

OCTA 观察 BRVO 患者黄斑区微血管的改变及其与预后的关系

司昕^{1,2}, 高磊¹, 刘广森¹, 王文亭¹, 刘丽峰¹

引用: 司昕, 高磊, 刘广森, 等. OCTA 观察 BRVO 患者黄斑区微血管的改变及其与预后的关系. 国际眼科杂志 2021; 21(10): 1769-1772

作者单位:¹(261000) 中国山东省潍坊市, 潍坊眼科医院;
²(266000) 中国山东省青岛市西海岸新区中心医院眼科

作者简介: 司昕, 女, 毕业于潍坊医学院, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 高磊, 男, 硕士, 主任医师, 教授, 研究方向: 眼底病、眼外伤. gl6365@163.com

收稿日期: 2021-01-30 修回日期: 2021-08-30

摘要

目的:应用光学相干断层扫描血管造影(OCTA)观察视网膜分支静脉阻塞(BRVO)患者黄斑区微血管参数的变化及其与最佳矫正视力(BCVA)的相关性。

方法:采用OCTA对29例BRVO患者双眼后极部视网膜浅层毛细血管层进行扫描,获取基线、1、6mo复查时不同区域的血管线性密度(VD)、血流灌注密度(PD)、黄斑中心凹无血管区域(FAZ)面积和形态指数。

结果:BRVO组FAZ面积为 $0.32\pm 0.08\text{mm}^2$,大于健侧眼组FAZ面积 $0.21\pm 0.06\text{mm}^2$ ($t=-6.958, P<0.001$);BRVO组与健侧眼组在 $3\text{mm}\times 3\text{mm}$ 及 $6\text{mm}\times 6\text{mm}$ 分析模式中比较全部区域的VD均有差异($P<0.05$);BRVO组与健侧眼组在 $3\text{mm}\times 3\text{mm}$ 分析模式中比较PD,中心环区和内环区均有差异($P<0.001$), $6\text{mm}\times 6\text{mm}$ 分析模式中中心环区、外环区和完整区均有差异($P<0.05$)。基线BCVA与6mo复查时BCVA比较有差异($t=2.43, P<0.05$);BCVA(LogMAR)与 $3\text{mm}\times 3\text{mm}$ VD中心环区、PD中心环区及 $6\text{mm}\times 6\text{mm}$ PD中心环区、PD完整区呈正相关,与 $6\text{mm}\times 6\text{mm}$ PD外环区呈负相关。

结论:作为非侵入性检查手段,OCTA能够某种程度上反映BRVO患者黄斑区血流改变情况,黄斑区微血管的改变可能与预后存在相关。

关键词:视网膜分支静脉阻塞;光学相干断层扫描血管造影;黄斑区血管密度

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.10.21

Observation on the changes of macular microvessels in BRVO patients and its relationship with prognosis by using OCTA

Xin Si^{1,2}, Lei Gao¹, Guang-Sen Liu¹, Wen-Ting Wang¹, Li-Feng Liu¹

China; ²Department of Ophthalmology, Qingdao West Coast New Area Center Hospital, Qingdao 266000, Shandong Province, China

Correspondence to: Lei Gao. Weifang Eye Hospital, Weifang 261000, Shandong Province, China. gl6365@163.com

Received:2021-01-30 Accepted:2021-08-30

Abstract

• **AIM:** To observe the changes of macular microvascular parameters and their correlation with best corrected visual acuity (BCVA) in patients with branch retinal vein occlusion (BRVO) by using optical coherence tomography angiography (OCTA).

• **METHODS:** The superficial retinal capillary layer in the posterior pole of 29 patients with BRVO was scanned by OCTA. Macular vascular density including vessel density (VD), perfusion density (PD), foveal avascular zone (FAZ), and morphological index were obtained at baseline, 1 and 6mo respectively.

• **RESULTS:** The FAZ area in BRVO group was $0.32\pm 0.08\text{mm}^2$, significantly larger when compared to the fellow eyes ($0.21\pm 0.06\text{mm}^2$) ($t=-6.958, P<0.001$). The VD of full area of $3\text{mm}\times 3\text{mm}$ and $6\text{mm}\times 6\text{mm}$ was lower in BRVO eyes compared to fellow eyes ($P<0.05$). As for PD, a difference was found between the two groups in the central and inter area in the $3\text{mm}\times 3\text{mm}$ scan pattern ($P<0.001$), while a significant difference was found in central, the outer, and the full area in the $6\text{mm}\times 6\text{mm}$ scan pattern ($P<0.05$). The BCVA at baseline was significantly better than that at 6mo ($t=2.43, P<0.05$); BCVA (LogMAR) was positively correlated with VD and PD of centre area in $3\text{mm}\times 3\text{mm}$ mode, and PD of central and full area in $6\text{mm}\times 6\text{mm}$ model, but negatively correlated with PD in the outer area in $6\text{mm}\times 6\text{mm}$ mode.

• **CONCLUSION:** As a non-invasive examination, quantitative OCTA measurements confirm vascular density changes in the superficial vascular networks in eyes with BRVO. Moreover, vascular density and FAZ area appear to correlate with visual function.

• **KEYWORDS:** branch retinal vein occlusion; optical coherence tomography angiography; macular vessel density

Citation: Si X, Gao L, Liu GS, et al. Observation on the changes of macular microvessels in BRVO patients and its relationship with prognosis by using OCTA. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021; 21(10):1769-1772

¹Weifang Eye Hospital, Weifang 261000, Shandong Province,

0 引言

视网膜静脉阻塞(retinal vein occlusion, RVO)是仅次于糖尿病性视网膜病变的视网膜血管类疾病,Rogers等^[1]汇总分析了11项相关研究总共49869例来自不同种族的受试者数据,得出RVO在人群中的患病率为0.52%,而视网膜分支静脉阻塞(branch retinal vein occlusion, BRVO)患病率为0.44%,后者占到RVO的84.6%。颞上或颞下BRVO因常累及黄斑,影响黄斑血供,进而发生黄斑水肿(macular edema, ME)而影响视力且容易被患者发现,迁延或者反复发作的ME会导致永久的视力下降,严重影响视觉质量。除此之外,如果BRVO伴有广泛的视网膜缺血不仅可以加重ME甚至可以导致眼内新生血管的发生。

超广角荧光素眼底血管造影(ultra-wide field fluorescein angiography, UWFFA)被认为是当今BRVO诊断的金标准^[2],而近年来新兴的无创、快速、高分辨率的眼底血管成像技术即光学相干断层扫描血管成像技术(optical coherence tomography angiography, OCTA)已经被应用于RVO相关研究,人们借助OCTA来分析和判断BRVO患者黄斑中心凹无血管区域(foveal avascular zone, FAZ)及血管密度。Winegarner等^[3]使用OCTA定量分析BRVO患者浅层视网膜毛细血管网(superficial capillary plexus, SCP)和深层视网膜毛细血管网(deep capillary plexus, DCP)的血管线性密度(vascular density, VD)和FAZ面积,发现黄斑水肿的复发次数与VD的下降呈正相关。Kang等^[4]的研究表明,在RVO患者眼中,FAZ和中心凹血管密度(parafoveal vascular density, PVD)与BCVA有相关性。本文将借助OCTA对单眼BRVO患者的黄斑区视网膜微血管进行定量分析,并与对侧健眼进行对比,探讨BRVO后黄斑区微血管的变化以及这种变化与视力预后的关系。

1 对象和方法

1.1 对象

选取2019-04/2020-06就诊于潍坊眼科医院的BRVO单眼受累患者29例纳入研究,以发生视网膜分支静脉阻塞眼作为BRVO组,以对侧健眼作为对照组。纳入标准:经前置镜、欧堡扫描激光眼底照相检查确诊为颞上或颞下发生静脉血管阻塞的BRVO患者。排除标准:(1)需要与BRVO进行鉴别的疾病如糖尿病性视网膜病变、低灌注视网膜病变、高血压性视网膜病变、眼缺血综合征、白塞氏病、病毒性视网膜炎等视网膜出血性疾病;(2)视网膜中央静脉阻塞、半侧视网膜分支静脉阻塞以及鼻侧BRVO;(3)不论患眼还是健眼曾经接受过手术、激光或其他有创治疗或曾患其他眼底疾病;(4)眼部曾经受过外伤的患者;(5)健侧有器质性眼疾或最佳矫正视力<1.0的患者。本研究获得医院伦理委员会的批准。

1.2 方法

1.2.1 设备

ZEISS Cirrus HD-OCT 5000;扫描时均开启Fast Trac Retinal Tracking,该程序可以确保多次扫描在视网膜的位置一致,OCTA相关数据自动导入FORUM系统,使用Angio-PlexTM(版本号10.0.0.14618)软件对后极部黄斑扫描特定区域血流进行定量自动分析。Angiography 3mm×3mm和Angiography 6mm×6mm模式下自动分离生成SCP的OCTA图像并测量SCP 6mm×6mm范围内两种血管密度VD和血流灌注密度(perfusion density, PD)。FAZ为软件自动识别并测量,如仪器无法识别或测量误差较大则由3位有经验的医师手动测量FAZ面积,并取3次

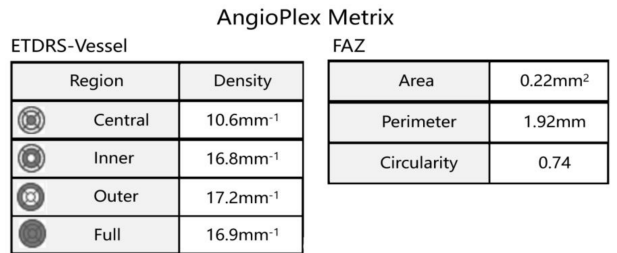


图1 OCTA黄斑6mm×6mm扫描各区域示意图蓝色实体标注为相应统计测量区域范围 Central:中心环区;Inner:内环区;Outer:外环区;Full:完整区;FAZ Area:FAZ面积;FAZ Perimeter:FAZ周长;FAZ Circularity:FAZ形态指数。

测量FAZ面积的平均值作为最终FAZ面积。常规在OCTA扫描得到图像后,检查信号强度及图像位置,如出现信号强度<6以及黄斑中心凹没有居中的情况,则需要重复扫描以求获得符合要求的图片,如依然不能够满足图像质量控制要求,则不纳入研究。

1.2.2 观察指标及方法

(1)双眼在首诊、首诊后1、6mo均接受眼科常规检查,重点进行BCVA及OCTA检查;(2)本研究使用国际标准对数视力表,最佳矫正视力结果转换为最小分辨角对数(LogMAR)视力;(3)OCTA观察指标:Angiography 3mm×3mm和6mm×6mm两种扫描模式下中心环区(central,以中心凹为中心1mm直径范围)、内环区(inner,以中心凹为中心3mm直径范围)、外环区(outer,以中心凹为中心6mm直径范围)和完整区(full,以中心凹为中心6mm直径范围全面积)内的VD和PD(图1、2;注:3mm×3mm模式无外环区数据),VD是通过将血管骨骼化展示,将区域范围内每一条血管看作一条线段,计算区域内线段的总长度与区域面积的比值,单位(mm⁻¹);而PD系指通过计算区域范围内血管管径在区域内的覆盖面积与区域面积的比值,即区域面积内血管覆盖所占的比例。同时获取FAZ面积、FAZ形态指数(FAZ Circularity, 1~0: 1表示越接近圆形,0表示越接近直线)。

统计学分析:采用统计学软件SPSS26.0进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料的比较采用配对样本 t 检验,相关性分析采用Pearson相关系数,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

BRVO患者29例中男15例,女14例,年龄26~82(平均 59 ± 12.6)岁。BRVO右眼15眼,左眼14眼。

2.2 最佳矫正视力

BRVO组基线BCVA为 0.57 ± 0.47 ,健侧眼组BCVA为 0.07 ± 0.19 ,差异有统计学意义($t = -6.166, P = 0$);6mo复查时BRVO组BCVA为 0.37 ± 0.25 ,与基线差异有统计学意义($t = 2.43, P < 0.05$)。

2.3 VD和PD

基线BRVO组与健侧眼组在3mm×3mm及6mm×6mm分析模式中比较全部区域的VD,差异均有统计学意义($P < 0.05$);BRVO组与健侧眼组在3mm×3mm分析模式中比较PD,中心环区和内环区差异有统计学意义($P < 0.001$);6mm×6mm分析模式,中心环区、外环区、完整区差异均有统计学意义($P < 0.05$,表1)。

2.4 FAZ

基线BRVO组FAZ面积为 $0.32 \pm 0.08 \text{mm}^2$,大于健侧眼组FAZ面积 $0.21 \pm 0.06 \text{mm}^2$,差异有显著统计学意义($t = -6.958, P < 0.001$);BRVO组FAZ形态指数为

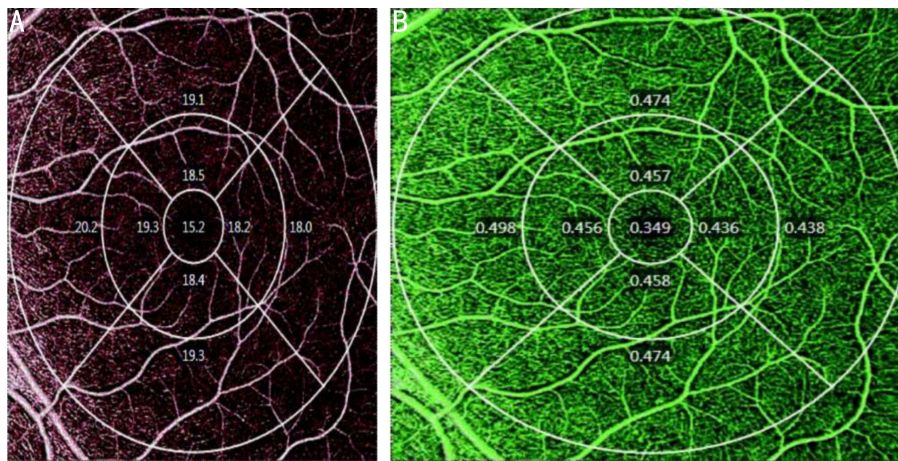


图2 6mm×6mm 扫描黄斑各区域 OCTA 示意图 A: 血管线性密度; B: 血流灌注密度。

表1 BRVO 组与健眼组黄斑区不同区域 VD 和 PD 的比较

组别	BRVO 组	健侧眼组	<i>t</i>	<i>P</i>	$\bar{x} \pm s$
3mm×3mm VD 中心环区 (mm ⁻¹)	8.97±2.58	7.20±2.07	-3.29	0.003	
3mm×3mm VD 内环区 (mm ⁻¹)	15.08±3.17	16.75±3.64	3.245	0.003	
3mm×3mm VD 完整区 (mm ⁻¹)	15.26±3.11	16.55±3.41	2.143	0.041	
6mm×6mm VD 中心环区 (mm ⁻¹)	9.24±4.30	7.13±4.00	-3.215	0.003	
6mm×6mm VD 内环区 (mm ⁻¹)	13.25±2.94	11.84±3.50	-2.117	0.043	
6mm×6mm VD 外环区 (mm ⁻¹)	13.64±2.83	15.16±2.25	2.733	0.011	
6mm×6mm VD 完整区 (mm ⁻¹)	13.43±2.40	14.88±2.50	3.172	0.004	
3mm×3mm PD 中心环区	0.18±0.06	0.11±0.04	-6.73	<0.001	
3mm×3mm PD 内环区	0.29±0.06	0.34±0.05	6.464	<0.001	
3mm×3mm PD 完整区	0.31±0.06	0.31±0.06	-0.231	0.819	
6mm×6mm PD 中心环区	0.21±0.09	0.11±0.06	-7.26	<0.001	
6mm×6mm PD 内环区	0.32±0.09	0.31±0.09	-0.544	0.59	
6mm×6mm PD 外环区	0.34±0.07	0.40±0.07	4.426	<0.001	
6mm×6mm PD 完整区	0.37±0.06	0.33±0.07	-2.347	0.026	

0.58±0.09, 健侧眼组为 0.59±0.09, 差异无统计学意义 ($t=0.356, P>0.05$)。6mo 复查时 BRVO 组 FAZ 面积为 0.32±0.09mm², 与基线差异无统计学意义 ($t=0.565, P=0.576$); 6mo 复查时 BRVO 组 FAZ 形态指数为 0.56±0.06, 与基线差异无统计学意义 ($t=-0.206, P=0.833$)。

2.5 BCVA 与 FAZ、VD 和 PD 的相关性分析 将基线与 1、6mo 复查时的 BCVA (LogMAR)、FAZ 形态指数、FAZ 面积、VD 及 PD 纳入统计, 运用 Pearson 相关性分析, 结果显示, BCVA (LogMAR) 与 3mm×3mm VD 中心环区和 PD 中心环区、6mm×6mm PD 中心环区和完整环区呈正相关, 与 6mm×6mm PD 外环区呈负相关, 其余指标与 BCVA (LogMAR) 无相关性, 见表 2。

3 讨论

视网膜单位组织重量的氧耗量明显高于人体内的大多数其他器官, 与其他组织相比, 视网膜血管具有相对较低的血流量和较高的氧提取率 (每 100mL 8mL 氧气)^[5]。作为支撑视网膜组织高代谢需求的两大血供系统之一, 视网膜中央动静脉循环不仅是人体组织中最容易被观察和记录的微循环系统, 也是维持视网膜正常视觉功能基础的主要循环系统。经历了漫长的生物进化以及受眼睛独特的组织结构的影响, 后极部视网膜各层能量消耗不均匀导致视网膜微循环的分布差异, 这为我们借助 OCTA 定量研

表2 BCVA(LogMAR) 与 FAZ、VD 和 PD 的相关因素分析

组别	<i>r</i>	<i>P</i>
FAZ 形态指数	0.065	0.49
FAZ 面积	0.125	0.181
3mm×3mm VD 中心环区	0.277	0.003
3mm×3mm VD 内环区	-0.144	0.122
3mm×3mm VD 完整区	-0.122	0.193
3mm×3mm PD 中心环区	0.363	0
3mm×3mm PD 内环区	-0.146	0.118
3mm×3mm PD 完整区	-0.06	0.523
6mm×6mm VD 中心环区	0.028	0.764
6mm×6mm VD 内环区	0.108	0.248
6mm×6mm VD 外环区	-0.041	0.662
6mm×6mm VD 完整区	-0.105	0.261
6mm×6mm PD 中心环区	0.397	0
6mm×6mm PD 内环区	0.079	0.398
6mm×6mm PD 外环区	-0.241	0.009
6mm×6mm PD 完整区	0.219	0.018

究黄斑区的视网膜微循环结构奠定了基础。血管密度的降低可能有助于为光感受器提供更清晰的视野图像, 但在能量消耗增加的状态下, 会增加视网膜缺血的风险。人类

的组织学数据显示,视网膜浅层和深层毛细血管网的密度和层状组织有很大的差异。Chandrasekera 等^[5]发现人类视乳头周围微循环的毛细血管从呈串联和平行排列,具有明显的特异性,这可能反映了视网膜各层独特的代谢需求和生化环境。

我们使用 OCTA 量化 BRVO 患者 FAZ 面积和形态,发现本组病例 BRVO 眼 FAZ 面积大于健眼组 FAZ,这可能是由于 BRVO 黄斑区紧邻中心凹边缘毛细血管的缺失造成的。有研究表明,OCTA 与 FA 在评估视网膜灌注和 FAZ 方面显示出良好的重叠性,两种成像技术对缺血面积的测量具有良好的一致性,且随着 OCTA 图像质量的提高而增加。但对于视力低下、ME 和视网膜出血的患者,OCTA 的使用仍然存在一些挑战,比如视力过度低下会影响患者固视,而显著的黄斑水肿将导致黄斑结构的形态学变化进而影响图像的质量导致自动辨识和计算偏差,视网膜致密出血同样影响检查设备光源的组织穿透^[6-7]。Adhi 等^[2]在不同水平上评估了 RVO 眼的黄斑周围视网膜毛细血管网的形态,并量化了 RVO 眼的 FAZ,并用 OCTA 将这些结果与对侧眼和健康对照者进行了比较,结果显示 RVO 患者的患眼和对侧眼均易发生视网膜深层毛细血管丛缺血,并显示这些眼的 FAZ 区扩大。Wons 等^[8]的研究表明 RVO 眼的最大 FAZ 直径与健康对侧眼相比增大,最佳矫正视力与 FAZ 最大直径呈显著负相关,RVO 患者 FAZ 形状(包括圆度和周长)也与健康眼明显不同。

本研究发现 BRVO 组的浅层毛细血管黄斑中心 3mm×3mm 及 6mm×6mm 大小的完整区域的 VD 均小于健侧眼,而中心环区区域的 VD 则 BRVO 眼大于健侧眼。Koulisis 等^[9]的研究表明 3mm×3mm 范围内 BRVO 眼与对侧眼比较,VD 降低。有研究证实 BRVO 眼与对侧眼相比,3mm×3mm 范围内浅层和深层血管网络中的整体血管密度都降低了。当将 BRVO 眼的受影响区段与对侧眼的相应区段进行比较时,这种差异更加明显。正如预期的那样,BRVO 眼中受影响位置的血管密度也比未受影响位置的血管密度降低^[10]。值得关注的是,我们的研究显示,BRVO 眼在 3mm×3mm 及 6mm×6mm 中心环区的 VD 和 PD 均大于健侧眼,中心环区对应黄斑中心凹无血管区域,我们推测可能是因为患眼在测量时所处的疾病不同阶段有关,或许与该区域血管总长度和血管管径呈代偿性增加趋势有关。在 BRVO 眼黄斑区微血管改变方面,将 PD、VD 结合起来看会对黄斑区微血管有更深的认识。

Kang 等^[4]回顾性分析 33 例 RVO 患者的临床资料,该研究表明,SCP 比 DCP 更易受到缺血性改变的影响。在 RVO 患者眼中,SCP 与 BCVA 有相关性。受检查设备的限制,本文所有的检测和分析均是基于 SCP。Hasegawa 等^[11]做过一项 BRVO 眼的黄斑血管密度的降低与黄斑水肿复发之间是否存在显著相关性的研究,在 12mo 复查时,黄斑水肿未复发眼的黄斑血管密度降低明显高于再复发组,黄斑区血管密度的降低与黄斑水肿的复发次数的减少有关,更好的视力可能与更少的黄斑水肿复发次数相关,这意味着在一定范围内更低的黄斑区血管密度可能会有更好的视力。我们的研究发现随着黄斑中心区域的 VD 及 PD 降低,视力反而有改善的趋势,这不仅与黄斑中心凹的组织结构一致,也与其生理功能代谢相关,推测可能是伴随黄斑中心区的血管减少或者“收缩”(比如抗 VEGF

的应用)以致渗漏血管减少,黄斑水肿复发的次数减少^[11-12],这也可以解释为何严重的黄斑缺血往往很少发生黄斑水肿,而以黄斑区组织萎缩变薄,降低需氧量来适应自身供应氧气的减少^[13]。

总之,作为一种无创、快速以及具有良好重复性 OCTA,除了能够发现黄斑水肿、黄斑周围毛细血管缺失之外,在研究颞侧 BRVO 后对黄斑区的毛细血管形态学具有一定的临床价值,但从目前该设备软件所提供给我们的计量统计指标来看,这些指标的临床价值尚有待进一步挖掘和完善。除此之外,我们的研究尚存在一定局限性,比如样本量较少,考虑到伦理问题,本研究是在不影响患者正常诊治前提下所进行的研究,因此入组基线病情严重程度以及后续治疗方案存在多样性问题。

参考文献

- 1 Rogers S, McIntosh RL, Cheung N, et al. The prevalence of retinal vein occlusion: pooled data from population studies from the United States, Europe, Asia, and Australia. *Ophthalmology* 2010;117(2):313-319
- 2 Adhi M, Filho MA, Louzada RN, et al. Retinal capillary network and foveal avascular zone in eyes with vein occlusion and fellow eyes analyzed with optical coherence tomography angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(9):486-494
- 3 Winegarmer A, Wakabayashi T, Fukushima Y, et al. Changes in retinal microvasculature and visual acuity after antivascular endothelial growth factor therapy in retinal vein occlusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(7):2708-2716
- 4 Kang JW, Yoo R, Jo YH, et al. Correlation of microvascular structures on optical coherence tomography angiography with visual acuity in retinal vein occlusion. *Retina* 2017;37(9):1700-1709
- 5 Chandrasekera E, An D, McAllister IL, et al. Three-dimensional microscopy demonstrates series and parallel organization of human peripapillary capillary plexuses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(11):4327-4344
- 6 Hickam JB, Sieker HO, Frayser R. Studies of retinal circulation and A-V oxygen difference in man. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 1959;71:34-44
- 7 Nobre Cardoso J, Keane PA, Sim DA, et al. Systematic evaluation of optical coherence tomography angiography in retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol* 2016;163:93-107
- 8 Wons J, Pfau M, Wirth MA, et al. Optical coherence tomography angiography of the foveal avascular zone in retinal vein occlusion. *Ophthalmologica* 2016;235(4):195-202
- 9 Koulisis N, Kim AY, Chu Z, et al. Quantitative microvascular analysis of retinal venous occlusions by spectral domain optical coherence tomography angiography. *PLoS One* 2017;12(4):e0176404
- 10 Samara WA, Shahlaee A, Sridhar J, et al. Quantitative optical coherence tomography angiography features and visual function in eyes with branch retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol* 2016;166:76-83
- 11 Hasegawa T, Murakawa S, Maruko I, et al. Correlation between reduction in macular vessel density and frequency of intravitreal ranibizumab for macular oedema in eyes with branch retinal vein occlusion. *Br J Ophthalmol* 2019;103(1):72-77
- 12 Sakimoto S, Kamei M, Suzuki M, et al. Relationship between grades of macular perfusion and foveal thickness in branch retinal vein occlusion. *Clin Ophthalmol* 2013;7:39-45
- 13 Hasegawa T, Takahashi Y, Maruko I, et al. Macular vessel reduction as predictor for recurrence of macular oedema requiring repeat intravitreal ranibizumab injection in eyes with branch retinal vein occlusion. *Br J Ophthalmol* 2019;103(10):1367-1372