfecta,

mientras que un AUC de 0.5 representa la no discriminación entre las variables. Para la interpretación de los resultados se usó una escala de 5 categorías de tal forma que un AUC mayor de 0,9 se consideró excelente, un AUC entre 0,7-0,8 se consideró buena, un AUC entre 0,6-0,7 se consideró regular y un AUC menor de 0,6 se consideró como no discriminativo.

En la RNFL el parámetro que presentó mejor AUC fue el sector inferior externo (AUC=0,880). El sector nasal interno y el sector temporal interno obtuvieron el peor resultado con un AUC cercano a 0,5 por lo que podemos considerar que ese sector apenas tiene capacidad para discriminar entre pacientes sanos y pacientes con glaucoma. Un estudio previo que comparó los pacientes sospechosos de glaucoma y controles encontró que el mejor AUC para la RNFL macular era el sector temporal interno (AUC=0,742) y el sector temporal externo (AUC=0,660) [25], estos resultados coinciden con los resultados de nuestro estudio y están en consonancia con los estudios histológicos que indican que la muerte del cuerpo de las células ganglionares se produce tras la degeneración de los axones[1].

Existe un estudio reciente de Lee KM et. al [26] que compara la capacidad diagnóstica de las capas internas de la retina entre el OCT-Spectralis y OCT 3D Topcon, en una población de 120 pacientes (60 pacientes con glaucoma y 60 pacientes controles) con unas características demográficas muy similares a las que presenta nuestro estudio. En este estudio se analizó el grosor de la RNFL macular y grosor del complejo GCL-IPL mediante los dos OCTs mencionados previamente. Entre sus conclusiones destaca que la capacidad diagnóstica del grosor de las capas internas de la retina obtenida mediante

ambos OCTs fue muy similar, sin embargo el AUC del sector temporal externo del área macular fue significativamente mayor al medirlo con el OCT-Spectralis que al medirlo con el OCT 3D Topcon.

A continuación, en la tabla 1, se comparan los resultados del grosor de la RNFL macular obtenidos del estudio de Lee KM. et. al con los resultados obtenidos en nuestro estudio. Al igual que en los resultados de nuestro estudio el sector inferior externo obtuvo el mayor AUC. Las diferencias obtenidas en la sensibilidad y la especificidad entre nuestro estudio y el mencionado previamente pueden deberse a que el punto del estudio de Lee KM se ha calculado mediante el punto de la curva ROC que presenta la mayor sensibilidad y especificidad. Mientras que el punto de corte de nuestro estudio se ha calculado utilizando el percentil 5 obtenido en la base de datos normativa realizada en el estudio I para cada grupo de edad.

**Tabla 1.** Comparación de la capacidad diagnóstica de la RNFL macular entre los resultados de Lee KM et al.[26] y nuestro estudio.

RNFL macular						
	Resultados Lee KM [26]			Nuestros resultados		
	AUC	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	AUC	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Central	0,582	20	96,7	0,638	23	94,6
Nasal interno	0,471	81,7	23,3	0,598	28,4	89,2
Nasal externo	0,659	91,7	50	0,795	44,6	91,9
Superior interno	0,552	80	40	0,695	40,5	94,6
Superior externo	0,673	91,7	50	0,796	43,2	93,2
Temporal interno	0,486	91,7	20	0,408	24,3	74,3
Temporal externo	0,713	71,7	63,3	0,685	44,6	81,1
Inferior interno	0,676	96,7	40	0,759	41,9	87,8
<b>Inferior externo</b>	<b>0,859</b>	<b>81,7</b>	<b>81,7</b>	<b>0,880</b>	<b>68,9</b>	<b>89,2</b>

En la GCL el parámetro que presentó mejor AUC fue el sector temporal externo (AUC=0,930) y todos los sectores excepto el sector central presentaron un AUC por encima de 0,7. En la IPL el parámetro con una mayor AUC fue el sector temporal externo (AUC=0,856) y al igual que ocurría en la GCL todos los sectores excepto el sector central presentaron un AUC mayor de 0,7. Estos resultados son muy similares a los obtenidos en el estudio de Chien JL. Et al.[24], en el que al igual que en nuestro resultados se obtuvieron las mejores AUC en el sector temporal externo tanto de la GCL como de la IPL (0,942 y 0,890 respectivamente). En la tabla 2 se muestran las

semejanzas entre nuestros resultados y los obtenidos por Chien JL. et. al.

**Tabla 2.** Comparación entre nuestros resultados y los obtenidos por Chien JL. et. al[24]., en las AUC de la GCL e IPL medidas de manera individual.

Capa	Parámetro	AUC en nuestros resultados	AUC en los resultados de Chien JL. et. al.
<b>CGL</b>	Volumen	0,889	0,920
	Central	0,657	0,614
	Nasal interno	0,761	0,827
	Nasal externo	0,775	0,837
	Superior interno	0,779	0,842
	Superior externo	0,817	0,840
	Temporal interno	0,869	0,901
	<b>Temporal externo</b>	<b>0,903</b>	<b>0,942</b>
	Inferior interno	0,830	0,855
	Inferior externo	0,843	0,897
<b>IPL</b>	Volumen	0,844	0,887
	Central	0,623	0,644
	Nasal interno	0,761	0,813
	Nasal externo	0,734	0,808
	Superior interno	0,757	0,820
	Superior externo	0,790	0,856
	Temporal interno	0,848	0,881
	<b>Temporal externo</b>	<b>0,856</b>	<b>0,890</b>
	Inferior interno	0,801	0,869
	Inferior externo	0,816	0,827

Podemos observar en los resultados de la tabla 2 como para la mayoría de los parámetros el AUC obtenido por Chien et al., es ligeramente superior al obtenido en nuestros resultados. Esta pequeña diferencia podría deberse a que los pacientes con

glaucoma del estudio de Chien et al., presentan un defecto medio en el campo visual mayor que nuestros pacientes con glaucoma (MD= -7,40 +/- 6,91Db vs -5,01 +/- 2,06 dB). Esta diferencia es importante ya que la capacidad diagnóstica de un test es mejor cuanto mayor sea la severidad de los pacientes con glaucoma incluidos en el estudio.

Estos resultados también son congruentes con los reportados recientemente por Lee KM et. al[26] , en este estudio midiendo conjuntamente la IPL y la GCL con OCT-Spectralis se encontraron las mayores AUC en los sectores temporal externo e inferior externo.

En la tabla 3 se comparan los resultados de capacidad presentados por Lee KM et. al [26] para el grosor del complejo CGL-IPL con nuestros resultados de capacidad diagnóstica midiendo solamente el grosor de la GCL. En el estudio de Chien JL et. al, realizado con OCT-Spectralis, se comparan las AUC del complejo GCL-IPL y cada una de las capas por separado obteniendo AUC muy similares entre el complejo GCL-IPL y la GCL de manera aislada, pero menores al compararlo con la IPL de manera aislada[24]. Al igual que en la tabla 1, las diferencias observadas en la sensibilidad y la especificidad pueden deberse a los diferentes métodos a la hora de establecer los puntos de corte.

**Tabla 3.** Comparación entre la capacidad diagnóstica del complejo CGL-IPL obtenida en el estudio de Lee KM[26] con la capacidad diagnóstica de la GCL obtenida en nuestro estudio

	Complejo IPL-CGL			GCL		
	Resultados Lee KM			Nuestros resultados		
	AUC	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	AUC	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Central	0,586	88,3	33,3	0,657	24,3	93,2
Nasal interno	0,570	95	25	0,761	28,4	94,6
Nasal externo	0,676	76,7	55	0,775	23	98,6
Superior interno	0,652	91,7	38,3	0,779	32,4	97,3
Superior externo	0,719	85	68	0,817	37,8	98,6
Temporal interno	0,782	91,7	55	0,869	67,6	93,2
<b>Temporal externo</b>	<b>0,894</b>	<b>75</b>	<b>90</b>	<b>0,903</b>	<b>71,6</b>	<b>87,5</b>
Inferior interno	0,735	96,7	45	0,830	41,9	95,9
Inferior externo	0,818	76,7	71,7	0,843	47,3	98,6

En la RNFL peripapilar las mejores áreas bajo la curva se obtuvieron en el sector global y el sector temporal inferior (AUC= 0,856 y 0,845 respectivamente). Todos los sectores del análisis de la RNFL peripapilar obtuvieron un AUC por encima de 0,7.

Los mejores valores de sensibilidad y especificidad se obtuvieron para el volumen en el caso de la RNFL (S=63,5%; E=93,2%), para el sector temporal interno en el caso de la GCL (S=67,5%; E=93,2%), en la IPL los mejores valores se obtuvieron para el sector

inferior interno (S=54,1%; E=95,9%). Estos resultados son similares a los obtenidos en el análisis de la RNFL peripapilar en el que el mejor parámetro es el sector global con una sensibilidad de 70,8% y una especificidad de 95,7%.

La sensibilidad y la especificidad obtenidas en el análisis de los diferentes sectores maculares de nuestro estudio es similar a la reportada por los estudios previos. En la revisión de la biblioteca Cochrane en la que se analizaron la sensibilidad y especificidad de 35 estudios realizados con el OCT 3D-Topcon, el OCT RTVue y el OCT HD-Cirrus, con más de 5000 pacientes se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 4 [27]. Esta revisión sistemática de la literatura concluye que la sensibilidad y la especificidad de los parámetros del CCG y GCL-IPL se encuentran en el mismo rango que las observadas para el análisis de la RNFL peripapilar. Los resultados de la revisión de la biblioteca Cochrane son congruentes con los resultados de nuestro estudio, si bien son muy diferentes a los resultados de sensibilidad y especificidad reportados por Lee KM et. Al.[26]

**Tabla 4.** Sensibilidad y especificidad de los mejores parámetros maculares del OCT 3D-Topcon, el OCT RTVue y el OCT HD-Cirrus reportada por la biblioteca Cochrane.

<b>Parámetros maculares OCT (modelo)</b>	<b>Número de Estudios (Número de pacientes)</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>
Global (GCC 3D-Topcon , GCC RTVue, GCL-IPL Cirrus)	32 (5010)	0.63 (0.57 a 0.70)	0.93 (0.91 a 0.94)
Sector inferior (GCC 3D-Topcon , GCC RTVue, GCL-IPL Cirrus)	27 (4241)	0.63 (0.56 a 0.70)	0.93 (0.91 a 0.94)
Sector superior (GCC 3D-Topcon , GCC RTVue, GCL-IPL Cirrus)	27 (4241)	0.49 (0.43 a 0.56)	0.93 (0.91 a 0.95)
Pérdida focal de volumen (GCC RTVue)	13 (2143)	0.66 (0.50 a 0.78)	0.93 (0.90 a 0.95)
Pérdida global de volumen (GCC RTVue)	12 (1939)	0.64 (0.46 a 0.79)	0.93 (0.89 a 0.96)
Mínimo sector ( GCL-IPL Cirrus)	9 (1361)	0.76 (0.65 a 0.84)	0.91 (0.87 a 0.93)
Sector Inferonasal ( GCL-IPL Cirrus)	8 (1277)	0.48 (0.38 a 0.58)	0.88 (0.84 a 0.91)
Sector Inferotemporal ( GCL-IPL Cirrus)	8 (1277)	0.75 (0.65 a 0.82)	0.90 (0.87 a 0.93)
Sector Superonasal ( GCL-IPL Cirrus)	8 (1277)	0.43 (0.31 a 0.57)	0.89 (0.83 a 0.93)
Sector Superotemporal ( GCL-IPL Cirrus)	8 (1277)	0.61 (0.49 a 0.71)	0.86 (0.81 a 0.90)

La Odds Ratio diagnóstica (DOR) es un índice estadístico que representa la fuerza de asociación entre el resultado de la prueba y la enfermedad y su resultado no está influenciado por la prevalencia[102]. El parámetro con la mejor DOR fue el sector inferior externo de la GCL en el que si la prueba da positivo el sujeto tendría 65 veces más probabilidades de estar enfermo que si la prueba da negativo.

En los resultados de nuestro estudio, a excepción de los sectores nasales de la IPL, los sectores externos presentan una mejor capacidad diagnóstica que los sectores internos

en el área macular. Esto es debido que la mayor susceptibilidad al daño glaucomatoso se encuentra en las fibras arcuatas inferiores seguidas de las fibras arcuatas superiores, fibras que recorren el área externa de los sectores del ETDRS. Mientras que el haz papilomacular, que contiene las fibras de los sectores centrales del ETDRS se respeta hasta estadios de glaucoma avanzado. La mayor vulnerabilidad de las fibras arcuatas inferiores se debe a que estas se introducen en el nervio óptico a través del cuadrante inferior de la papila, que es el primero en afectarse en la neuropatía óptica glaucomatosa. Mientras que las fibras arcuatas superiores se introducen al nervio óptico por la zona temporal, que es la que se mantiene respetada hasta estadios avanzados de glaucoma[7].

## 2.4 Diferencias entre la capacidad diagnóstica de las capas internas de la retina y la RNFL

En nuestro estudio se realizó una comparación de AUC entre los resultados obtenidos del grosor de las capas internas de la retina y los resultados obtenidos del análisis de RNFL peripapilar, mediante el método estadístico de DeLong, para buscar diferencias entre las AUC de los dos mejores parámetros de cada una de las capas internas de la retina y el AUC del parámetro global de la RNFL peripapilar. Analizando estos sectores no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las AUC de las capas internas de la retina y las AUC del parámetro global de la RNFL.

Nuestros resultados siguen la misma línea propuesta por la biblioteca Cochrane[27], que sugiere, a pesar de no hacer una comparación de los parámetros maculares puesto que el

propósito de la revisión era analizar los diferentes parámetros peripapilares, que no existen diferencias en la capacidad diagnóstica del grosor de las capas internas de la retina y los parámetros de la cabeza del nervio óptico o la capa de fibras nerviosas peripapilares.

Sin embargo, es importante destacar que la revisión de Cochrane no incluye ningún trabajo realizado con OCT-Spectralis. Existe un estudio previo de Martínez de la Casa et. al[25] que encontró diferencias estadísticamente significativas al comparar las AUC de la RNFL macular en el sector temporal externo y el mejor parámetro de la RNFL peripapilar, el sector temporal (Diferencia entre las AUC=0,147, p=0,042)

En la tabla 5 se recogen los resultados de los principales estudios que comparan la capacidad diagnóstica del grosor las capas internas de la retina con la capacidad diagnóstica del grosor de la RNFL peripapilar.

**Tabla 5.** Resultados de la capacidad diagnóstica en los principales estudios.

Autor	OCT	Parámetros	AUC (S%-E%)
Lisboa R[35]	RTUve	RNFL promedio	0,89 (95%- 70,8%)
		CCG promedio	0,79 (95%- 43%)
Mwanza JC [22]	CIRRUS HD	RNFL promedio	0,93 (81%- 92,9%)
		CGL-IPL promedio	0,93 (87,9%- 86,8%)
		CGL-IPL mínimo	0,95 (94,8%- 87,9%)
Jeoung JW [34]	CIRRUS HD	RNFL promedio	0,89 (50%-96%)
		CGL-IPL promedio	0,81 (50%-89,9%)
		CGL-IPL mínimo	0,90 (73,2%-88,2%)
Yang Z[104]	CIRRUS HD	RNFL promedio	0,85
		CCG promedio	0,68
		CGL-IPL promedio	0,75
		CGL-IPL mínimo	0,86
	3D-OCT (TOPCON)	RNFL promedio	0,83
		CCG promedio	0,82
		CGL-IPL promedio	0,73
		CGL-IPL mínimo	0,86
Martínez de la Casa JM[25]	Spectralis	mRNFL inferior	0,74
		pRNFL temporal	0,59

Una revisión más reciente[28] que compara la capacidad diagnóstica de los parámetros maculares del OCT RTVue, el 3D Topocon y Cirrus con el análisis peripapilar obtenida en 34 estudios (n=2164), concluye que utilizando esos OCT la medida de la RNFL peripapilar es, hoy en día, mejor que las medidas del área macular para detectar glaucoma, aunque las diferencias encontradas son pequeñas.

## 2.5 Limitaciones del estudio

En cuanto a las limitaciones de nuestro estudio, algunas vienen dadas por el propio sistema de segmentación del OCT-Spectralis, ya que este incluye en su análisis el sector central en el que hay una ausencia relativa tanto de los axones de las células

ganglionares, como de sus dendritas y axones que forman la CGL, IPL y RNFL respectivamente. Además el sistema de análisis del OCT-Spectralis no permite obtener el valor mínimo del grosor de la CGL, estudios previos con el OCT HD-Cirrus y el OCT 3D Topcon sugieren que el grosor mínimo del complejo CGL-IPL podría ser el mejor parámetro macular para diferenciar pacientes con glaucoma de individuos sanos[8], [22], [28], [94].

La clasificación de los sujetos incluidos en el estudio como casos y controles lo cual puede sobrestimar la capacidad diagnóstica de los test utilizados.

A la hora de seleccionar el punto de corte para clasificar a los pacientes que se encontraban fuera de límites normales, se utilizaron los valores obtenidos para el percentil 5 de la base de datos de normalidad para cada grupo de edad. El percentil 5, por definición, clasifica como enfermos al 5% de los pacientes sanos, por lo que a la hora de interpretar los resultados obtenidos en el estudio de capacidad diagnóstica de la base de datos normativa no debemos olvidar que con mucha probabilidad habremos cometido algún error a la hora de clasificar a los pacientes.

Por otro lado, como hemos dicho anteriormente se tuvo en cuenta el grupo de edad de los sujetos a la hora de establecer el punto de corte. Si bien es cierto que, no se tuvo en cuenta el sexo de los pacientes ni de los controles, se consideró que la diferencia de grosor en las capas internas de la retina, menor a 3  $\mu\text{m}$ , no era clínicamente significativa, y además estaba por debajo del umbral de resolución del OCT-Spectralis. Pero puesto que el análisis multivariante realizado en el estudio 1 encontró diferencias

significativas entre hombres y mujeres en la mayoría de los cuadrantes, esto podría haber llevado a una clasificación incorrecta de los sujetos como normales, borderline o fuera de límites normales.

Solo se incluyeron pacientes caucásicos por lo que los resultados podrían no ser los mismos en pacientes de otras razas. Al tratarse de un estudio transversal, no se siguió a los pacientes ni a los controles durante un periodo de tiempo, por lo que alguno de los controles podría haber desarrollado glaucoma en los meses posteriores a su inclusión en el estudio.

Otra de las limitaciones de nuestro estudio es que el tamaño muestral de la comparación de la capacidad diagnóstica entre el grosor de las capas internas de la retina y el grosor de la capa de fibras peripapilar no es muy grande (n=48) lo que puede haber ocasionado que no se hayan detectado diferencias si estas son pequeñas.

### **3. REPERCUSIÓN DE LOS RESULTADOS Y FUTURAS LINEAS DE INVESTIGACIÓN.**

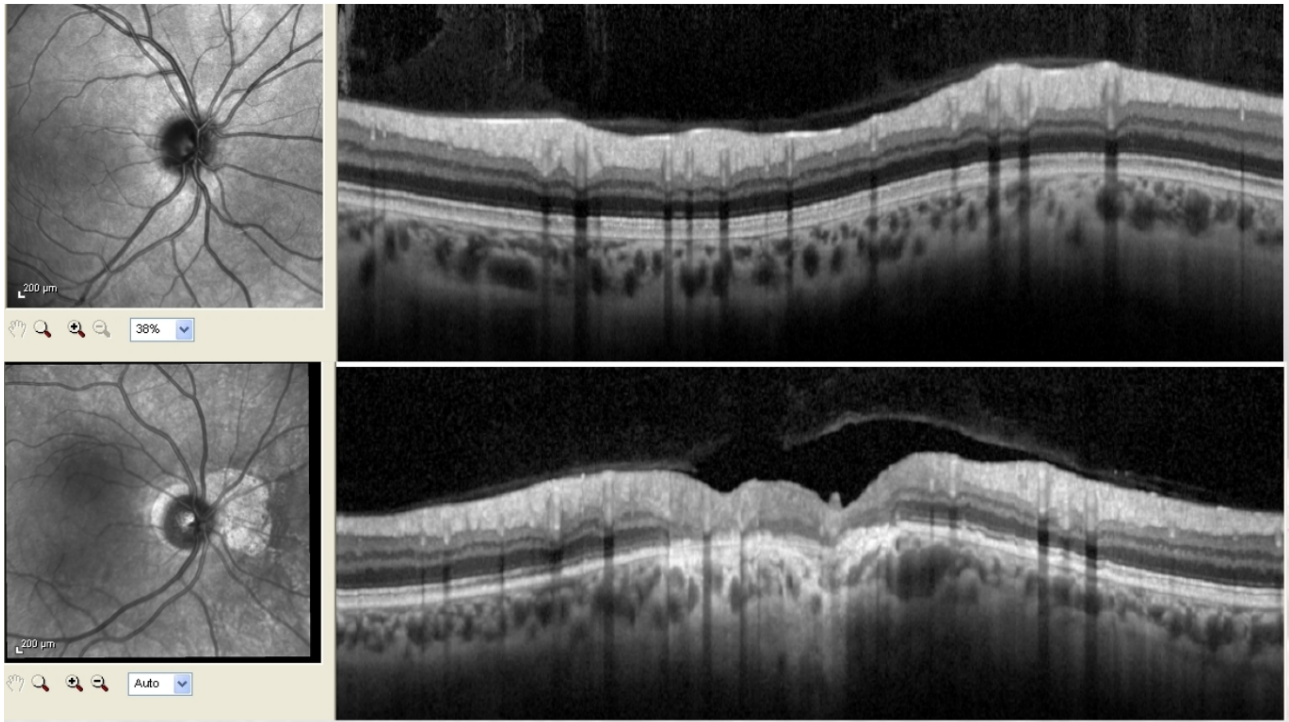
El diagnóstico del glaucoma en estadios iniciales, antes de que se produzca una pérdida funcional significativa, sigue siendo a día de hoy un reto y uno de los mayores obstáculos en la práctica clínica. La detección precoz del glaucoma permite iniciar el tratamiento de manera temprana y retrasar la pérdida de visión. Se han llevado a cabo grandes esfuerzos para desarrollar nuevas técnicas de imagen que nos permitan detectar el glaucoma en sus estadios más iniciales. Uno de esos métodos es el OCT de dominio

espectral, gracias al que se han identificado nuevos parámetros estructurales para medir tanto la RNFL en el área peripapilar, como en el grosor retiniano y el grosor de las capas internas de la retina[36].

El daño glaucomatoso en la mácula es común, puede ocurrir en estadios iniciales de la enfermedad y puede ser infradiagnosticado con las estrategias de campimetría usadas en la práctica clínica habitual como la estrategia 24-2. En esta estrategia de campimetría solo 4 de los puntos diagnósticos evaluados caen en el área macular, siendo esta el área de mayor densidad de células ganglionares[7]. Estudios previos han demostrado que el grosor del complejo células ganglionares-plexiforme interna es mejor parámetro para detectar glaucoma que la RNFL peripapilar en pacientes con afectación central del campo visual[8].

Otro de los aspectos a tener en cuenta a la hora de comparar el análisis del grosor de las capas internas de la retina en el área macular, con el análisis de la RNFL peripapilar es la gran variabilidad anatómica que existe en la región peripapilar. Tanto las atrofiaciones peripapilares como las papilas oblicuas dan lugar a artefactos que imposibilitan la correcta interpretación de los resultados en un gran número de pacientes. Sin embargo, la anatomía de la macula permanece constante salvo que exista alguna otra patología que distorsione la misma. Existen estudios previos que comparan la variabilidad de la RNFL en el área peripapilar con la RNFL en el área macular así como la GCL y la IPL estas últimas tienen una variabilidad interindividual mucho menor[20]. En la figura 1 se muestran las diferencias anatómicas de la región peripapilar de dos pacientes sanos miopes de -2,5 Dp.

**Figura 1.** Diferencias en la anatomía del área peripapilar de dos pacientes sanos miopes de -2,5Dp.



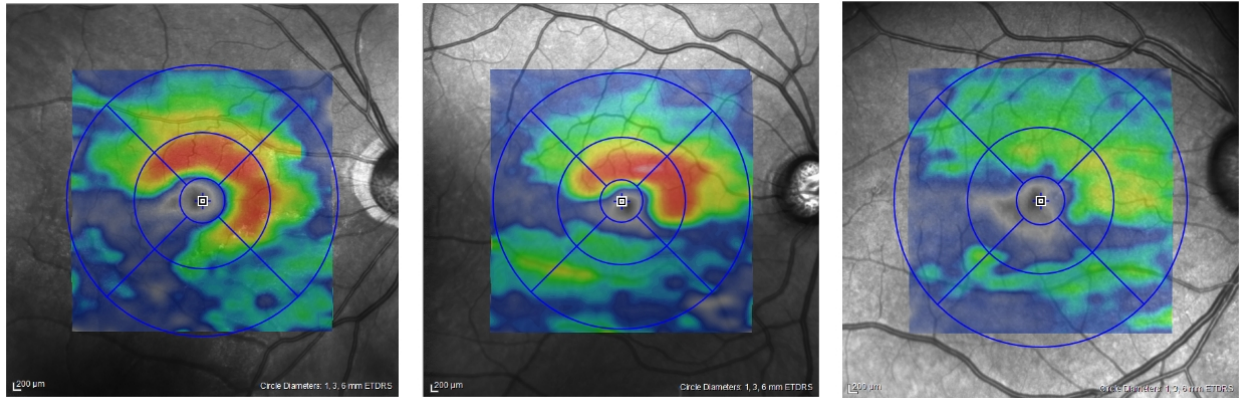
Las medidas del grosor de las capas internas de la retina podrían ser útiles no solo para el diagnóstico precoz del glaucoma sino también como herramienta para medir el efecto neuroprotector de los diferentes agentes terapéuticos[21]. Algunos estudios proponen que puesto que el efecto teórico del fármaco neuroprotector es retrasar la muerte de las células ganglionares, midiendo el grosor de la capa de células ganglionares se podrían encontrar diferencias en una población en tratamiento al compararla con otra sin el tratamiento.

Otro de los grandes problemas que acontecen al usar el análisis del grosor de la RNFL

peripapilar es la incapacidad de seguimiento de los pacientes con glaucoma avanzado, por el llamado efecto suelo. Conocemos como efecto suelo al efecto que se produce cuando la RNFL peripapilar es tan delgada que el OCT ya no es capaz de detectar pérdida de grosor de la misma. Puesto que el campo visual central es el que mejor se conserva en el glaucoma avanzado, el grosor de la CGL en el área macular podría ser un parámetro para medir la severidad y para realizar el seguimiento de los pacientes con glaucoma terminal cuando la RNFL peripapilar ya no resulta útil por el efecto suelo[22].

En un artículo publicado recientemente trata de identificar progresión en pacientes con glaucoma muy avanzado ( $MD < -21dB$ ) midiendo la RNFL peripapilar, la mínima apertura del anillo neuroretiniano, la desviación media del campo visual, el complejo GCL-IPL mediante OCT-Spectralis y un nuevo método propuesto por los autores de reconstrucción en tres dimensiones de la cabeza del nervio óptico, realizando un seguimiento de 5 años. Entre sus resultados destaca que tan solo el nuevo método propuesto por los autores y el complejo GCL-IPL detectó progresión en estos pacientes de manera estadísticamente significativa. En el caso del complejo GCL-IPL en este estudio se detectó una tasa de progresión de  $-0,18 \mu m/año$  ( $p=0,02$ ), mientras que no se detectó progresión con el campo visual[105]. En la Figura 2 se muestran 3 ejemplos de la distribución del grosor de las células ganglionares en 3 pacientes con glaucoma avanzado (Excavación papilar mayor de 0,8 y MD menor de  $-12dB$ )

**Figura 2.** Distribución del grosor de la CGL en tres pacientes diferentes con glaucoma avanzado (excavación papilar mayor de 0,8 y MD menor de -12Db)



Con los resultados actuales de la literatura se podría afirmar que no existen diferencias en la capacidad diagnóstica del grosor de las capas internas de la retina y el grosor de la RNFL peripapilar así como otros parámetros de la cabeza del nervio óptico[27]. Sin embargo algunos estudios apuntan a a que el grosor de las capas internas de la retina podría ser un parámetro mejor para detectar el daño glaucomatoso en la mácula[8], mientras que la RNFL peripapilar podría ser mejor detectando el daño que se produce fuera de la mácula. Por lo tanto es necesario continuar desarrollando nuevos métodos de imagen para combinarlos[7], ya que a día de hoy la mejor opción que ofrece mejor rentabilidad diagnóstica es la combinación de ambos métodos diagnósticos[36].

Nuestro estudio establece por primera vez una base de datos normativa del grosor de cada una de las capas internas de la retina, estos datos podrían ser incorporados al

software del OCT-Spectralis permitiendo la clasificación automática de los diferentes sectores maculares del ETDRS como normales, borderline y fuera de límites normales, lo cual sería de gran ayuda en la práctica clínica diaria. Estas bases de datos ya existen y son utilizadas a diario, en el propio OCT-Spectralis existe una base de datos para el grosor de la RNFL peripapilar y en otros OCT como el HD-Cirrus esta base de datos existe tanto para el grosor de la RNFL peripapilar como para el complejo GCL-IPL.

Así mismo, con los resultados de nuestro estudio, al igual que con las conclusiones de la revisión de la literatura realizada por la biblioteca Cochrane[27], podemos afirmar que no existen diferencias estadísticamente significativas en la capacidad diagnóstica del grosor de las capas internas de la retina, tanto medidas de manera individual, como en nuestro estudio, como medidas de manera (CCG o GCL-IPL); y el grosor de la capa de fibras nerviosas en el área peripapilar.





# CONCLUSIONES



## CONCLUSIONES

A continuación se enumeran las conclusiones que podemos obtener de los resultados de los dos estudios presentados previamente y que conforman esta tesis doctoral:

1. En el estudio I se establece una nueva base de datos normativa del grosor de las capas internas de la retina medido de manera individual con el OCT-Spectralis en una población sana y caucásica.
2. El grosor y el volumen de la retina así como de sus capas internas disminuye con la edad en la mayoría de los sectores estudiados de manera estadísticamente significativa.
3. Existen diferencias estadísticamente significativas en la mayoría los sectores de la retina y de la capa de células ganglionares al comparar el grosor de los mismos entre hombres y mujeres.
4. El grosor de la retina y de la capa de fibras nerviosas en el área macular aumenta ligeramente al aumentar la longitud axial de manera estadísticamente significativa en la mayoría de los sectores. Sin embargo la capa de células ganglionares y la plexiforme interna no se ven afectadas por el aumento de la longitud axial en la mayoría de los sectores.

5. En el estudio II se establece la capacidad diagnóstica de la base de datos normalidad en pacientes con glaucoma incipiente-moderado.
6. El mejor parámetro para detectar glaucoma en la capa de fibras nerviosas de la retina en el área macular es el grosor del sector inferior externo.
7. El mejor parámetro para detectar glaucoma en la capa de células ganglionares de la retina es el grosor del sector temporal externo.
8. El mejor parámetro para detectar glaucoma en la capa plexiforme interna es el grosor del sector temporal externo.
9. No existen diferencias estadísticamente significativas entre la capacidad diagnóstica de los mejores parámetros maculares de las capas internas de la retina y la capa de fibras nerviosas en el área peripapilar.



# CONCLUSIONS





## CONCLUSIONS

The following are the conclusions that we can obtain from the results of the two studies presented previously and that make up this doctoral thesis:

1. In study I a new normative database of the thickness of the internal layers of the retina measured individually with OCT-Spectralis in a healthy and Caucasian population is established.
2. The thickness and volume of the retina as well as its internal layers decreases with age in most of the studied sectors in a statistically significant way.
3. There are statistically significant differences in most sectors of the retina and the ganglion cell layer when comparing the thickness between men and women.
4. The thickness of the retina and the nerve fiber layer in the macular area increases slightly with increasing axial length in a statistically significant way in most sectors. However, the ganglion cell layer and inner plexiform layer are not affected by the increase of axial length in most sectors.
5. Study II established the diagnostic ability of the normative database in patients with incipient-moderate glaucoma.
6. The best parameter for detecting glaucoma in the retinal nerve fiber layer in

the macular area is the thickness of the outer inferior sector.

7. The best parameter for detecting glaucoma in the ganglion cell layer of the retina is the thickness of the outer temporal sector.

8. The best parameter to detect glaucoma in the inner plexiform layer is the thickness of the outer temporal sector.

9. There are no statistically significant differences between the diagnostic ability of the best macular parameters of the macular inner layers thickness and the retinal nerve fibers layer thickness in the peripapillary area.



# BIBLIOGRAFÍA





## BIBLIOGRAFÍA

- [1] H. A. Quigley, «Neuronal death in glaucoma.», *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 18, n.º 1, pp. 39-57, ene. 1999.
- [2] L. Vajzovic, A. E. Hendrickson, R. V O'Connell, L. A. Clark, D. Tran-Viet, D. Possin, S. J. Chiu, S. Farsiu, y C. A. Toth, «Maturation of the human fovea: correlation of spectral-domain optical coherence tomography findings with histology.», *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 154, n.º 5, p. 779-789.e2, nov. 2012.
- [3] R. F. Spaide y C. A. Curcio, «Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model.», *Retina*, vol. 31, n.º 8, pp. 1609-19, sep. 2011.
- [4] C. K. Leung, C. Y. Cheung, R. N. Weinreb, G. Lee, D. Lin, C. P. Pang, y D. S. C. Lam, «Comparison of macular thickness measurements between time domain and spectral domain optical coherence tomography.», *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 49, n.º 11, pp. 4893-7, nov. 2008.
- [5] I. Ctori y B. Huntjens, «Repeatability of Foveal Measurements Using Spectralis Optical Coherence Tomography Segmentation Software.», *PLoS One*, vol. 10, n.º 6, p. e0129005, ene. 2015.
- [6] T. Realini, L. M. Zangwill, J. G. Flanagan, D. Garway-Heath, V. M. Patella, C. A. Johnson, P. H. Artes, I. B. Gaddie, y M. Fingeret, «Normative Databases for Imaging Instrumentation.», *J. Glaucoma*, sep. 2014.
- [7] D. C. Hood, A. S. Raza, C. G. V de Moraes, J. M. Liebmann, y R. Ritch, «Glaucomatous damage of the macula.», *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 32, pp. 1-21, ene. 2013.
- [8] H. Y. Shin, H. Y. L. Park, K. I. Jung, J. A. Choi, y C. K. Park, «Glaucoma diagnostic ability of ganglion cell-inner plexiform layer thickness differs according to the location of visual field loss», *Ophthalmology*, vol. 121, n.º 1, pp. 93-99, ene. 2014.
- [9] S. Grover, R. K. Murthy, V. S. Brar, y K. V Chalam, «Normative Data for Macular Thickness by High-Definition Spectral-Domain Optical Coherence Tomography (Spectralis)», *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 148, n.º 2, pp. 266-271, ago. 2009.
- [10] K. Kanai, T. Abe, K. Murayama, y S. Yoneya, «[Retinal thickness and changes with age]», *Nihon Ganka Gakkai Zasshi*, vol. 106, n.º 3, pp. 162-165, mar. 2002.

- [11] A. Manassakorn, W. Chaidaroon, S. Ausayakhun, S. Aupapong, y S. Wattananikorn, «Normative database of retinal nerve fiber layer and macular retinal thickness in a Thai population.», *Jpn. J. Ophthalmol.*, vol. 52, n.º 6, pp. 450-6, ene. .
- [12] B. Appukuttan, A. Giridhar, M. Gopalakrishnan, y S. Sivaprasad, «Normative spectral domain optical coherence tomography data on macular and retinal nerve fiber layer thickness in Indians.», *Indian J. Ophthalmol.*, vol. 62, n.º 3, pp. 316-21, mar. 2014.
- [13] N. Demirkaya, H. W. van Dijk, S. M. van Schuppen, M. D. Abràmoff, M. K. Garvin, M. Sonka, R. O. Schlingemann, y F. D. Verbraak, «Effect of age on individual retinal layer thickness in normal eyes as measured with spectral-domain optical coherence tomography», *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 54, n.º 7, pp. 4934-4940, jul. 2013.
- [14] C. A. P. Cavallotti y L. Cerulli, Eds., *Age-Related Changes of the Human Eye*. Totowa, NJ: Humana Press, 2008.
- [15] P. Massin, A. Erginay, B. Haouchine, A. Ben Mehidi, M. Paques, y A. Gaudric, «Retinal thickness in healthy and diabetic subjects measured using optical coherence tomography mapping software.», *Eur. J. Ophthalmol.*, vol. 12, n.º 2, pp. 102-8.
- [16] A. Chan, J. S. Duker, T. H. Ko, J. G. Fujimoto, y J. S. Schuman, «Normal macular thickness measurements in healthy eyes using Stratus optical coherence tomography.», *Arch. Ophthalmol. (Chicago, Ill. 1960)*, vol. 124, n.º 2, pp. 193-8, feb. 2006.
- [17] P. J. Kelty, J. F. Payne, R. H. Trivedi, J. Kelty, E. M. Bowie, y B. M. Burger, «Macular thickness assessment in healthy eyes based on ethnicity using stratus OCT optical coherence tomography», *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 49, n.º 6, pp. 2668-2672, jun. 2008.
- [18] D. S. Chauhan y J. Marshall, «The interpretation of optical coherence tomography images of the retina.», *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 40, n.º 10, pp. 2332-2342, sep. 1999.
- [19] A. Akashi, A. Kanamori, K. Ueda, Y. Inoue, Y. Yamada, y M. Nakamura, «The ability of SD-OCT to differentiate early glaucoma with high myopia from highly myopic controls and nonhighly myopic controls», *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 56, n.º 11, pp. 6573-6580, oct. 2015.
- [20] R. W. Knighton, G. Gregori, y D. L. Budenz, «Variance reduction in a dataset of

- normal macular ganglion cell plus inner plexiform layer thickness maps with application to glaucoma diagnosis», *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 53, n.º 7, pp. 3653-3661, jun. 2012.
- [21] S. I. Balendra, E. M. Normando, P. A. Bloom, y M. F. Cordeiro, «Advances in retinal ganglion cell imaging.», *Eye (Lond)*., vol. 29, n.º 10, pp. 1260-9, oct. 2015.
- [22] J.-C. Mwanza, M. K. Durbin, D. L. Budenz, F. E. Sayyad, R. T. Chang, A. Neelakantan, D. G. Godfrey, R. Carter, y A. S. Crandall, «Glaucoma diagnostic accuracy of ganglion cell-inner plexiform layer thickness: comparison with nerve fiber layer and optic nerve head.», *Ophthalmology*, vol. 119, n.º 6, pp. 1151-8, jun. 2012.
- [23] O. Tan, V. Chopra, A. T. H. Lu, J. S. Schuman, H. Ishikawa, G. Wollstein, R. Varma, y D. Huang, «Detection of Macular Ganglion Cell Loss in Glaucoma by Fourier-Domain Optical Coherence Tomography», *Ophthalmology*, vol. 116, n.º 12, p. 2305-2314.e2, 2009.
- [24] J. L. Chien, M. P. Ghassibi, T. Patthanathamrongkasem, R. Abumasmah, M. S. Rosman, A. Skaat, C. Tello, J. M. Liebmann, R. Ritch, y S. C. Park, «Glaucoma Diagnostic Capability of Global and Regional Measurements of Isolated Ganglion Cell Layer and Inner Plexiform Layer», *J. Glaucoma*, p. 1, nov. 2016.
- [25] J. M. Martinez-de-la-Casa, P. Cifuentes-Canorea, C. Berrozpe, M. Sastre, V. Polo, J. Moreno-Montañes, y J. Garcia-Feijoo, «Diagnostic ability of macular nerve fiber layer thickness using new segmentation software in glaucoma suspects.», *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 55, n.º 12, pp. 8343-8, dic. 2014.
- [26] K. M. Lee, E. J. Lee, T. W. Kim, y H. Kim, «Comparison of the abilities of SD-OCT and SS-OCT in evaluating the thickness of the macular inner retinal layer for glaucoma diagnosis», *PLoS One*, vol. 11, n.º 1, p. e0147964, ene. 2016.
- [27] M. Michelessi, E. Lucenteforte, F. Oddone, M. Brazzelli, M. Parravano, S. Franchi, S. M. Ng, y G. Virgili, «Optic nerve head and fibre layer imaging for diagnosing glaucoma», *Cochrane database Syst. Rev.*, vol. 11, p. CD008803, nov. 2015.
- [28] F. Oddone, E. Lucenteforte, M. Michelessi, S. Rizzo, S. Donati, M. Parravano, y G. Virgili, «Macular versus Retinal Nerve Fiber Layer Parameters for Diagnosing Manifest Glaucoma: A Systematic Review of Diagnostic Accuracy Studies», *Ophthalmology*, vol. 123, n.º 5, pp. 939-949, may-2016.
- [29] J. Y. Won, S. E. Kim, y Y.-H. Park, «Effect of age and sex on retinal layer

- thickness and volume in normal eyes», *Medicine (Baltimore)*, vol. 95, n.º 46, p. e5441, nov. 2016.
- [30] D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito, y A. Et, «Optical coherence tomography.», *Science*, vol. 254, n.º 5035, pp. 1178-81, nov. 1991.
- [31] Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, E. Chew, S. Strauber, R. Beck, L. P. Aiello, A. Antoszyk, N. Bressler, D. Browning, R. Danis, J. Fan, C. Flaxel, S. Friedman, A. Glassman, C. Kollman, y H. Lazarus, «Randomized Trial of Peribulbar Triamcinolone Acetonide with and without Focal Photocoagulation for Mild Diabetic Macular Edema. A Pilot Study», *Ophthalmology*, vol. 114, n.º 6, pp. 1190-6, jun. 2007.
- [32] E. Garcia-Valenzuela, S. Shareef, J. Walsh, y S. C. Sharma, «Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma.», *Exp. Eye Res.*, vol. 61, n.º 1, pp. 33-44, jul. 1995.
- [33] H. A. Quigley y A. T. Broman, «The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020.», *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 90, n.º 3, pp. 262-7, mar. 2006.
- [34] Y. J. Choi, J. W. Jeoung, K. H. Park, y D. M. Kim, «Glaucoma detection ability of ganglion cell-inner plexiform layer thickness by spectral-domain optical coherence tomography in high myopia.», *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 54, n.º 3, pp. 2296-304, mar. 2013.
- [35] R. Lisboa, A. Paranhos, R. N. Weinreb, L. M. Zangwill, M. T. Leite, y F. A. Medeiros, «Comparison of different spectral domain OCT scanning protocols for diagnosing preperimetric glaucoma.», *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 54, n.º 5, pp. 3417-25, may 2013.
- [36] J.-C. Mwanza, D. L. Budenz, D. G. Godfrey, A. Neelakantan, F. E. Sayyad, R. T. Chang, y R. K. Lee, «Diagnostic performance of optical coherence tomography ganglion cell--inner plexiform layer thickness measurements in early glaucoma.», *Ophthalmology*, vol. 121, n.º 4, pp. 849-54, abr. 2014.
- [37] R. S. Anderson, «The psychophysics of glaucoma: improving the structure/function relationship.», *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 25, n.º 1, pp. 79-97, ene. 2006.
- [38] Alward WLM., *Glaucoma: los requisitos en oftalmología*. Mosbi, 2000.
- [39] B. Thylefors y A. D. Negrel, «The global impact of glaucoma», *Bulletin of the World Health Organization*, vol. 72, n.º 3, pp. 323-326, 1994.
- [40] R. Susanna, C. G. De Moraes, G. A. Cioffi, y R. Ritch, «Why Do People (Still)

- Go Blind from Glaucoma?», *Transl. Vis. Sci. Technol.*, vol. 4, n.º 2, p. 1, sep. 2015.
- [41] European Glaucoma Society, *Terminology and guidelines for glaucoma*. PubliComm, 2014.
- [42] L. Bonomi, G. Marchini, M. Marraffa, P. Bernardi, I. De Franco, S. Perfetri, A. Varotto, y V. Tenna, «Prevalence of glaucoma and intraocular pressure distribution in a defined population: The Egna-Neumarkt study», *Ophthalmology*, vol. 105, n.º 2, pp. 209-215, feb. 1998.
- [43] J. M. Tielsch, A. Sommer, J. Katz, R. M. Royall, H. A. Quigley, y J. Javitt, «Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey.», *JAMA*, vol. 266, n.º 3, pp. 369-74, jul. 1991.
- [44] A. Antón, M. T. Andrada, V. Mujica, M. A. Calle, J. Portela, y A. Mayo, «Prevalence of primary open-angle glaucoma in a Spanish population: the Segovia study.», *J. Glaucoma*, vol. 13, n.º 5, pp. 371-6, oct. 2004.
- [45] J. M. Tielsch, J. Katz, K. Singh, H. A. Quigley, J. D. Gottsch, J. Javitt, y A. Sommer, «A population-based evaluation of glaucoma screening: the Baltimore Eye Survey.», *Am. J. Epidemiol.*, vol. 134, n.º 10, pp. 1102-1110, nov. 1991.
- [46] A. Le, B. N. Mukesh, C. A. McCarty, y H. R. Taylor, «Risk factors associated with the incidence of open-angle glaucoma: The visual impairment project», *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 44, n.º 9, pp. 3783-3789, sep. 2003.
- [47] R. C. Wolfs, C. C. Klaver, R. S. Ramrattan, C. M. van Duijn, A. Hofman, y P. T. de Jong, «Genetic risk of primary open-angle glaucoma. Population-based familial aggregation study.», *Arch. Ophthalmol.*, vol. 116, n.º 12, pp. 1640-1645, dic. 1998.
- [48] M. C. Leske, S. Y. Wu, A. Hennis, R. Honkanen, y B. Nemesure, «Risk Factors for Incident Open-angle Glaucoma. The Barbados Eye Studies», *Ophthalmology*, vol. 115, n.º 1, pp. 85-93, 2008.
- [49] M. O. Gordon, J. A. Beiser, J. D. Brandt, D. K. Heuer, E. J. Higginbotham, C. A. Johnson, J. L. Keltner, J. P. Miller, R. K. Parrish, M. R. Wilson, y M. A. Kass, «The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma.», *Arch. Ophthalmol. (Chicago, Ill. 1960)*, vol. 120, n.º 6, pp. 714-20-30, jun. 2002.
- [50] M. A. Czudowska, W. D. Ramdas, R. C. W. Wolfs, A. Hofman, P. T. V. M. De Jong, J. R. Vingerling, y N. M. Jansonius, «Incidence of glaucomatous visual field loss: A ten-year follow-up from the Rotterdam study», *Ophthalmology*, vol.

117, n.º 9, pp. 1705-1712, 2010.

- [51] M. A. Kass, D. K. Heuer, E. J. Higginbotham, C. A. Johnson, J. L. Keltner, J. P. Miller, R. K. Parrish, M. R. Wilson, y M. O. Gordon, «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.*, vol. 120, n.º 6, pp. 701-13-30, jun. 2002.
- [52] M. C. Leske, A. Heijl, L. Hyman, B. Bengtsson, L. Dong, y Z. Yang, «Predictors of Long-term Progression in the Early Manifest Glaucoma Trial», *Ophthalmology*, vol. 114, n.º 11, pp. 1965-1972, 2007.
- [53] M. Brechtel-Bindel, O. González-Urquidí, M. A. De la Fuente-Torres, G. Aguilar-Montes, M. Bustos-Zepeda, T. Hernandez-Ordoñez, y J. González-Dávila, «Glaucoma primario de ángulo abierto», *Rev Hosp Gral Dr. M Gea González*, vol. 4, n.º 3, pp. 61-68, 2001.
- [54] J. 1940- García Sánchez, *Diagnóstico y tratamiento del glaucoma de ángulo abierto*. Sociedad Española de Oftalmología, 2013.
- [55] R. Sachdeva, «Functional anatomy of macula and diagnostic procedures for macular function in clear media», *Indian J. Ophthalmol.*, vol. 31, n.º 3, pp. 105-108, may 1983.
- [56] D. J. Apple, «Anatomy and histopathology of the macular region.», *Int. Ophthalmol. Clin.*, vol. 21, n.º 3, pp. 1-9, 1981.
- [57] F. Armadá Maresca, *Patología y cirugía de la mácula*. Sociedad Española de Oftalmología, 2010.
- [58] Alder, *Fisiología del ojo: Anatomía de la retina*, 10º. Madrid: Mosby, 2004.
- [59] F. Escalada, A. Follonosa, y J. García-Arumí, *Patología macular. Diagnóstico y tratamiento*. Ediciones medicas SL, 2008.
- [60] F. J. Muñoz Negrete, G. Rebolleda Fernández, y M. Díaz Llopis, *Tomografía de coherencia óptica*. Sociedad Española de Oftalmología, 2011.
- [61] D. F. Kiernan, W. F. Mieler, y S. M. Hariprasad, «Spectral-Domain Optical Coherence Tomography: A Comparison of Modern High-Resolution Retinal Imaging Systems», *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 149, n.º 1, p. 18-31.e2, 2010.
- [62] T. C. Chen, «Spectral domain optical coherence tomography in glaucoma: qualitative and quantitative analysis of the optic nerve head and retinal nerve fiber layer (an AOS thesis).», *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.*, vol. 107, pp. 254-81, dic. 2009.

- [63] I. Pinilla, J. M. Ruiz-Moreno, y N. Cuenca, «Correlación de la tomografía de coherencia óptica con la histología retiniana», *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, vol. 87, n.º 9. Sociedad Española de Oftalmología, pp. 275-277, sep-2012.
- [64] R. F. Spaide y C. A. Curcio, «Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model.», *Retina*, vol. 31, n.º 8, pp. 1609-19, sep. 2011.
- [65] R. F. Spaide, H. Koizumi, y M. C. Pozzoni, «Enhanced Depth Imaging Spectral-Domain Optical Coherence Tomography», *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 146, n.º 4, pp. 496-500, 2008.
- [66] R. Margolis y R. F. Spaide, «A Pilot Study of Enhanced Depth Imaging Optical Coherence Tomography of the Choroid in Normal Eyes», *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 147, n.º 5, pp. 811-815, 2009.
- [67] N. J. Reus, M. de Graaf, y H. G. Lemij, «Accuracy of GDx VCC, HRT I, and clinical assessment of stereoscopic optic nerve head photographs for diagnosing glaucoma.», *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 91, n.º 3, pp. 313-318, mar. 2007.
- [68] L. M. Zangwill, R. N. Weinreb, C. C. Berry, A. R. Smith, K. A. Dirkes, A. L. Coleman, J. R. Piltz-Seymour, J. M. Liebmann, G. A. Cioffi, G. Trick, J. D. Brandt, M. O. Gordon, y M. A. Kass, «Racial differences in optic disc topography: baseline results from the confocal scanning laser ophthalmoscopy ancillary study to the ocular hypertension treatment study.», *Arch. Ophthalmol.*, vol. 122, n.º 1, pp. 22-8, ene. 2004.
- [69] Y. Kita, R. Kita, A. Takeyama, G. Tomita, y I. Goldberg, «Effect of high myopia on glaucoma diagnostic parameters measured with optical coherence tomography.», *Clin. Experiment. Ophthalmol.*, vol. 42, n.º 8, pp. 722-8, nov. 2014.
- [70] C. A. Girkin, G. McGwin, M. J. Sinai, G. C. Sekhar, M. Fingeret, G. Wollstein, R. Varma, D. Greenfield, J. Liebmann, M. Araie, G. Tomita, N. Maeda, y D. F. Garway-Heath, «Variation in Optic Nerve and Macular Structure with Age and Race with Spectral-Domain Optical Coherence Tomography», *Ophthalmology*, vol. 118, n.º 12, pp. 2403-2408, 2011.
- [71] J. L. Anctil y D. R. Anderson, «Early foveal involvement and generalized depression of the visual field in glaucoma.», *Arch. Ophthalmol.*, vol. 102, n.º 3, pp. 363-70, mar. 1984.
- [72] A. Heijl y L. Lundqvist, «The frequency distribution of earliest glaucomatous

- visual field defects documented by automatic perimetry.», *Acta Ophthalmol.*, vol. 62, n.º 4, pp. 658-64, ago. 1984.
- [73] S. P. Nicholas y E. B. Werner, «Location of early glaucomatous visual field defects.», *Can. J. Ophthalmol.*, vol. 15, n.º 3, pp. 131-3, jul. 1980.
- [74] S. M. Drance, «Some studies of the relationships of haemodynamics and ocular pressure in open-angle glaucoma», *Trans Ophthalmol Soc U K*, vol. 88, pp. 633-640, 1969.
- [75] M. Wang, D. C. Hood, J.-S. Cho, Q. Ghadiali, G. V. De Moraes, X. Zhang, R. Ritch, J. M. Liebmann, G.-H. DF, B. C, H. DC, G.-H. DF, H. DC, H. DC, L. JI, I. H, D. N, F. DC, G. MK, G. Y, F. LJ, L. CK, S.-G. CA, B. DL, N.-M. K, y K. FN, «Measurement of Local Retinal Ganglion Cell Layer Thickness in Patients With Glaucoma Using Frequency-Domain Optical Coherence Tomography», *Arch. Ophthalmol.*, vol. 127, n.º 7, p. 875, jul. 2009.
- [76] D. Poinosawmy, L. Fontana, J. X. Wu, F. W. Fitzke, y R. A. Hitchings, «Variation of nerve fibre layer thickness measurements with age and ethnicity by scanning laser polarimetry.», *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 81, n.º 5, pp. 350-4, may 1997.
- [77] D. L. Budenz, D. R. Anderson, R. Varma, J. Schuman, L. Cantor, J. Savell, D. S. Greenfield, V. M. Patella, H. A. Quigley, y J. Tielsch, «Determinants of Normal Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Measured by Stratus OCT», *Ophthalmology*, vol. 114, n.º 6, pp. 1046-1052, 2007.
- [78] R. S. Parikh, S. R. Parikh, G. C. Sekhar, S. Prabakaran, J. G. Babu, y R. Thomas, «Normal Age-Related Decay of Retinal Nerve Fiber Layer Thickness», *Ophthalmology*, vol. 114, n.º 5, pp. 921-926, 2007.
- [79] D. C. Hood, S. C. Anderson, M. Wall, A. S. Raza, y R. H. Kardon, «A test of a linear model of glaucomatous structure-function loss reveals sources of variability in retinal nerve fiber and visual field measurements», *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 50, n.º 9, pp. 4254-4266, sep. 2009.
- [80] C. A. Curcio y K. A. Allen, «Topography of ganglion cells in human retina.», *J. Comp. Neurol.*, vol. 300, n.º 1, pp. 5-25, oct. 1990.
- [81] J.-C. Mwanza, M. K. Durbin, D. L. Budenz, C. A. Girkin, C. K. Leung, J. M. Liebmann, J. H. Peace, J. S. Werner, y G. Wollstein, «Profile and predictors of normal ganglion cell-inner plexiform layer thickness measured with frequency-domain optical coherence tomography.», *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 52, n.º 11, pp. 7872-9, oct. 2011.

- [82] S. Ooto, M. Hangai, A. Tomidokoro, H. Saito, M. Araie, T. Otani, S. Kishi, K. Matsushita, N. Maeda, M. Shirakashi, H. Abe, S. Ohkubo, K. Sugiyama, A. Iwase, y N. Yoshimura, «Effects of age, sex, and axial length on the three-dimensional profile of normal macular layer structures.», *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 52, n.º 12, pp. 8769-79, 2011.
- [83] S. M. Drance, «The visual field of low tension glaucoma and shock-induced optic neuropathy.», *Arch. Ophthalmol. (Chicago, Ill. 1960)*, vol. 95, n.º 8, pp. 1359-61, ago. 1977.
- [84] R. A. Lewis y C. D. Phelps, «A comparison of visual field loss in primary open-angle glaucoma and the secondary glaucomas.», *Ophthalmologica.*, vol. 189, n.º 1-2, pp. 41-8, 1984.
- [85] J. L. Keltner, C. A. Johnson, K. E. Cello, M. A. Edwards, S. E. Bandermann, M. A. Kass, y M. O. Gordon, «Classification of visual field abnormalities in the ocular hypertension treatment study», *Arch Ophthalmol*, vol. 121, n.º 5, pp. 643-650, may 2003.
- [86] N. Drasdo, C. L. Millican, C. R. Katholi, y C. A. Curcio, «The length of Henle fibers in the human retina and a model of ganglion receptive field density in the visual field», *Vision Res.*, vol. 47, n.º 22, pp. 2901-2911, oct. 2007.
- [87] I. Traynis, C. G. De Moraes, A. S. Raza, J. M. Liebmann, R. Ritch, y D. C. Hood, «Prevalence and nature of early glaucomatous defects in the central 10º of the visual field.», *JAMA Ophthalmol.*, vol. 132, n.º 3, pp. 291-7, mar. 2014.
- [88] U. Schiefer, E. Papageorgiou, P. A. Sample, J. P. Pascual, B. Selig, E. Krapp, y J. Paetzold, «Spatial pattern of glaucomatous visual field loss obtained with regionally condensed stimulus arrangements.», *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 51, n.º 11, pp. 5685-9, nov. 2010.
- [89] Y. W. Lan, I. J. Wang, Y. C. Hsiao, F. J. Sun, y J. W. Hsieh, «Characteristics of Disc Hemorrhage in Primary Angle-closure Glaucoma», *Ophthalmology*, vol. 115, n.º 8, p. 1328-1333.e1, 2008.
- [90] S. C. Park, C. G. De Moraes, C. C. W. Teng, C. Tello, J. M. Liebmann, y R. Ritch, «Initial Parafoveal Versus Peripheral Scotomas in Glaucoma: Risk Factors and Visual Field Characteristics», *Ophthalmology*, vol. 118, n.º 9, pp. 1782-1789, 2011.
- [91] M. T. Leite, L. M. Zangwill, R. N. Weinreb, H. L. Rao, L. M. Alencar, y F. A. Medeiros, «Structure-function relationships using the Cirrus spectral domain optical coherence tomograph and standard automated perimetry.», *J. Glaucoma*,

- vol. 21, n.º 1, pp. 49-54, ene. 2012.
- [92] H. L. Rao, J. G. Babu, U. K. Addepalli, S. Senthil, y C. S. Garudadri, «Retinal nerve fiber layer and macular inner retina measurements by spectral domain optical coherence tomograph in Indian eyes with early glaucoma.», *Eye (Lond)*, vol. 26, n.º 1, pp. 133-9, ene. 2012.
- [93] D. C. Hood, A. S. Raza, C. G. V de Moraes, C. A. Johnson, J. M. Liebmann, y R. Ritch, «The Nature of Macular Damage in Glaucoma as Revealed by Averaging Optical Coherence Tomography Data.», *Transl. Vis. Sci. Technol.*, vol. 1, n.º 1, p. 3, may 2012.
- [94] J. Wook Jeoung, Y. Jeong Choi, K. Ho Park, y D. Myung Kim, «Macular Ganglion Cell Imaging Study: Glaucoma Diagnostic Accuracy of Spectral-Domain Optical Coherence Tomography», *Invest Oph-thalmol Vis Sci*, vol. 54, n.º 7, pp. 4422-4429, jul. 2013.
- [95] U. Eriksson y A. Alm, «Macular thickness decreases with age in normal eyes: a study on the macular thickness map protocol in the Stratus OCT.», *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 93, n.º 11, pp. 1448-1452, nov. 2009.
- [96] M. X. Repka y H. A. Quigley, «The Effect of Age on Normal Human Optic Nerve Fiver Number and Diameter», *Ophthalmology*, vol. 96, n.º 1, pp. 26-32, ene. 1989.
- [97] J. B. Jonas, L. Xu, W. Bin Wei, Z. Pan, H. Yang, L. Holbach, S. Panda-Jonas, y Y. X. Wang, «Retinal Thickness and Axial Length», *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, vol. 57, n.º 4, p. 1791, abr. 2016.
- [98] R. A. Jonas, Y. X. Wang, H. Yang, J. J. Li, L. Xu, S. Panda-Jonas, y J. B. Jonas, «Optic disc -Fovea distance, axial length and parapapillary Zones. The Beijing eye study 2011», *PLoS One*, vol. 10, n.º 9, p. e0138701, sep. 2015.
- [99] G. Yin, Y. X. Wang, Z. Y. Zheng, H. Yang, L. Xu, J. B. Jonas, y Beijing Eye Study Group, «Ocular axial length and its associations in Chinese: the Beijing Eye Study.», *PLoS One*, vol. 7, n.º 8, p. e43172, ago. 2012.
- [100] J. Wang, X. Gao, W. Huang, W. Wang, S. Chen, S. Du, X. Li, y X. Zhang, «Swept-source optical coherence tomography imaging of macular retinal and choroidal structures in healthy eyes.», *BMC Ophthalmol.*, vol. 15, n.º 1, p. 122, sep. 2015.
- [101] X. R. Duan, Y. B. Liang, D. S. Friedman, L. P. Sun, T. Y. Wong, Q. S. Tao, L. Bao, N. L. Wang, y J. J. Wang, «Normal macular thickness measurements using optical coherence tomography in healthy eyes of adult Chinese persons: The

- Handan Eye Study», *Ophthalmology*, vol. 117, n.º 8, pp. 1585-1594, ago. 2010.
- [102] S. Bravo-Grau y J. P. Cruz Q, «Estudios de exactitud diagnóstica : Herramientas para su Interpretación», *Rev. Chil. Radiol.*, vol. 21, n.º 1, pp. 158-164, 2015.
- [103] J. Cerda y L. Cifuentes, «Using ROC curves in clinical investigation: theoretical and practical issues», *Rev. Chil. infectología*, vol. 29, n.º 2, pp. 138-41, abr. 2012.
- [104] Z. Yang, A. J. Tatham, R. N. Weinreb, F. A. Medeiros, T. Liu, y L. M. Zangwill, «Diagnostic ability of macular ganglion cell inner plexiform layer measurements in glaucoma using swept source and spectral domain optical coherence tomography», *PLoS One*, vol. 10, n.º 5, p. e0125957, 2015.
- [105] A. Belghith, F. A. Medeiros, C. Bowd, J. M. Liebmann, C. A. Girkin, R. N. Weinreb, y L. M. Zangwill, «Structural change can be detected in advanced-glaucoma eyes», *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 57, n.º 9, pp. 511-518, jul. 2016.





# ANEXOS



## ANEXO I

### INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### TITULO DEL ESTUDIO:

*Base de datos normativa del grosor de la capa de células ganglionares de la retina medido con OCT Spectralis*

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.

Con este estudio se pretende establecer los valores de normalidad del grosor de la capa de células ganglionares de la retina en la población general medida con OCT Spectralis.

## **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 una visita, haciéndola coincidir en la medida de lo posible con las revisiones. En la visita, se le realizará la prueba de imagen descrita anteriormente de su mácula. No se trata de pruebas invasivas ya que consisten básicamente en un sistema óptico que toma imágenes de su ojo, sin ponerse en contacto con él. No se han descrito complicaciones ni efectos secundarios tras la realización de estas pruebas. Los instrumentos de medida se emplean de manera habitual en la práctica clínica para el estudio de pacientes con glaucoma, otras patologías del nervio óptico y de la mácula como el glaucoma o la Degeneración Macular Asociada a la Edad.

## **VENTAJAS DE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO.**

Durante su participación en el estudio se llevará a cabo una exploración oftalmológica y pruebas de imagen de la mácula para asegurar la ausencia de patología ocular.

## **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.

## **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**

Durante el estudio se recogerán datos sobre su estado de salud, la fecha de nacimiento y los resultados de las exploraciones. Esta información se procesará y guardará en un ordenador. Sin embargo, sus datos personales se tratarán de forma rigurosamente confidencial. El resultado del estudio se podrá publicar en una revista médica pero sin desvelar su identidad. En todo caso se cumplirá con la ley orgánica sobre protección de datos de carácter personal (Ley 15/99). Por último, es posible que los representantes designados por las autoridades sanitarias o el comité de ética que apruebe el estudio inspeccionen su historial para confirmar que el estudio se ha ejecutado de modo correcto. Toda esta información se tratará de manera rigurosamente confidencial. Los resultados podrán publicarse pero su nombre no aparecerá en ningún informe o publicación.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley que regula la Investigación Biomédica (14/07) y a toda la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (ley 15/1999, de Protección de datos de carácter personal y RD 1720/2007). De acuerdo a lo que establece la legislación, los pacientes podrán ejercer sus derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberán dirigirse a

su médico del estudio.

Asimismo, tendrán derecho a solicitar en cualquier momento, y sin necesidad de especificar el motivo, la eliminación de su información de la base de datos del estudio.

Sólo se transmitirán a terceros los datos recogidos para el estudio, que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente. En el caso de que se produzca esta cesión, será para fines de investigación y garantizando la confidencialidad, como mínimo, con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

### **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.**

**Titulo del estudio:**

*“Base de datos normativa del grosor de la capa de células ganglionares de la retina medido con OCT Spectralis”*

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



## ANEXO II

### **INFORMATION AND INFORMED CONSENT FORM**

#### **STUDY TITLE:**

*Diagnostic ability of Spectralis SD-OCT macular inner layers thickness to discriminate normal from glaucomatous eyes whit a normative database.*

*This consent form may contain words you do not understand. Please, ask your doctor o the study staff any word or information you do not clearly understand.*

#### **INTRODUCTION:**

You were asked to participate in a research study. Before you decide if you want to participate, read carefully this consent form and ask as many questions as you want. The decision to participate in the study is voluntary and you can withdraw your decision at any time. Your decision to not participate or the withdrawal of your participation in the study will not impact the relationship with your doctor, neither will damage your treatment. You will be informed if there are news that can affect your willingness to participate in the study. If your doctor thinks it will be better for you, he/she might withdraw you from the study with or without your consent.

## **BACKGROUND AND OBJECTIVE.**

With this study, we intend to establish normality values of the retinal ganglion cell layer thickness on the general population measured with OCT Spectralis.

## **DESCRIPTION OF THE STUDY PROCEDURE.**

If you have a particular interest on participating in the study, information about your clinical/ophthalmological history, drugs used, and medical information will be collected to ensure that some specific criteria are met.

If you meet the study criteria, the tests will be performed in one visit that will be preferably coincident with your programmed follow-ups. During the visit, an image test of your *macula* using optical coherence tomography. Tests are not invasive, they basically consist of an optical system that takes pictures of your eye, without making contact with your eye. Neither events nor adverse events were described after performing these tests. Measurement instruments are used regularly on the clinical practice for studying patients with glaucoma, or other optical nerve or *macula* pathologies, as glaucoma or Age-Related Macular Degeneration.

## **BENEFITS OF PARTICIPATING ON THE STUDY.**

During your participation in the study an ophthalmological examination and imaging tests of the *macula* will be performed to ensure the absence of pathology.

## **ADVERSE EVENTS/RISKS.**

Do not hesitate to ask your doctor if you have any questions regarding the examinations that you will be performed.

Problems related to performing these tests have not been described.

### **UNEXPECTED RISKS**

In addition to these risks, some unexpected risks could arise. If any health condition arises, you should immediately inform your doctor if you think it might be related with the study or it might not.

### **CONFIDENTIALITY**

During the study, information about your health condition, date of birth and the examination results will be collected. This information will be processed and stored with a computer. However, your personal information will be handled with strict confidentiality. The study result could be published on a medical journey but your identity will not be revealed. The Belgian law for protection of personal data will be always fulfilled (Directive 95/46/EC and Belgian law of December 8, 1992 on the Protection of the Privacy in relation to the Processing of Personal Data). Finally, it is possible for the representatives appointed by health authorities or the ethics committee approving the study inspecting your medical record to confirm the study was performed correctly. All this information will be handled with strict confidentiality. Results could be published but your name will not figure in any report or publication.

Personal data treatment, communication and transfer from every subject participating will be in accordance with the requirements of the Belgian law and any valid regulation

about personal data protection. According to what the regulation establishes, patients can exercise their right to access, modify, oppose and cancel their data addressing their study doctor.

Furthermore, they have the right to request the elimination of their information from the study database at any time and an explanation will not be necessary.

The information obtained for the study will only be transmitted to a third party, and under no circumstances will contain data that could reveal your identity directly. If this transfer takes place, it will be for investigational purposes and confidentiality will be guaranteed, at the very least, with the protection level of the valid regulations in Belgium.

#### **VOLUNTARY PARTICIPATION**

Participation in this study is voluntary. If you decide not to take part or resign at any moment, you will not lose any of the benefits that you would have otherwise.

#### **EARLY ENDING**

As in any other study, an early ending of the study or the end of your participation before the final visit without your consent are possible.

#### **NEW FINDINGS**

If new findings appear on the study that could affect your willingness to participate or affect your health during or after your participation on this study, the study doctor will

notify you.

You will receive a signed and dated copy of this form.

**Informed consent form:**

**Study title:**

Diagnostic ability of Spectralis SD-OCT macular inner layers thickness to discriminate normal from glaucomatous eyes with a normative database.

I:

(Name and surnames)

State that I have been extensively and successfully orally informed and I have read this document, I have understood it and I agree with the explanations of the procedure. I state I could ask questions about the study.

I have spoken with:

(Name of the investigator)

I understand that my participation is voluntary. I understand that I can withdraw from the study:

1<sup>st</sup> when I desire to

2<sup>nd</sup> without giving any explanations

3<sup>rd</sup> without it having an impact on my medical care

1. *I freely agree to participate on this study.*

**Participant's signature**

**Date**

Investigator's signature

Date

## ANEXO III

### CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

#### VISITA DE SELECCIÓN.

Centro del estudio \_ \_ \_

Identificación del paciente: Iniciales \_ \_ \_ \_ Número del paciente \_ \_ \_

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

Fecha de la última visita: \_ \_ \_ \_ (mm/aa)

---

#### ANTECEDENTES PERSONALES

Indicar la historia clínica conocida

- **GLAUCOMA:**

Antecedentes familiares : \_ \_

- **CARDIOVASCULARES:**

HTA  Insuficiencia cardiovascular

Insuficiencia coronaria  Enfermedades de la sangre

Bloqueo auriculoventricular

En caso afirmativo, indicar \_\_\_\_\_

Otras, indicar \_\_\_\_\_

---

Lesiones vasculares locales: migraña  Isquemia

- **PULMONARES:**

Asma  EPOC

Otras, indicar: \_\_\_\_\_

- **ENDOCRINOLÓGICAS:**

Diabetes  Alteraciones tiroideas

Otras, indicar \_\_\_\_\_

- **METABÓLICAS:**

Insuficiencia renal

Insuficiencia hepática

- **OFTÁLMICAS:**

Uso de lentes de contacto

Sequedad ocular

---

## MEDICACIÓN

Indicar los principales medicamentos tomados de forma regular por el paciente

Indicar \_\_\_\_\_

---

## ENFERMEDADES ACTUALES OCULARES

No glaucoma ni hipertensión

## EXPLORACION OFTALMOLÓGICA BASAL:

Agudeza visual con corrección:

- OD:

- OI:

Auto-Refractometría

- OD:

- OI:

Longitud axial:

-OD:

-OI:

Fondo de ojo:

- OD:
- OI:

FIRMA CONSENTIMIENTO: SI - NO

## **VISITA DEL ESTUDIO:**

Iniciales paciente:

Número paciente:

Fecha de la visita : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ ( dd/mm/aa/).

OJO DE ESTUDIO:

¿Se realiza medida de la longitud axial con Biometro Lenstar?

SI NO

¿Se realiza Autorefractometría?

SI NO

¿Se realiza tomografía de coherencia óptica Spectralis con el software de segmentación macular para la medida de la capa de fibras nerviosas de la retina?

SI NO

## ANEXO IV



### Informe Dictamen Protocolo Favorable

C.P. HCSC-CGL-15 - C.I. 15/460-E

25 de septiembre de 2015

#### CEIC Hospital Clínico San Carlos

Dra. Mar García Arenillas  
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

#### CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Clínico San Carlos en su reunión del día 23/09/2015, acta 9.2/15 ha evaluado la propuesta del promotor/investigador referida al estudio:

**Título: "Estudio transversal para establecer la base de datos normativa del grosor de la capa de células ganglionares de la retina medida con el protocolo de adquisición macular dense y con el software de segmentación macular del OCT Spectralis (Heidelberg)"**

Que en este estudio:

- o Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- o Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- o La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- o El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.
- o Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa legal aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto por el **Dr. José María Martínez de la Casa** como investigador principal en el Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos.

Lo que firmo en Madrid, a 25 de septiembre de 2015

Dra. Mar García Arenillas  
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos



## ANEXO V



Prof. Dr. Ingeborg Stalmans  
Glaucoom



Servicio de Oftalmología  
Hospital Clínico San Carlos de Madrid  
C/ Profesor Martín Lagos s/n  
28043 Madrid (Spain)

Leuven, Belgium, 25 January 2016

**Subject: Invitation of María Nieves Moreno**

Dear Sir/Madame:

This is a formal invitation for María Nieves Moreno to spend three months with us at the UZ Leuven, from 1 June 2016 to 31 August 2016. This letter is to confirm that we are prepared to welcome her as a research fellow in the glaucoma unit at the UZ Leuven, Belgium.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "I. Stalmans".

Prof. Dr. Ingeborg Stalmans, M.D., PhD.  
Adjunct Clinic Head  
Ophthalmology department  
University Hospitals Leuven  
Kapucijnenvoer 33  
B-3000 Leuven, Belgium  
+32 16 33 23 72  
ingeborg.stalmans@uzleuven.be

Campus St. Rafaël  
UZ Leuven

Kapucijnenvoer 33  
B-3000 Leuven

Tel. 00-32-16 33 23 72  
Fax 00-32-16 33 23 67



## ANEXO VI



### **Protocol Full Title prospective observational trial:**

Diagnostic ability of Spectralis SD-OCT macular inner layers thickness to discriminate normal from glaucomatous eyes.

### **Protocol Acronym/short title:**

Ability of SD-OCT to discriminate normal from glaucomatous eyes.

### **Version and date of protocol:**

v 1.0

### **Sponsor:**

Name: UZLeuven

Address: Herestraat 49, 3000 Leuven

### **Principal Investigator:**

Name: Prof. Dr. Ingeborg Stalmans

Address: Kapucijnenvoer 33, campus Sint-Rafaël, dienstoftalmologie

Telephone: +32 16 33 23 72

Email: [ingeborg.stalmans@uzleuven.be](mailto:ingeborg.stalmans@uzleuven.be)

### **Sub-investigator:**

Name: Prof. Dr. Evelien Vandewalle

Address: Kapucijnenvoer 33, campus Sint-Rafaël, dienstoftalmologie

Telephone: +32 16 34 25 09

Email: [evelien.vandewalle@uzleuven.be](mailto:evelien.vandewalle@uzleuven.be)

## 1. Study Synopsis

Title of clinical trial	Diagnostic ability of Spectralis SD-OCT inner macular layers thickness to discriminate normal from glaucomatous eyes.
Protocol Short Title/Acronym	Ability of SD-OCT to discriminate normal from glaucomatous eyes.
Sponsor name	UZLeuven
Principal Investigator	Prof. Dr. Ingeborg Stalmans
Medical condition or disease under investigation	Primary open-angle glaucoma
Purpose of clinical trial	To investigate the diagnostic ability of macular SD-OCT normative database in glaucoma patients.
Primary objective	To assess the capacity of inner macular layer thickness to distinguish between healthy subjects and glaucoma patients.
Secondary objective (s)	To report normative values of inner retinal layers in the macular area in healthy European population.
Trial Design	Observational, prospective
Endpoints	Sensitivity and specificity of SD-OCT inner macular layers thickness with a normative database
Sample Size	50 glaucoma subjects / 50 normal subjects

Summary of eligibility criteria	Presence or absence of primary open-angle glaucoma Age > 18 year Exclusion: macular or retinal disease
Maximum duration of treatment of a Subject	/
Version and date of final protocol	v1.0 23-02-2016
Version and date of protocol amendments	

## 1. Background and rationale

Over the last few years we have witnessed a great development of structural glaucoma tests. Spectral domain OCT imaging has been greatly developed allowing macular and optic nerve head high resolution image collection just with one device. The latest version of the Spectralis OCT software allows to measure the thickness of each of the retinal layers separately. Recent studies have demonstrated the diagnostic value of outer macular thickness (Retinal nerve fiber layer (RNFL)) in discriminating healthy subjects from glaucoma patients. [1]

Normative values of inner retinal layers, RNFL, inner plexiform layer and inner nuclear layer in the macular area in *healthy* European population have been reported previously. To establish a normative database on inner retinal layers thickness, this observational cross-sectional study recruited 300 healthy adults aged 18 to 85 years with no ocular abnormality except refractive error and best corrected visual acuity of 20/40 or more. Patient selection was made following the recommendations of Realini et al. [2]

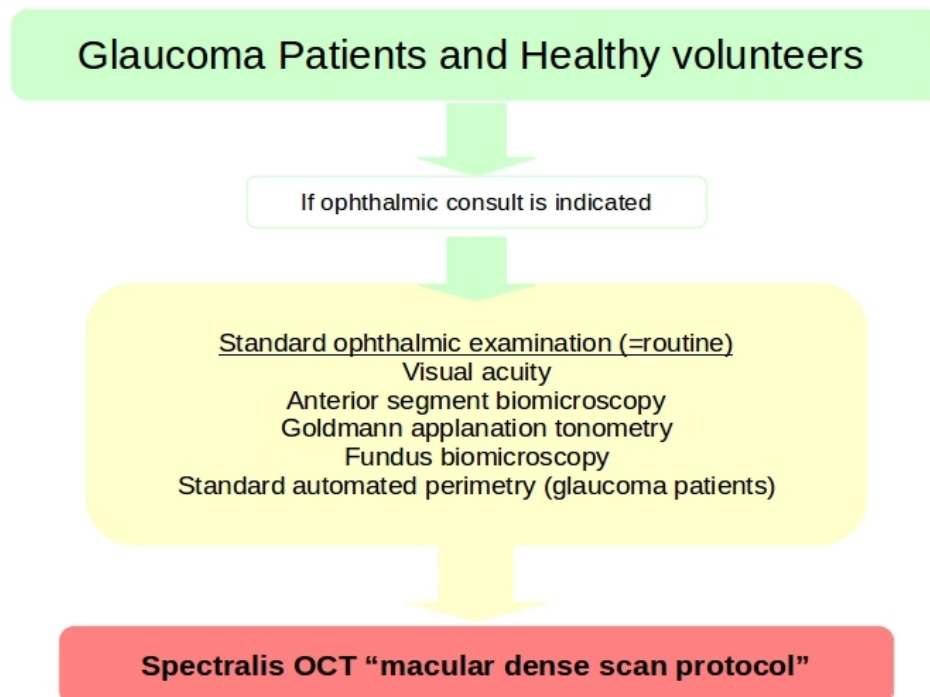
Although there has been considerable research on the inner retinal layer in the macular area in normal and glaucomatous eyes using OCT, there are few reports on the diagnostic ability of macular OCT with a normative database. Therefore, the aim of this study is to investigate the sensitivity and specificity of SD-OCT inner macular layers thickness in detecting glaucoma.

## 2. Trial objectives and Design

In this prospective, observational study, we aim to assess the capacity of Spectralis SD-OCT inner retinal layer thickness in the macular area to distinguish between healthy subjects and glaucoma patients with a normative database.

After a comprehensive eye examination including an evaluation of the medical record, biomicroscopy, measurement of the intraocular pressure (IOP), eye fundus test, standard

automated perimetry in glaucoma patients; macular thickness measurements will be performed using the Spectralis OCT “macular dense protocol”. Main outcome measures will be macular thickness, RNFL thickness, inner plexiform layer thickness and inner nuclear layer thickness. For each patient, one eye will be randomly selected for the final analysis. In patients with asymmetric visual performance, the eye with the best visual function will be included.



**Figure 1: Trial Protocol**

Devices that will be used:

- Spectralis OCT, Heidelberg Engineering, Germany



### **3. Selection and withdrawal of subjects**

#### **4.1 Inclusion criteria**

Glaucoma Subjects:

- Aged over 18 years
- Diagnostic of primary open-angle glaucoma
- Ametropia  $>+/-$  5 Diopters

Normal Subjects:

- Aged over 18 years
- Ametropia  $>+/-$  5 Diopters

#### **4.2 Exclusion criteria**

Glaucoma Subjects:

- Personal medical history of macular, retinal or neuro-ophthalmological diseases.

Normal Subjects:

- Personal medical history of macular, retinal or neuro-ophthalmological diseases.
- Personal medical history of glaucoma.

#### **4.3 Expected duration of trial**

We expect we will be able to include the 50 glaucoma subjects and 50 normal subjects in approximately three months.

### **4. Trial Procedures**

Cfr. Figure 1.

## 5. Assessment of efficacy

/

## 6. Assessment of Safety

No permanent adverse effects have been described after Spectralis OCT. Short-term adverse effects of Spectralis OCT include a temporary decreased vision due to the flashlight (generally less than 1 minute).

## 7. Statistics

### 8.1 Sample size

To detect a 4- $\mu\text{m}$  difference in macular RNFL thickness between groups for a statistical power of 80%, significance level of 5%, at least 33 patients need to be included in each group. Given their age, we suspect some images will be excluded because of severe cataract or OCT artefacts. We therefore want to recruit approximately 50 patients in each group.

### 8.2 Analysis

Demographics and measured parameters will be analyzed with descriptive statistics (mean  $\pm$  standard deviation). Average mRNFL, GCL, IPL and GCC thicknesses will be compared between normal and glaucoma-suspect eyes using the Student's t-test for independent samples. The diagnostic capacity of each variable to differentiate between normal and glaucoma-suspect eyes will be determined by calculating the area under the receiver operating characteristics (ROC) curve (AUC). The ROC curve will show the trade-off between sensitivity and specificity (false-positive rate). An AUC of 1.0 represents perfect discrimination, whereas an AUC of 0.5 represents chance discrimination. Differences between the ROC curves will be tested to compare AUCs using the Hanley–McNeil method. The sensitivity, specificity, positive predictive values, and negative predictive values of each variable varying significantly between the two subject groups will be also calculated.

All statistical tests will be performed using SPSS version 21 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) and MedCalc version 12.7 software (MedCalc software, Ostend, Belgium). Significance was set at P less than 0.05.

## 8. Quality assurance

To assure maximal quality and reproducibility, the trial protocol (figure 1) will be followed rigorously.

## **9. Direct access to source data and documents**

Following information will be retrieved for each patient from the KWS-database: personal medical history, visual acuity, intraocular pressure, standard automated perimetry parameters and OCT parameters.

## **10. Ethics and regulatory approvals**

The trial will be conducted in compliance with the principles of the Declaration of Helsinki (2008), the principles of GCP and in accordance with all applicable regulatory requirements. This protocol and related documents will be submitted for review to Ethics Committee of the University Hospitals Leuven.

The Study will be conducted only on the basis of prior informed consent by the Subjects to participate in the Study. We shall obtain a signed informed consent form (ICF) for all patients prior to their enrollment and participation in the Study in compliance with all applicable laws, regulations and the approval of the (local) Ethics Committee, if required. We shall retain such ICFs in accordance with the requirements of all applicable regulatory agencies and laws.

## **11. Data Handling**

We shall treat all information and data as confidential and shall not disclose such information to any third parties or use such information for any purpose other than the performance of the Study. The collection, processing and disclosure of personal data, will comply with applicable personal data protection and the processing of personal data (Directive 95/46/EC and Belgian law of December 8, 1992 on the Protection of the Privacy in relation to the Processing of Personal Data). We will protect the data from disclosure outside the research according to the terms of the research protocol and the informed consent document. The subject's name or other identifiers will be stored separately from their research data and replaced with a unique code to create a new identity for the subject.

## **12. Data Management**

Data will be recorded electronically in a spreadsheet. For each patient, a unique anonymous identifier, age, gender, diopters, intraocular pressure and inner macular layers thickness output will be recorded.

### **13. Translational research**

No biological material will be collected/shipped/stored/used for the study.

### **14. Publication Policy**

Any publication will be submitted to all co-authors and sponsors for review at least thirty (30) days prior to submission or disclosure. Sponsor shall have the right to delay the projected publication for a period of up to three (3) months from the date of first submission to the Sponsor in order to enable the Sponsor to take steps to protect its intellectual property rights and know-how.

### **15. Insurance/Indemnity**

In accordance with the Belgian Law relating to experiments on human persons dated May 7, 2004, Sponsor shall assume, even without fault, the responsibility of any damages incurred by a Study Patient and linked directly or indirectly to the participation to the Study, and shall provide compensation therefore through its insurance.

### **16. Financial Aspects**

None to declare

### **17. References**

- [1] Martinez-de-la-Casa JM, Cifuentes-Canorea P, Berrozpe C, Sastre M, Polo V, Moreno-Montañes J, et al. Diagnostic ability of macular nerve fiber layer thickness using new segmentation software in glaucoma suspects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:8343–8.
- [2] Realini T, Zangwill LM, Flanagan JG, Garway-Heath D, Patella VM, Johnson CA, et al. Normative Databases for Imaging Instrumentation. *J Glaucoma* 2014.

## ANEXO VII

### NOTIFICACIÓN DE EFECTOS ADVERSOS

(según modelo Anexo 8 del R.D. 561/1993)

<b>NOTIFICACIÓN DE ACONTECIMIENTOS ADVERSOS</b>  PRODUCTOS EN FASE DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA	PROTOCOLO N°	N° NOTIFICACIÓN (Laboratorio)
	PACIENTE N°	N° NOTIFICACIÓN

#### I. INFORMACIÓN SOBRE EL ACONTECIMIENTO ADVERSO

1. INICIALES DEL PACIENTE	1ª. PAIS	2. FECHA DE NACIMIENTO			2ª. EDAD	3. SEXO	3ª. PESO	3b. TALLA	4-6 INICIO		
		DIA	MES	AÑO					DIA	MES	AÑO
7. DESCRIPCIÓN DEL ACONTECIMIENTO ADVERSO (incluyendo resultados relevantes exploración o de laboratorio)								8-13. CONSECUENCIAS			
								<input type="checkbox"/> FALLECIMIENTO <input type="checkbox"/> LA VIDA DEL PACIENTE HA ESTADO EN PELIGRO <input type="checkbox"/> HOSPITALIZACIÓN <input type="checkbox"/> PROLONGACION HOSPITALIZACIÓN <input type="checkbox"/> INCAPACIDAD PERMANENTE O SIGNIFICATIVA <input type="checkbox"/> PERSISTENCIA DE LA R. ADVERSA <input type="checkbox"/> RECUPERACIÓN			

#### II. INFORMACIÓN DEL PRODUCTO EN INVESTIGACION

14. NOMBRE		20. ¿REMITIÓ LA REACCIÓN AL SUSPENDER LA MEDICACIÓN?
15. DOSIS DIARIA	16. VIA	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NO PROCEDE
17. ENFERMEDAD EN ESTUDIO		21. ¿REAPARECIÓ LA REACCIÓN AL ADMINISTRAR DE NUEVO LA MEDICACIÓN?
		<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NO PROCEDE
18. FECHAS DEL TRATAMIENTO (Desde/Hasta)	19. DURACIÓN DEL TRATAMIENTO	

#### III. MEDICAMENTOS CONCOMITANTES E HISTORIA CLÍNICA

22. MEDICAMENTOS CONCOMITANTES Y FECHA DE ADMINISTRACION
23. DATOS IMPORTANTES DE LA HISTORIA CLÍNICA (ej. Diagnosticos, alergias, embarazo, enfermedades concomitantes, etc)

#### IV. INFORMACION SOBRE PROMOTOR E INVESTIGADOR

24 <sup>a</sup> . NOMBRE Y DIRECCION DEL PROMOTOR		24 <sup>a</sup> . NOMBRE Y DIRECCION DEL INVESTIGADOR
24d. CODIGO DEL LABORATORIO (N° DGFPS)	25 <sup>a</sup> . TIPO DE INFORME <input type="checkbox"/> INICIAL  <input type="checkbox"/> SEGUIMIENTO	24c. TECNICO DEL PROMOTOR QUE INFORMA NOMBRE: TFNO: FIRMA:
24e. FECHA DEL INFORME	24f. FECHA DE ENTRADA DGFPS	25b. <input type="checkbox"/> SEADJUNTA INFORME COMPLEMENTARIO

## RESEARCH ARTICLE


# Normative database for separate inner retinal layers thickness using spectral domain optical coherence tomography in Caucasian population

Maria Nieves-Moreno<sup>1\*</sup>, Jose M. Martínez-de-la-Casa<sup>1,2\*</sup>, Pilar Cifuentes-Canorea<sup>1</sup>, Marina Sastre-Ibáñez<sup>1</sup>, Enrique Santos-Bueso<sup>1</sup>, Federico Sáenz-Francés<sup>1</sup>, Laura Morales-Fernández<sup>1</sup>, Julián García-Feljó<sup>1</sup>

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, Madrid, Spain

\* These authors contributed equally to this work.

\* [marine.zcasa@ya.com](mailto:marine.zcasa@ya.com)


 OPEN ACCESS

**Citation:** Nieves-Moreno M, Martínez-de-la-Casa JM, Cifuentes-Canorea P, Sastre-Ibáñez M, Santos-Bueso E, Sáenz-Francés F, et al. (2017) Normative database for separate inner retinal layers thickness using spectral domain optical coherence tomography in Caucasian population. PLoS ONE 12(7): e0180450. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180450>

**Editor:** Friedemann Paul, Charité Universitätsmedizin Berlin, GERMANY

**Received:** December 27, 2016

**Accepted:** June 15, 2017

**Published:** July 5, 2017

**Copyright:** © 2017 Nieves-Moreno et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding:** The authors received no specific funding for this work.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

## Abstract

### Purpose

Develop the first normative database of the thickness of every inner retinal layer in the macular area in a healthy, Caucasian population between 18 to 87 years old, using Spectralis Optical Coherence Tomography (OCT).

### Methods

On this transversal, observational study, 300 patients between 18 to 87 years old and without an ophthalmological condition were recruited. Macular OCT scans were performed on all patients (Spectralis OCT, Heidelberg Engineering). An axial length measurement, and keratometry were performed using an optical biometer. The volume and thickness of the different macular sectors of the inner retinal layers (retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cells layer (GCL) and inner plexiform layer (IPL)) were analyzed with the Spectralis OCT segmentation software. An eye was randomly selected for each patient.

### Results

297 patients (179 females and 118 males) were included in the study. The mean age was 56.07 years (range: 40.50–72). The multivariate analysis showed a positive correlation between the RNFL thickness and the axial length ( $p < 0.001$ ). The mean central retinal thickness was 278.2  $\mu\text{m}$  (range: 266–291), the mean central RNFL thickness was 12.61  $\mu\text{m}$  (range: 11–14), the mean central GCL thickness was 17.63  $\mu\text{m}$  (range: 14–21) and the mean central IPL thickness was 22.02  $\mu\text{m}$  (range: 20–25). The multivariate analysis showed a negative correlation between age and GCL thickness and inner IPL thickness ( $p < 0.001$ ).

