

DOI: 10.59715/pntjimp.2.2.7

## Khảo sát tương quan giữa thông số lá sàng với độ dày lớp sợi thần kinh và tổn thương thị trường ở bệnh nhân glôcôm góc mở nguyên phát

Lý Ngọc Phương Vy<sup>1</sup>, Trần Anh Tuấn<sup>1</sup>, Đoàn Kim Thành<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bộ môn Mắt, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Khảo sát mối liên hệ giữa độ dày và độ sâu lá sàng với tổn thương thị trường và độ dày lớp sợi thần kinh ở bệnh nhân glôcôm góc mở nguyên phát.

**Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu cắt ngang mô tả có phân tích với 71 mắt POAG (glôcôm góc mở nguyên phát). Thông số lá sàng được chụp bằng EDI-OCT và bề dày lớp sợi thần kinh võng mạc quanh gai được chụp bằng máy Spectralis SD-OCT.

**Kết quả:** Độ dày, độ sâu lá sàng trung bình lần lượt là  $197,05 \pm 28,21 \mu\text{m}$  và  $556,36 \pm 170,61 \mu\text{m}$ . Hệ số tương quan nội bộ nhóm đánh giá sự đồng thuận tuyệt đối của giá trị thông số lá sàng cao ( $> 0,9$ ), phản ánh độ tin cậy cao của giá trị thông số lá sàng đo được giữa hai lần đo. Sự tương quan nghịch mạnh được tìm thấy giữa độ sâu lá sàng trung bình với chỉ số MD (chức năng võng mạc) với  $r = -0,647$ . Độ dày lá sàng trung bình có mối tương quan thuận trung bình với chỉ số MD với  $r = 0,486$ . RNFL trung bình có mối tương quan thuận với độ dày lá sàng trung bình, và có mối tương quan nghịch với độ sâu lá sàng trung bình.

**Kết luận:** Thông số lá sàng ở bệnh nhân POAG có khả năng tái lập cao là một thông số đáng tin cậy, có thể chỉ ra sự tiến triển thực sự của bệnh. Có mối tương quan giữa độ dày và độ sâu lá sàng với RNFL và MD, trong đó độ sâu lá sàng có tương quan với MD và RNFL mạnh hơn độ dày lá sàng.

**Từ khóa:** Glôcôm góc mở nguyên phát, thông số lá sàng, độ dày lá sàng, độ sâu lá sàng, chức năng tăng cường độ chiều sâu hình ảnh EDI-OCT.

### Abstract

#### Association of lamina cribrosa morphometry with retinal nerve fiber layer loss and visual field defects in primary open angle glaucoma

**Objective:** To correlate lamina cribrosa (LC) parameters to retinal nerve fiber layer thickness (RNFLT) and visual field (VF) defects in POAG patients.

**Methods:** In this observational cross-sectional study, a total of 71 POAG eyes were recruited to evaluate the optic nerve head by using EDI-OCT and thickness of the peripapillary retinal nerve fibers by Spectralis SD-OCT.

**Results:** The average lamina cribrosa thickness and depth were  $197.05 \pm 28.21 \mu\text{m}$  and  $556.36 \pm 170.61 \mu\text{m}$ , respectively. The absolute agreement of a single observer's measurements was calculated with the interclass correlation coefficient (ICC) obtained from a 2-way mixed-effect model. It reflected the high reliability of the lamina cribrosa parameter value measured between the two measurements

Ngày nhận bài:

20/02/2023

Ngày phản biện:

20/3/2023

Ngày đăng bài:

20/4/2023

Tác giả liên hệ:

Đoàn Kim Thành

Email: dkthanh1605@gmail.com

ĐT: 0919239204

(> 0.9). Significant associations was found between the lamina cribrosa thickness and depth with the MD index ( $r = 0,486$  and  $r = -0,647$ , respectively). Mean RNFL was positively correlated with lamina cribrosa thickness, and negatively correlated with lamina cribrosa depth.

**Conclusion:** The lamina cribrosa parameter investigated by EDI-OCT in POAG patients with high reproducibility is a reliable laboratory parameter that can indicate the true progression of the disease. There is a correlation between lamina cribrosa thickness and depth with RNFL and retinal function (MD), in which lamina cribrosa depth has a stronger correlation with MD and RNFL than lamina cribrosa thickness.

**Keywords:** Primary open-angle glaucoma, lamina cribrosa parameters, lamina cribrosa thickness, lamina cribrosa depth, EDI-OCT, enhancement - depth image.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Glôcôm góc mở nguyên phát (primary open angle glaucoma - POAG) là bệnh thần kinh thị giác mạn tính, diễn tiến chậm, đặc trưng bởi tổn thương thần kinh thị và mất thị trường do chết tế bào hạch võng mạc. Những tổn thương do bệnh gây ra không có khả năng phục hồi và có xu hướng tiến triển nặng hơn, do đó việc chẩn đoán sớm và theo dõi chặt chẽ rất quan trọng [8]. POAG được chẩn đoán dựa trên đánh giá thần kinh thị, lớp sợi thần kinh và kết quả kiểm tra thị trường [8]. Chẩn đoán hình ảnh là một công cụ không thể thiếu trong chẩn đoán và quản lý bệnh glôcôm. Hiện tại, hai nhóm hình ảnh học hỗ trợ việc chẩn đoán và theo dõi bệnh glôcôm là chụp cắt lớp coherence quang học (Optical Coherence Tomography - OCT) và thị trường. OCT có độ nhạy và độ đặc hiệu đạt đến 90% [2].

Lá sàng là mạng lưới các dải mô liên kết, nơi các sợi trục tế bào hạch đi qua và là vị trí tổn thương đầu tiên của sợi trục trong bệnh glôcôm [5], [11]. Sự biến dạng của lá sàng được cho là yếu tố thúc đẩy tổn thương thần kinh thị do ngăn dòng chảy trong sợi trục [1]. Nghiên cứu ghi nhận lá sàng trên mắt bệnh glôcôm thường mỏng hơn và nằm sâu hơn so với mắt bình thường [4]. Khi lá sàng bị tổn thương, biến dạng hoặc lõm về phía sau, sẽ khiến các sợi trục tế bào hạch đi qua các lỗ sàng bị gấp khúc dẫn đến thiếu máu không hồi phục và chết. Thay đổi hình dạng lá sàng được chứng minh xuất hiện trước khi giảm độ dày lớp sợi thần kinh, do đó việc đánh giá thông số lá sàng trên lâm sàng giúp hỗ trợ chẩn đoán POAG [6]. Với sự xuất hiện của chức năng tăng cường độ chiều sâu hình ảnh (enhanced depth imaging - EDI) trên máy OCT, bề mặt trước và sau lá sàng được quan sát rõ hơn, do

đó giúp việc đánh giá độ sâu và độ dày lá sàng trở nên khả thi [7], có thể trở thành công cụ chẩn đoán, đánh giá độ nặng và theo dõi diễn tiến và kết quả điều trị bệnh POAG.

Mối liên hệ giữa thông số lá sàng với độ dày lớp sợi thần kinh và tổn thương thị trường trên bệnh nhân glôcôm góc mở nguyên phát giúp phản ánh mối liên hệ giữa kết quả EDI-OCT với độ nặng của bệnh lý POAG.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đây là một nghiên cứu cắt ngang mô tả có phân tích được thực hiện từ tháng 03/2022 đến tháng 09/2022. Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng Y đức của bệnh viện Mắt TPHCM.

Tiêu chuẩn chọn vào: Bệnh nhân POAG có nhãn áp trên 21 mmHg (được đo bằng nhãn áp kế Goldmann) trong hơn hai lần đo, soi góc thấy góc mở trên sinh hiển vi, có tổn thương đĩa thị dạng glôcôm, viền thần kinh mỏng, teo quanh gai, và xuất huyết đĩa thị không kèm theo bất thường khác.

Tiêu chuẩn loại trừ bao gồm bệnh nhân bị tật khúc xạ lớn hơn +2.00 đi ốp (D) hoặc bé hơn -6.00 D hoặc có tiền căn thực hiện laser, mổ khúc xạ hay phẫu thuật nội nhãn (trừ phẫu thuật đục thủy tinh thể có đặt thấu kính nội nhãn không biến chứng hơn sáu tháng) hoặc bệnh nhân có góc tăng sắc tố, tân mạch mỏng và đĩa thị bất thường (thiếu sản gai, teo gai, phù gai, drusen gai, đĩa thị nghiêng, lõm gai bất thường). Bệnh nhân có bất kỳ bệnh thần kinh, bệnh hệ thống hay bệnh lý nhãn khoa ảnh hưởng kết quả thị trường hay gây ảnh hưởng đến chất lượng chụp OCT sẽ bị loại khỏi nghiên cứu. Ngoài ra, thị trường có giá trị dương tính giả, âm tính giả  $\geq 25\%$ , và mất định thị  $> 20\%$ ; hình ảnh

chụp OCT có cường độ tín hiệu < 16; bệnh nhân từ chối làm OCT và thị trường hay bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu cũng sẽ bị loại khỏi nghiên cứu.

Bệnh nhân thỏa tiêu chuẩn chọn mẫu sẽ được thăm khám và thực hiện các cận lâm sàng như chụp cắt lớp võng mạc, gai thị (OCT), đo thị trường với test ngưỡng 24 - 2; sử dụng thuật toán phân tích SITA, ghi nhận chỉ số độ lệch trung bình (MD) và chỉ số độ lệch riêng biệt (PSD) và khảo sát thông số lá sàng trên EDI-OCT. Biến số nghiên cứu chính bao gồm: độ dày lá sàng, độ sâu lá sàng, MD, PSD và RNFL.

### 3. KẾT QUẢ

Trong số 42 bệnh nhân (71 mắt POAG) tham gia nghiên cứu, có 31 bệnh nhân nam chiếm 73,8% và 11 bệnh nhân nữ, chiếm 26,2%. Như vậy, nam giới chiếm ưu thế trong nghiên cứu này với tỉ lệ nam nữ là 2,8:1. Độ tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là  $55,93 \pm 11,84$ . Các mắt tham gia nghiên cứu có nhãn áp trung bình là  $20,69 \pm 12,65$  mmHg. Trong đó, 50 mắt thuộc giai đoạn nặng, chiếm 70% tổng số. Tỉ lệ C/D trung bình của nhóm bệnh nhân nghiên cứu là  $0,80 \pm 0,13$ , trong đó nhỏ nhất là 0,5 lớn nhất 1,0. Thị lực của logMAR trung bình của các bệnh nhân trong mẫu nghiên cứu là  $0,34 \pm 0,27$ , tương đương 4/10 theo hệ thập phân, với thị lực này bệnh nhân đều có khả năng làm thị trường và cho độ tin cậy cao.

Giá trị MD trung bình là -18,74 dB. Như vậy độ nhạy võng mạc của bệnh nhân POAG

trong mẫu khảo sát có ngưỡng ánh sáng trung bình dưới ngưỡng người bình thường theo tuổi tương ứng. Biến số độ dày trung bình của lớp sợi thần kinh võng mạc có giá trị  $63,78 \pm 18,36$   $\mu$ m. Đồng thời trên mắt POAG bề dày lớp sợi thần kinh võng mạc giảm ở cả bốn góc phần tư trên, thái dương, mũi và dưới.

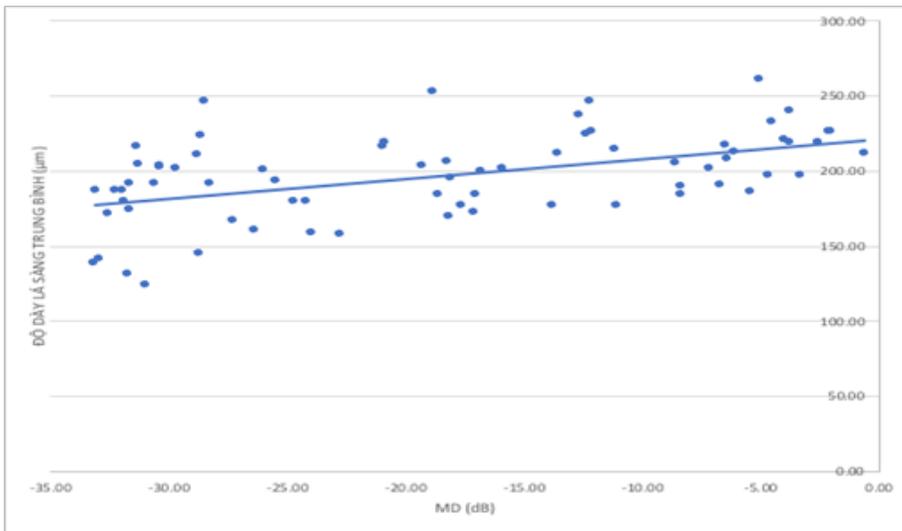
Về chỉ số độ dày lá sàng ghi nhận hệ số tương quan nội bộ nhóm đánh giá sự đồng thuận tuyệt đối của giá trị độ dày lá sàng là 0,947 (0,931-0,959), phản ánh độ tin cậy cao của giá trị độ dày lá sàng đo được giữa hai lần đo. Kết quả trung bình độ dày đạt 197,05  $\mu$ m, với giá trị tại từng vị trí lát cắt trung tâm, trên dưới lần lượt là 194,90  $\mu$ m; 197,19  $\mu$ m và 199,06  $\mu$ m. Mối liên hệ của thông số độ dày lá sàng theo vị trí lát cắt được kiểm định bằng phép kiểm ANOVA một chiều với giá trị  $p < 0,05$  có ý nghĩa. So với độ dày lá sàng tại trung tâm, độ dày lá sàng chu biên tại vị trí trên dưới lớn hơn, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p = 0,857$ .

Đối với độ sâu lá sàng, hệ số tương quan giữa 2 lần đo của độ sâu lá sàng là 0,998 với khoảng tin cậy 95% trong khoảng 0,997 - 0,998. Kết quả cho thấy khả năng tái lập kết quả giá trị độ sâu lá sàng là rất cao giữa các lần đo khác nhau. Kết quả trung bình có xu hướng giảm dần từ trên xuống dưới. Tại vị trí lát cắt dưới, giá trị nền của độ sâu lá sàng là 528,86  $\mu$ m, tăng lên 552,65  $\mu$ m ở trung tâm và đạt giá trị 587,94  $\mu$ m ở lát cắt trên. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị độ sâu lá sàng giữa các vị trí lát cắt khác nhau ( $p = 0,138$ ).

**Bảng 1:** Độ dày lá sàng và độ sâu lá sàng ở bệnh nhân POAG

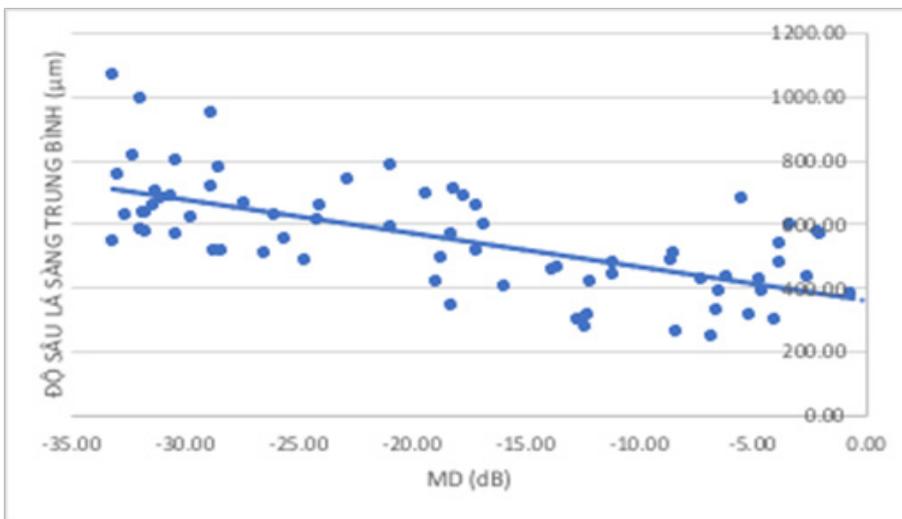
	<b>Độ dày lá sàng</b>	<b>Độ sâu lá sàng</b>
Tương quan giữa 2 lần đo r [95%CI]	0,947 [0,931 - 0,959]	0,998 [0,997 - 0,998]
Trung tâm ( $\mu$ m)	194,90	552,65
Trên ( $\mu$ m)	197,19	587,94
Dưới ( $\mu$ m)	199,06	528,86

Độ dày lá sàng trung bình có xu hướng giảm từ giai đoạn nhẹ - trung bình đến giai đoạn nặng. Trong giai đoạn nhẹ, độ dày lá sàng có giá trị  $210,67 \pm 20,59$   $\mu$ m giảm xuống còn  $191,33 \pm 29,17$   $\mu$ m khi bệnh diễn tiến nặng. Trong khi độ sâu lá sàng có xu hướng tăng lên khi bệnh tiến triển; từ  $438,35 \pm 114,87$   $\mu$ m trong giai đoạn nhẹ lên đến  $605,93 \pm 166,50$   $\mu$ m. Sự khác biệt giá trị giữa hai nhóm được kiểm tra bằng kiểm định t độc lập có ý nghĩa thống kê với  $p = 0,007$ .



**Biểu đồ 1.** Tương quan giữa độ dày lá sàng trung bình và chỉ số MD

Sự tương quan trung bình được tìm thấy giữa các chỉ số độ dày lá sàng với chỉ số MD. Nhìn chung mối tương quan giữa độ dày lá sàng với MD là tương quan thuận. Trong đó hệ số tương quan trung bình giữa MD và độ dày lá sàng trung bình với  $r = 0,486$  ( $p < 0,001$ ). Các mối tương quan này được đánh giá có ý nghĩa qua phép kiểm định mối tương quan Spearman.



**Biểu đồ 2.** Tương quan giữa độ sâu lá sàng trung bình và chỉ số MD

Khi phân tích về mối liên hệ giữa độ sâu lá sàng trung bình với các chỉ số trên thị trường trên bệnh nhân glôcôm góc mở nguyên phát, nghiên cứu này tìm thấy có mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa các độ sâu lá sàng với chỉ số MD. Độ sâu lá sàng trung bình có mối tương quan nghịch mạnh với chỉ số MD với  $r = -0,647$  ( $p < 0,001$ ).

**Bảng 2:** Tương quan giữa các thông số lá sàng trung bình với RNFL trung bình

Thông số lá sàng	Hệ số tương quan Pearson (p)
Độ dày lá sàng trung bình	0,405 (< 0,001)
Độ sâu lá sàng trung bình	-0,363 (0,002)

Khi phân tích về mối liên hệ giữa thông số lá sàng với chỉ số độ dày lớp sợi thần kinh trung bình trên OCT, nghiên cứu này tìm thấy có mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa các chỉ số trên. Trong đó RNFL trung bình có mối tương quan thuận với độ dày lá sàng trung bình, nhưng lại có mối tương quan nghịch với độ sâu lá sàng trung bình.

#### 4. BÀN LUẬN

Một trong những điều kiện tiên quyết quan trọng nhất của bất kỳ thiết bị hình ảnh nào là khả năng tái lập các phát hiện hoặc phép đo của nó vì nó là điều cần thiết để phân biệt liệu những thay đổi quan sát được trong quá trình kiểm tra theo dõi có liên quan đến sự thay đổi của xét nghiệm hay chỉ ra sự tiến triển thực sự của bệnh. Tương tự như các nghiên cứu trước đây, trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá khả năng tái lập giá trị của phương pháp đo đặc thông số lá sàng bằng hệ số tương quan giữa hai lần đo ICC dựa trên mô hình hiệu ứng hai chiều hỗn hợp đánh giá sự đồng thuận tuyệt đối. Dựa trên các phép đo không tự động được thực hiện bởi quan sát viên có kinh nghiệm, hầu hết thông số lá sàng trong nghiên cứu của chúng tôi có khả năng tái lập cao. Với chỉ số ICC ghi nhận cao ( $> 0,9$ ) trong tất cả các đo đặc, các thông số lá sàng trong nghiên cứu chúng tôi có thể là một thông số cận lâm sàng tiềm năng, có thể sử dụng được trong đánh giá tình trạng đầu thần kinh thị, theo dõi tổn thương đầu thần kinh thị đặc biệt trong bệnh glôcôm. Để xác nhận rằng có hay không sự khác biệt thông số lá sàng giữa các vị trí lá sàng khác nhau, chúng tôi sử dụng hình ảnh cắt ngang tại 3 vị trí: trung tâm và hai vị trí trung gian trên và dưới. Kết quả ghi nhận không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các lát cắt tại các vị trí khác nhau. Khi đối chiếu với các nghiên cứu nước ngoài, chúng tôi thấy rằng độ dày lá sàng trong khoảng  $132,66 \pm 34,70 \mu\text{m}$  (Aitor Lanzagorta - Aresti 2017) đến  $257.17 \pm 19.46 \mu\text{m}$  (Wanichwecharunguang - 2021) [9], [12]. Sự khác biệt giữa các nghiên cứu này có thể là do: thứ nhất, mức độ biến dạng lá sàng khác nhau theo chủng tộc. Thứ hai, chất lượng của hình ảnh lá sàng có thể bị ảnh hưởng bởi số lượng khung hình. Chất lượng hình ảnh càng cao thì xác định bờ sau lá sàng càng chính xác. Trong nghiên cứu của này, trung bình độ sâu lá sàng trên bệnh nhân POAG là  $556,36 \pm 170,61 \mu\text{m}$ . trong khi Hao và các cộng sự đo độ sâu tại ba điểm (điểm sâu tối đa và hai điểm liền kề) ở mỗi lát cắt trong số bảy lát cắt, tìm thấy giá trị trung bình là  $545.51 \pm 172.30 \mu\text{m}$  ở 65 bệnh nhân POAG. Độ sâu lá sàng trong nghiên cứu này cao hơn Hao, một phần lý do có thể là vì MD trung bình của chúng tôi cao hơn [1]. Ở nghiên cứu này chúng tôi ghi nhận có mối

tương quan có ý nghĩa thống kê giữa thông số lá sàng và chỉ số MD. Trong đó, độ dày lá sàng có tương quan thuận trung bình với chỉ số MD (Spearman;  $r = 0,486$ ,  $p < 0,001$ ). Đối với thông số độ sâu lá sàng, Bastý và Fayed đồng ý với nghiên cứu của chúng tôi rằng có một mối tương quan nghịch đáng kể giữa độ sâu lá sàng và chỉ số MD [10], [13]. Martha Kim nhận thấy mối tương quan có ý nghĩa giữa mức độ nghiêm trọng của bệnh glôcôm khi được đo bằng chỉ số MD và độ sâu lá sàng. Khi mức độ nghiêm trọng của bệnh glôcôm trở nên trầm trọng hơn, lá sàng mỏng đi và sâu hơn ở bệnh nhân OAG. Kết quả của chúng tôi cho thấy tồn tại mối quan hệ cấu trúc - chức năng giữa thông số lá sàng và chức năng trong bệnh glôcôm, nhận định này góp phần quan trọng để hiểu sinh lý bệnh của bệnh glôcôm, và có khả năng dự đoán diễn tiến của nó [3]. Mối quan hệ cấu trúc/cấu trúc giữa độ dày RNFL và biến dạng lá sàng đã được nêu ra trước đây [4]. Trong nghiên cứu gần đây của Hao, độ dày RNFL mỏng hơn có liên quan đến lá sàng sâu hơn và mỏng hơn [1]. Ở nghiên cứu này, chúng tôi cũng xác định có mối tương quan tương tự giữa độ dày, độ sâu lá sàng và độ dày lớp sợi thần kinh trung bình.

#### 5. KẾT LUẬN

Thông số lá sàng ở bệnh nhân POAG có khả năng tái lập cao là một thông số đáng tin cậy, có thể chỉ ra sự tiến triển thực sự của bệnh. Có mối tương quan giữa độ dày và độ sâu lá sàng với RNFL và MD, trong đó độ sâu lá sàng có tương quan với MD và RNFL mạnh hơn độ dày lá sàng. Những kết quả này cho thấy EDI-OCT có thể giúp tăng độ chính xác của chẩn đoán tổn thương đầu thị thần kinh và giúp hiểu rõ hơn về cơ chế sinh học của bệnh glôcôm góc mở nguyên phát.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hao, L. et al. (2019), "Measurement of Structural Parameters of the Lamina Cribrosa in Primary Open-Angle Glaucoma and Chronic Primary Angle-Closure Glaucoma by Optical Coherence Tomography and Its Correlations with Ocular Parameters", *Ophthalmic Res*62(1),110, pp. 36-45.

2. John, F. S. (2020), *Kanski's Clinical Ophthalmology A Systematic Approach*, 9th, Elsevier, China.
3. Kim, M. et al. (2016), "Lamina depth and thickness correlate with glaucoma severity", *Indian J Ophthalmol*64(5),255, pp. 358-63.
4. Kim, Y. W. et al. (2016), "Clinical Assessment of Lamina Cribrosa Curvature in Eyes with Primary Open - Angle Glaucoma", *PLoS One*11(3),181, pp. e0150260.
5. Lee, E. J. et al. (2015), "Influence of lamina cribrosa thickness and depth on the rate of progressive retinal nerve fiber layer thinning", *Ophthalmology*122(4),210, pp. 721-9.
6. Naz, A. S. et al. (2020), "Association of lamina cribrosa morphometry with retinal nerve fiber layer loss and visual field defects in primary open angle glaucoma", *Pak J Med Sci*36(3),88, pp. 521-525.
7. Spaide, R. F., Koizumi, H., Pozzoni, M. C. et al. (2008), "Enhanced depth imaging spectral - domain optical coherence tomography", *Am J Ophthalmol*146(4),259, pp. 496-500.
8. Tanna, A. P. et al. (2020), 2020-2021 Basic and Clinical Science Course GLAUCOMA American Academy of Ophthalmology.
9. Wanichwecharungruang, B. và các cộng sự. (2021), "Comparative Study of Lamina Cribrosa Thickness Between Primary Angle - Closure and Primary Open - Angle Glaucoma", *Clin Ophthalmol*15,76, pp. 697-705.
10. Won, H. J. et al. (2021), "Comparison of Lamina Cribrosa Curvature in Pseudoexfoliation and Primary Open - Angle Glaucoma", *Am J Ophthalmol*223,1, pp. 1-8.
11. Yokota, S. et al. (2017), "Circumpapillary retinal nerve fiber layer thickness, anterior lamina cribrosa depth, and lamina cribrosa thickness in neovascular glaucoma secondary to proliferative diabetic retinopathy: a cross-sectional study", *BMC Ophthalmol*17(1),70, pp. 57.
12. Lanzagorta-Aresti A, Perez-Lopez M, Palacios - Pozo E, et al (2017), "Relationship between corneal hysteresis and lamina cribrosa displacement after medical reduction of intraocular pressure ", *British Journal of Ophthalmology* 101,298, pp. 290-294.
13. El Basty, A. et al. (2021), "Correlation Between Changes in Lamina Cribrosa Structure and Visual Field in Primary Open - Angle Glaucoma", *Clin Ophthalmol*15,299, pp. 4715-4722.