

近视人群视盘旁神经纤维层厚度和视盘形态学相关性研究

邢潇英

引用:邢潇英. 近视人群视盘旁神经纤维层厚度和视盘形态学相关性研究. 国际眼科杂志 2019;19(12):2084-2087

作者单位:(215000)中国江苏省苏州市,苏州卫生职业技术学院附属苏州市眼视光医院视光科

作者简介:邢潇英,毕业于温州医科大学眼视光学院,医学硕士,主治医师,研究方向:视光学。

通讯作者:邢潇英. xingxiaoyingeye@163.com

收稿日期:2019-07-09 修回日期:2019-11-11

摘要

目的:应用OCT研究近视人群视盘旁神经纤维层厚度和视盘形态学变化以及两者的关系。

方法:前瞻性研究。共纳入近视患者61例95眼,平均年龄 27.76 ± 7.05 岁;对照组15例30眼,平均年龄 28.33 ± 3.08 岁。根据屈光度将近视患者分为中低度近视组14眼($-3D\leq$ 屈光度 $<-6D$)、高度近视组56眼($-6D\leq$ 屈光度 $\leq-9D$)和超高度近视组25眼(屈光度 $>-9D$)。所有受试者均行标准综合验光(SE)、眼轴长度(AL)、眼压(IOP)、散瞳眼底和OCT检查。分析视盘旁平均视网膜神经纤维层厚度和上、下、鼻、颞四个象限的神经纤维层厚度,以及视盘旁萎缩灶面积(PPA)、视盘椭圆度(OI)和视盘水平倾斜角(HOT)。

结果:各象限的神经纤维层厚度,四组受试者均有差异(均 $P<0.01$)。平均神经纤维层厚度、上方和鼻侧神经纤维层厚度比较,对照组显著高于三个近视组(均 $P<0.05$)。颞侧神经纤维层厚度比较,对照组低于高度近视组和超高度近视组($P<0.001, 0.002$),中低度近视组亦低于超高度近视组($P=0.043$);四组受试者PPA比较有差异($P<0.001$),其中超高度近视组和高度近视组大于中低度近视组和对照组(均 $P<0.01$);四组受试者HOT有差异($P=0.020$),其中高度近视组和超高度近视组高于对照组($P<0.001$)。上、下象限神经纤维层厚度与OI、HOT和PPA均呈负相关(均 $P<0.05$),而颞侧神经纤维层厚度与OI、HOT和PPA均呈正相关(均 $P<0.05$)。

结论:近视患者平均和上、下方神经纤维层厚度变薄,颞侧变厚,鼻侧无变化。高度近视患者HOT和PPA增大,且与神经纤维层厚度有密切联系。

关键词:近视;神经纤维层厚度;视盘形态;OCT;视盘旁萎缩灶面积

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.12.20

Study on the correlation between the thickness of paraoptic nerve fiber layer and optic disc morphology in myopia

Xiao-Ying Xing

Suzhou Eye Hospital Affiliated to Suzhou Institute of Health

Professions and Technology, Suzhou 215000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Xiao - Ying Xing. Suzhou Eye Hospital Affiliated to Suzhou Institute of Health Professions and Technology, Suzhou 215000, Jiangsu Province, China. xingxiaoyingeye@163.com

Received:2019-07-09 Accepted:2019-11-11

Abstract

• **AIM:** To study the thickness of peripapillary retinal nerve fibre layer and morphological changes of optic disc in myopic subjects using optical coherence tomography (OCT).

• **METHODS:** Prospective study. A total of 61 myopic subjects (95 eyes) with a mean age of 27.76 ± 7.05 years and 15 controls (30 eyes) with a mean age of 28.33 ± 3.08 years were included. All subjects underwent standard comprehensive refraction (SE), axial length (AL), intraocular pressure (IOP), dilated fundus examination, and OCT. Based on SE, myopic subjects were divided into three groups: 14 eyes in the moderate to low myopia group ($-3D\leq SE<-6D$), 56 eyes in the high myopia group ($-6D\leq SE\leq-9D$), and 25 eyes in the ultra-high myopia group ($SE>-9D$). The mean retinal nerve fiber layer thickness of the optic disc and the nerve fiber layer thickness of the four quadrants were analyzed, as well as the peripapillary atrophy area (PPA), optic disc ovality index (OI), and horizontal optic disc tilt (HOT).

• **RESULTS:** The thickness of nerve fiber layer in each quadrant was significantly different among the four groups ($P<0.01$). The mean thickness of nerve fiber layer, the thickness of superior nerve fiber layer and the thickness of nasal nerve fiber layer were significantly higher in the control group than in the three myopic groups (all $P<0.05$). The thickness of temporal nerve fiber layer in the control group was significantly lower than that in the high myopia group and the super high myopia group ($P<0.001, P=0.002$), and also significantly lower in the moderate and low myopia group than that in the super high myopia group ($P=0.043$); the PPA of the four groups was statistically different ($P<0.001$), in which the super high myopia group and the high myopia group was significantly greater than that in the low myopia group and the control group ($P<0.01$); the HOT of the four groups was statistically different ($P=0.020$), in which the high myopia group and the super high myopia group was significantly higher than that in the control group ($P<0.001, P<0.001$). The nerve fiber layer thickness in the upper and lower quadrants was negatively correlated with

OI, HOT, and PPA (all $P < 0.05$), while the nerve fiber layer thickness in the temporal side was positively correlated with OI, HOT, and PPA (all $P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Mean and superior and inferior nerve fiber layer thickness was thinner in myopic patients, with temporal thickening and no change in the nasal side. The tilt of optic disc and the area of peripapillary atrophy were increased in high myopia, which were closely related to the thickness of nerve fiber layer.

• **KEYWORDS:** myopia; nerve fiber layer thickness; optic disc morphology; OCT; peripapillary atrophy area

Citation: Xing XY. Study on the correlation between the thickness of paraoptic nerve fiber layer and optic disc morphology in myopia. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(12):2084-2087

0 引言

屈光不正是全球视力损害的主要原因,近视是最常见的屈光不正^[1-2]。全球近视和高度近视的患病率呈上升趋势^[3-4]。根据流行病学调查,青光眼的发生与近视有密切的关系,特别是在亚洲人群中^[5-6]。这可能和视乳头旁萎缩灶的形成和视乳头旁神经纤维层变化有一定的联系^[7-8]。然而,对于近视患者,特别是中国人群近视患者的视乳头形态学研究极不充分。此外,视盘倾斜是近视的一大特征,这是由眼轴延长导致视神经与眼球连接生物力学改变引起^[9]。视盘倾斜与视乳头形态学改变可能有非常密切的联系,然而关于这方面的研究却不足。OCT是观察视网膜和视神经非常有效的手段,具有简便快速、高分辨率和非侵入性的特点^[10]。本研究目的为通过OCT分析中国人群近视患者视盘倾斜和形态学的一般改变,并探讨两者之间的联系。

1 对象和方法

1.1 对象 前瞻性研究。选取2019-01/05于我院视光中心就诊患者61例95眼,其中男23例39眼,女38例56眼,年龄19~51(平均 27.76 ± 7.05)岁,屈光度 $-3 \sim -13.25$ (平均 -7.66 ± 2.11)D,眼轴 $23.53 \sim 29.46$ (平均 26.58 ± 1.33)mm。纳入标准:屈光度 ≥ -3 D,最佳矫正视力 ≥ 5.0 ,无脉络膜新生血管,无葡萄膜炎、黄斑水肿、青光眼、视网膜脱离、黄斑变性等既往眼部疾病史,且愿意配合检查。排除标准:既往内眼手术史者及高血压、糖尿病等影响视网膜的全身疾病,OCT图像信号强度 <6 (最大强度10)或者图像模糊,患者检查配合不佳。健康对照组15例30眼为屈光度 $-1 \sim +1$ D的志愿者,年龄 $24 \sim 34$ (平均 28.33 ± 3.08)岁。根据屈光度将近视患者分为中低度近视组14眼($-3D \leq \text{屈光度} < -6D$)、高度近视组56眼($-6D \leq \text{屈光度} \leq -9D$)和超高度近视组25眼(屈光度 $> -9D$)。本研究已通过苏州市眼视光医院伦理委员会批准,遵守《赫尔辛基宣言》,所有患者均签署知情同意书。

1.2 方法 所有患者均行完整的眼科检查,包括标准综合验光[最终屈光度折合为等效球镜度数(spherical equivalent, SE),即原有球镜度数加上散光度数的1/2]、眼轴长度(AL)、眼压和散瞳眼底检查。OCT检查:能够以每秒6.8万次A超的速度进行扫描,光源波长为840nm,分辨率为 $5\mu\text{m}$ 。范围扫描为视盘中心 $6\text{mm} \times 6\text{mm}$,深度2mm。设备自带软件从扫描中自动分析视盘旁平均视网膜神经纤维层厚

度和上、下、鼻、颞4个象限的神经纤维层厚度(图1)。

1.2.1 视乳头旁萎缩灶面积和视盘椭圆度 利用Image J在OCT Enface图上描述出萎缩区范围,计算出其面积后减去视盘面积即为视盘旁萎缩灶面积(peripapillary atrophy, PPA)^[11]。视盘一般情况下为圆形,当视盘发生倾斜时,从视轴方向观察视盘在二维图像上呈椭圆形,倾斜越大椭圆形越明显,因此眼底图像上视盘椭圆度(ovality index, OI)在一定程度上可代表视盘的倾斜度。椭圆度定义为视盘描述最佳拟合椭圆长轴与短轴的比值(图1)^[12]。

1.2.2 视盘水平倾斜角 视盘水平倾斜角(horizontal optic disc tilt, HOT)的测量采用Hosseini的方法^[13-14]。先在OCT视盘Enface图像上描述出视盘边缘,并在相应的OCT横切面图像上标记出它们与Bruch膜或边缘组织的交界处,随后连接这两个点的线即认为是视盘平面。此外,在视盘的两侧,另一条线连接Bruch膜两侧末端,该线定义为参考平面。水平倾斜度即为参考平面与视盘平面的夹角,见图1。

1.2.3 放大率校正 由于眼球轴向伸长,眼底成像和OCT的放大倍率不同。因此,需要适当的放大率校正来正确评估视网膜的尺寸信息。因此我们使用Bennett的方法对所得的眼底图像和OCT数值进行校正,校正系数 $q = 3.3823 \times 0.0130623 \times (AL - 1.82)$ ^[15-17]。

统计学分析:采用SPSS 18.0进行统计学分析,所有数值采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)形式表示。四组间计量资料比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间两两比较采用LSD- t 检验。相关性分析采用Spearman秩相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 四组研究对象视盘旁神经纤维层厚度变化 单因素方差分析结果显示,无论是平均神经纤维层还是上、下、鼻、颞各象限的神经纤维层厚度,四组受试者差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$,表1)。然后经LSD- t 检验结果显示,平均神经纤维层厚度、上方和鼻侧神经纤维层厚度比较,对照组显著高于三个近视组,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),但是三个近视组之间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);下方神经纤维层厚度比较,对照组高于三个近视组($P = 0.002, < 0.001, < 0.001$),而中低度近视组和高度近视组亦高于超高度近视组(均 $P < 0.01$);颞侧神经纤维层厚度则相反,对照组低于高度近视组和超高度近视组($P < 0.001, 0.002$),低度近视组亦低于超高度近视组($P = 0.043$)。

2.2 四组研究对象视盘旁萎缩灶面积变化 四组受试者PPA比较,差异有统计学意义($P < 0.001$),其中超高度近视组大于中低度近视组和对照组($P < 0.001, P < 0.001$),高度近视组亦大于中低度近视组和对照组($P = 0.001, < 0.001$),高度近视组与超高度近视组间差异无统计学意义($P = 0.160$,表2)。

2.3 四组研究对象视盘椭圆度变化 四组受试者OI比较,差异有统计学意义($P < 0.001$),其中高度近视组和超高度近视组高于对照组($P = 0.012, 0.004$),其余两两比较差异均无统计学意义($P > 0.05$,表2)。

2.4 四组研究对象视盘水平倾斜角变化 四组受试者HOT比较,差异有统计学意义($P < 0.001$),其中高度近视

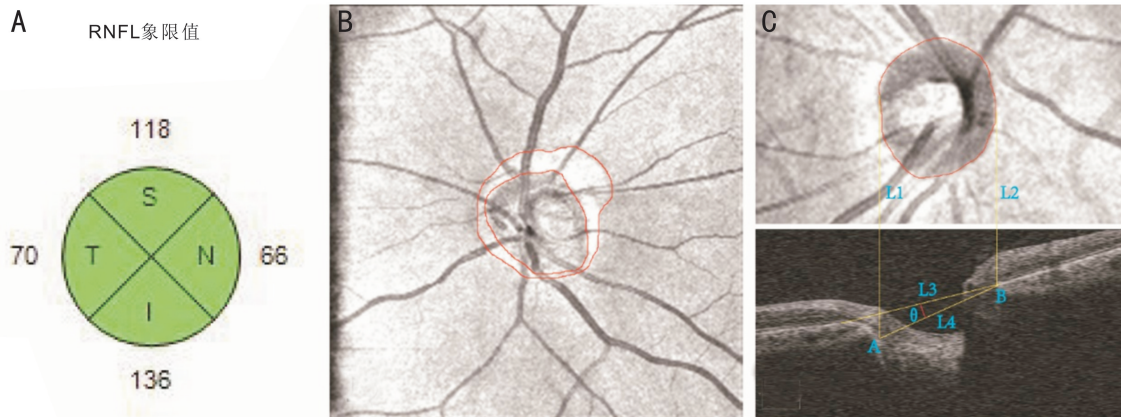


图1 神经纤维层厚度及 PPA、HOT 测量示意图 A:OCT 自动识别上、下、鼻、颞 4 象限神经纤维层厚度示意图。B:视盘旁萎缩灶 (PPA) 测量方法,利用 Image J 描述出萎缩灶边缘 (外侧红圈) 和视盘边缘 (内侧红圈),外侧红圈的面积减去内侧红圈的面积再乘以矫正系数即为 PPA。C:HOT 计算方法,上图为视盘描述图,A 和 B 分别为视盘边缘和 Bruch 膜或者边界组织的交接点,连接 AB 两点得到线段 L4 即为视盘平面,L3 为 Bruch 膜两侧断端连线,即为参考平面,水平倾斜角即为 L3 和 L4 的夹角 θ 。

表 1 四组研究对象视盘旁神经纤维层厚度变化

($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$)

分组	平均神经纤维层厚度	上方神经纤维层厚度	下方神经纤维层厚度	鼻侧神经纤维层厚度	颞侧神经纤维层厚度
对照组	106.00±7.79	136.15±16.24	138.95±16.62	67.55±13.93	81.36±10.94
中低度近视组	96.32±10.72	115.80±24.21	123.56±17.55	60.16±9.99	85.78±13.63
高度近视组	94.27±8.57	113.04±15.55	113.28±18.02	59.18±8.63	91.57±16.80
超高度近视组	90.77±7.40	106.17±15.07	100.15±17.44	59.40±10.40	97.35±23.57
F	17.840	17.535	24.749	4.538	4.601
P	<0.001	<0.001	<0.001	0.005	0.004

注:对照组:屈光度-1~+1D 的志愿者;中低度近视组:-3D≤屈光度<-6D;高度近视组:-6D≤屈光度≤-9D;超高度近视组:屈光度>-9D。

表 2 四组研究对象 PPA、OI、HOT 比较

$\bar{x} \pm s$

分组	PPA (mm ²)	OI	HOT (°)
对照组	0.45±0.36	1.16±0.11	2.84±2.53
中低度近视组	1.03±0.40	1.20±0.09	4.78±2.46
高度近视组	2.01±1.14	1.25±0.14	7.64±3.36
超高度近视组	2.33±1.11	1.25±0.14	7.88±5.12
F	25.057	3.405	14.727
P	<0.001	0.020	<0.001

注:对照组:屈光度-1~+1D 的志愿者;中低度近视组:-3D≤屈光度<-6D;高度近视组:-6D≤屈光度≤-9D;超高度近视组:屈光度>-9D。

表 3 Spearman 秩相关分析

神经纤维层厚度	指标	OI	HOT	PPA	AL	SE
平均	r_s	-0.191	-0.250	-0.369	-0.465	0.469
	P	0.032	0.005	<0.001	<0.001	<0.001
上方	r_s	-0.292	-0.293	-0.386	-0.418	0.476
	P	0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
下方	r_s	-0.284	-0.376	-0.598	-0.636	0.599
	P	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
鼻侧	r_s	-0.076	-0.169	-0.161	-0.186	0.228
	P	0.398	0.060	0.072	0.037	0.011
颞侧	r_s	0.189	0.258	0.415	0.322	-0.325
	P	0.035	0.004	<0.001	<0.001	<0.001

组和超高度近视组高于对照组 (均 $P < 0.001$), 亦高于中低度近视组 ($P = 0.010, 0.008$)。对照组与中低度近视组间差异无统计学意义 ($P = 0.092$, 表 2)。

2.5 相关性分析 平均神经纤维层厚度和上、下、鼻侧象限的神经纤维层厚度均与眼轴呈负相关 (均 $P < 0.05$), 且与 SE 呈正相关 (均 $P < 0.05$), 而颞侧神经纤维层厚度则相反, 与眼轴呈正相关 ($r_s = 0.322, P < 0.001$), 且与 SE 呈负相关 ($r_s = -0.325, P < 0.001$)。上、下象限神经纤维层厚度与 OI、HOT 和 PPA 均呈负相关 (均 $P < 0.05$), 而颞侧神经纤维层厚度与 OI、HOT 和 PPA 均呈正相关 (均 $P < 0.05$), 鼻侧神经纤维层与此三者无明显相关性 (均 $P > 0.05$)。

3 讨论

在本研究中,我们给出了中国人群中健康受试者和中低度近视、高度近视、超高度近视人群大致的视盘旁神经纤维层厚度值,为高度近视人群青光眼诊断提供一定参

考,进一步分析了 HOT 和视盘旁萎缩灶大小,以及两者和神经纤维层厚度的相关性。

总体来说,平均神经纤维层厚度和上、下鼻侧神经纤维层厚度随着近视的进展逐渐变薄,而颞侧神经纤维层厚度随着近视的进展而变厚。相关性分析也类似,平均神经纤维层厚度和上、下鼻侧神经纤维层厚度与眼轴长度呈负相关关系,而与屈光度呈正相关关系;而颞侧神经纤维层厚度与眼轴呈正相关,而与屈光度呈负相关。Malakar 等^[18]和 Seo 等^[7]发现在日本和韩国人群中平均神经纤维层厚度和非颞部神经纤维层厚度的 OCT 值显著变薄,而颞侧神经纤维层厚度在近视眼中的厚度大于正常眼,与本研究发现基本一致,提示至少在亚洲人群中变化较为一致。有学者认为,这是因为随着轴向距离的增大,视网膜被牵拉至颞侧,致使颞侧象限的神经纤维层厚度增加,而非颞侧象限的神经纤维层厚度下降^[19]。因此对于高度

近视患者青光眼的诊断中,对于视乳头神经纤维层厚度值的判断应做一定的修正。

对于视盘倾斜度的测量,本研究选用了国际上目前较为常用的两种方法:视盘椭圆度和HOT。我们认为,OI默认参考平面为拍摄平面,患者拍摄时的眼位会影响测量的值。而HOT的参考平面为两侧Bruch膜断点的连线,患者的眼位不会对测量造成影响,因而测量的可信度较高。本研究发现,高度近视和超高度近视患者的视盘倾斜度较对照组和中低度近视组要明显,而中低度近视组与对照组之间无统计学差异。学者们普遍认为,视盘倾斜是由于眼轴延长后眼球水平运动导致视神经对视盘的牵拉力增大所致^[20]。根据本研究结果,中低度近视者由于眼轴增加有限,视盘倾斜不明显,但是随着眼轴进一步增加,视盘倾斜度显著增加,但是有趣的是,高度近视组和超高度近视组视盘倾斜度无统计学差异,提示一旦视盘发生倾斜后,似乎倾斜的量并不会随着近视的再进展而增加。相同的结果也发生在PPA上。Hosseini等^[13]发现OI与HOT相关性不强,不能很好地代表倾斜角的值,与本研究的观点基本一致,同时他们还发现倾斜角会随着眼轴的增加而增加,与我们的结果也基本一致。

相关性方面,鼻侧神经纤维层厚度与视盘倾斜度和PPA无显著相关性,提示视盘倾斜并不会引起鼻侧神经纤维层的变化。而上、下方的神经纤维层厚度随着倾斜度和萎缩灶的增加而变薄,颞侧则变厚。对于本研究结果我们提出这样一个假设:视盘的倾斜是以视盘鼻侧边缘为支点的,支点位置的改变是极小的,因此视盘倾斜对于鼻侧的影响是极小的。而上、下方的神经纤维层则由于倾斜的发生而被拉薄。颞侧比较特殊,由于眼轴的增加,整个视网膜会被牵拉到颞侧,这样抵消了视盘倾斜引起的神经纤维层的变薄,甚至颞侧的神经纤维层厚度是增加的。

本研究也存在一定的局限性:(1)样本量较小,我们将在后期的工作中进一步增加样本量。(2)受试者年龄整体偏小,且未收集患者近视病程,故尚无法确定年龄和近视的病程是否对结果有影响,我们将在后续的工作中进行更全面的研究。综上所述,近视患者平均和上、下方神经纤维层厚度变薄,颞侧变厚,鼻侧无变化。高度近视患者HOT和PPA增大,且与神经纤维层厚度有密切联系。

参考文献

- Bourne RR, Stevens GA, White RA, *et al.* Causes of vision loss worldwide, 1990–2010; a systematic analysis. *Lancet Glob Health* 2013; 1(6): e339–349
- Fricke TR, Jong M, Naidoo KS, *et al.* Global prevalence of visual impairment associated with myopic macular degeneration and temporal trends from 2000 through 2050; systematic review, meta-analysis and modelling. *Br J Ophthalmol* 2018;102(7):855–862
- Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, *et al.* Global Prevalence of Myopia and High Myopia and Temporal Trends from 2000 through 2050.

Ophthalmology 2016;123(5):1036–1042

4 Morgan IG, Ohno–Matsui K, Saw SM. Myopia. *Lancet* 2012; 379(9827):1739–1748

5 Xu L, Wang Y, Wang S, *et al.* High myopia and glaucoma susceptibility the Beijing Eye Study. *Ophthalmology* 2007; 114(2): 216–220

6 Tan CS, Chan YH, Wong TY, *et al.* Prevalence and risk factors for refractive errors and ocular biometry parameters in an elderly Asian population: the Singapore Longitudinal Aging Study (SLAS). *Eye (Lond)* 2011;25(10):1294–1301

7 Seo S, Lee CE, Jeong JH, *et al.* Ganglion cell–inner plexiform layer and retinal nerve fiber layer thickness according to myopia and optic disc area: a quantitative and three–dimensional analysis. *BMC Ophthalmol* 2017;17(1): 22

8 Hayashi K, Tomidokoro A, Lee KY, *et al.* Spectral–domain optical coherence tomography of β –zone peripapillary atrophy: influence of myopia and glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(3): 1499–1505

9 Asai T, Ikuno Y, Akiba M, *et al.* Analysis of Peripapillary Geometric Characters in High Myopia Using Swept–Source Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(1):137–144

10 Tan ACS, Tan GS, Denniston AK, *et al.* An overview of the clinical applications of optical coherence tomography angiography. *Eye (Lond)* 2017;32(2):262–286

11 Pan T, Su Y, Yuan ST, *et al.* Optic disc and peripapillary changes by optic coherence tomography in high myopia. *Int J Ophthalmol* 2018;11(5):874–880

12 Sung MS, Kang YS, Heo H, *et al.* Characteristics of Optic Disc Rotation in Myopic Eyes. *Ophthalmology* 2016;123(2):400–407

13 Hosseini H, Nassiri N, Azarbod P, *et al.* Measurement of the optic disc vertical tilt angle with spectral–domain optical coherence tomography and influencing factors. *Am J Ophthalmol* 2013;156(4):737–744

14 Sung MS, Lee TH, Heo H, *et al.* Association Between Optic Nerve Head Deformation and Retinal Microvasculature in High Myopia. *Am J Ophthalmol* 2018;188:81–90

15 Bennett AG, Rudnicka AR, Edgar DF. Improvements on Littmann's method of determining the size of retinal features by fundus photography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994;232(6):361–367

16 Li M, Yang Y, Jiang H, *et al.* Retinal Microvascular Network and Microcirculation Assessments in High Myopia. *Am J Ophthalmol* 2017; 174:56–67

17 Yang Y, Wang J, Jiang H, *et al.* Retinal Microvasculature Alteration in High Myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(14):6020–6030

18 Malakar M, Askari SN, Ashraf H, *et al.* Optical coherence tomography assisted retinal nerve fibre layer thickness profile in high myopia. *J Clin Diagn Res* 2015;9(2):Nc01–3

19 Oner V, Aykut V, Tas M, *et al.* Effect of refractive status on peripapillary retinal nerve fibre layer thickness: a study by RTVue spectral domain optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol* 2013;97(1):75–79

20 Wang X, Beotra MR, Tun TA, *et al.* In Vivo 3–Dimensional Strain Mapping Confirms Large Optic Nerve Head Deformations Following Horizontal Eye Movements. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(13): 5825–5833